



Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de *Cereus triangularis*

Benjamin Petera

► To cite this version:

Benjamin Petera. Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de *Cereus triangularis*. Alimentation et Nutrition. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2016. Français. NNT : 2016CLF22758 . tel-01548829

HAL Id: tel-01548829

<https://theses.hal.science/tel-01548829>

Submitted on 28 Jun 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

*ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE,
SANTÉ, AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT*

N° d'ordre : 705

Thèse

Présentée à l'Université d'Antsiranana
pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

(Spécialité : Sciences des Aliments)

Soutenue le 02 décembre 2016

Benjamin PETERA

**Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de
polysaccharides hydrosolubles issus de cladodes de *Cereus triangularis***

Membres :

Mme Taratra Andrée FENORADOSOA, Maître de conférences, Université d'Antsiranana

Mr Cédric DELATTRE, Maître de conférences, Université Blaise Pascal

Directeurs de thèse :

Mr Philippe MICHAUD, Professeur des Universités, Université Blaise Pascal

Mr Pascal ANDRIAMADIO, Professeur Titulaire, Université d'Antsiranana

Rapporteurs :

Mme Anne WADOUACHI, Professeur des Universités, Université de Picardie Jules Verne

Mme Amélie RAHARISOLOLALAO, Professeur Emérite, Université d'Antananarivo

CNRS, UMR 6602, Institut Pascal, 63178 Aubière, France

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans cette thèse en cotutelle ont été menés essentiellement au laboratoire CNRS, UMR 6602, IP, F-63178 Aubière, France de l'institut Pascal de l'Université Blaise Pascal.

J'adresse mes profonds remerciements au Professeur Gilles Dussap pour m'avoir accueilli dans le Laboratoire de Génie des procédés Axe GePeB de l'institut Pascal de l'Université Blaise Pascal Clermont Ferrand.

J'exprime toute ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur Philippe Michaud, sans qui ce travail n'aurait pu aboutir. Je le remercie vivement pour son soutien, pour ses conseils et sa disponibilité qui m'ont permis d'atteindre les objectifs visés.

Je remercie le Professeur Amélie Raharisolalao, le Professeur Andriamadio Pascal, le Professeur Anne Wadouachi qui ont accepté avec bienveillance de juger cette thèse. Vos suggestions et remarques ont été appréciées et nous permettront de compléter nos connaissances,

Je remercie le Docteur Fenoradosoa Taratra Andrée et le Docteur Cédric Delattre pour leur encadrement et encouragement et pour leur aide scientifique.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, sans oublier ma famille pour son soutien matériel et morale tout au long de mes études.

Je remercie DIEU pour sa bénédiction envers moi tous les jours.

SYMBOLES ET ABREVIATIONS

AAPM	: Acétates alditols partiellement méthylés
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AG	: Arabinogalactane
AGCC	: Acides gras à chaînes courtes
AGP(s)	: Arabinogalactanes protéine (s)
Ala	: Alanine
AO	: Oses acides
APS	: Polysaccharidique acide
Ara	: Arabinose
ASJA	: Anthénée Saint Joseph Antsirabe
ASP	: Acide soluble polysaccharide
ASTM D 638	: Standard test method for loss on heating of oil and asphaltic compounds
ATF	: Acide trifluoroacétique
AU	: Acide uronique
AUF	: Agence universitaire de la francophonie
BHA	: Butylhydroxyanisole
BHT	: Butylhydroxytoluène butylé
BSTFA	: Bis triméthysilyle trifluoroacétamide
C	: Degré Celsius
CAB	: Acétate butyrate de cellulose
CAM	: Crassulacean acid metabolism
CDTA	: Cyclodiamine tétraacide acétique
CG/SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse
CSP	: Chelating soluble polysaccharide
DEPT	: Distortionless enhancement with polarisation transfer
DHQ	: Dihydroquercétine
DM	: Degré de méthylation
DMSO	: Dimethylsulfoxyde
DO	: Densité optique
DP	: Degré de polymérisation
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EC	: Enzyme commission
ED	: Eau distillée
EDTA	: Acide éthylène diamine tétra acétique
EI	: Impact électronique
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay ou Dosage immuno-enzymatique
FDA	: Food and Drug Administration
FM	: Faiblement méthylé
FOS	: Fructooligosaccharides
FRAP	: Ferric ion Reducing antioxidant parameter
Fuc	: Fucose
g	: Gramme
GA	: Gomme arabique
GAG	: Glycosaminoglycanes
Gal	: Galactose
GalA	: Acide galacturonique
Galp	: Galactopyranose
GG ATCC	: Code de la souche <i>Lactobacillus. rhamnosus</i>

GH	: Glycoside-hydrolases
Glc	: Glucose
GlcA	: Acide glucuronique
Gly	: Glycine
GPX	: Glutathion peroxydase
GSIS	: Glucose-stimulée d'insuline
HGs	: Homogalacturonanes
HM	: Hautement méthylé
HPAEC	: Chromatographie ionique haute pression
HRV	: Réplication du rotavirus humain
HSV	: Herpes simplex virus
Hyp	: Hydroxyproline
Ip	: Indice de polydispersité
K'	: Constante de Huggins
Kda	: Kilodalton
L	: Litre
LPS	: Lipopolysaccharide
M	: Acide mannuronique
MALLS	: Multi Angle Laser Light Scattering
Man	: Mannose
MCP	: Pectine de citron modifié
m-HBP	: Méta-hydroxybiphényle
mg	: Milligramme
mL	: Millilitre
mM	: Millimole
MM	: Masse moléculaire
Mn	: Masse molaire moyenne en nombre
MTC	: Médecine traditionnelle chinoise
Mw	: Masse molaire moyenne en poids
NADH	: Nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NK	: Natural Killer
nm	: Nanomètre
Nm/m	: Newtonmètre par mètre
ON	: Oses neutres
PG	: Gallate de propyle
PGA	: Polygalacturoniques
pH :	: Potentiel Hydronium
PME	: Pectine méthylestérase
RAS	: Résistance systémique acquise
RG I	: Rhamnogalacturonane I
RG II	: Rhamnogalacturonane II
RGs	: Rhamnogalacturonanes
Rh	: Hydrodynamique rhadius
Rha	: Rhamnose
RMN	: Résonance Magnétique et Nucléaire
ROS	: Reactive Oxygen Specie
rpm	: Rotation par minute
SAB	: Sérum albumine bovine
SEC	: Chromatographie d'exclusion stérique

Ser	: Sérine
SOD	: Superoxyde dismutase
TBHQ	: Tert-butylhydroquinone
TFA	: Acide trifluoroacétique
Thr	: Thréonine
TMCS	: Trimethylchlorosilane
TMS	: Triméthylsilyle
T_{op}	: Température optimale
UMR CNRS :	: Unité mixte de recherche Centre national de la recherche scientifique
VIH	: Virus Immunodéficience Humaine
WSP	: Water Soluble Polysaccharide
Xyl	: Xylose
ΔR_0	: Rapport de Rayleigh
C	: Concentration de polymère (g/mL)
R_g	: Rayon de giration (nm)
n_0	: Indice de réfraction du solvant
λ_0	: Longueur d'onde du faisceau incident (nm)
N_a	: Nombre d'Avogadro
dn/dc	: Incrément d'indice de réfraction
θ	: Angle d'observation par rapport à la lumière incidente
A_2	: Second coefficient du viriel
γ	: Taux de cisaillement "shear rate" (s^{-1})
η	: Viscosité dynamique (Pa.s)
F	: Force de frottement visqueux (N)
S	: Surface en contact avec le fluide (m^2)
d_v	: Différence de vitesse entre les deux couches ($m.s^{-1}$)
d_z	: Distance séparant les deux couches de fluides contiguës (m)
η_0	: Viscosité absolue du solvant pur (Pa.s)
η_r	: Viscosité relative (Pa.s)
η_{spe}	: Viscosité spécifique (Pa.s)
η_{red}	: Viscosité réduite (Pa.s)
$[\eta]$	: Viscosité intrinsèque (mL/g)
η	: Viscosité apparente (Pa.s)
η_0	: Viscosité à cisaillement nul (Pa.s)
k	: Constante de temps (s)
n	: Indice de fluidité
γ	: Déformation (s^{-1})
γ_0	: Amplitude de la déformation (s^{-1})
ω	: Fréquence ($rad.s^{-1}$)
σ	: Contrainte (Pa)
σ_0	: Amplitude de la contrainte (Pa)
δ	: Déphasage ou angle de perte (rad)
(%)	: Pourcentage

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION 1

1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. GENERALITES SUR LES CACTUS	3
1.1.1. Définition	3
1.1.2. Classification des Cactus.....	3
1.1.3. Les trois grandes sous-familles de Cactus	4
1.1.3.1. Sous-famille des Pereskioideae	5
1.1.3.2. Sous-famille des Opuntioideae	5
1.1.3.3. Sous-famille des Cactoideae	5
1.2. GENERALITES SUR LE GENRE <i>CEREUS</i>.....	6
1.2.1. Biologie et écologie florale du genre <i>Cereus</i>	6
1.2.2. Multiplication et plantation des espèces appartenant au genre <i>Cereus</i>	8
1.3. DESCRIPTION DE L'ESPECE <i>CEREUS TRIANGULARIS</i>	8
1.3.1. Classification de <i>Cereus triangularis</i>	8
1.3.2. Exigences écologiques de <i>Cereus triangularis</i>	9
1.3.3. Biologie de <i>Cereus triangularis</i>	9
1.4. LES POLYSACCHARIDES DE PAROI VEGETALE	10
1.4.1. Organisation de la paroi végétale	12
1.4.1.1. Les celluloses	14
1.4.1.2. Les hémicelluloses.....	21
1.4.1.3. Les pectines	28
1.4.1.3.1. Caractérisation structurale des pectines	28
1.4.1.3.2. Méthodes d'extraction des pectines	32
1.4.1.4. Les arabinogalactanes	33
1.4.1.4.1. Les arabinogalactanes de type I.....	35
1.4.1.4.2. Les arabinogalactanes de type II et les AGP	38
1.4.1.4.3. Les enzymes qui dégradent les AG	46
1.5. DEGRADATION DES POLYSACCHARIDES	48
1.5.1. Hydrolyse chimique	48
1.5.1.1. Hydrolyse acide ménagée	48
1.5.1.2. Autohydrolyse	49
1.5.2. Hydrolyse enzymatique	50
1.6. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ARABINOGALACTANES	55
1.6.1. Activité anti-complémentaire	55

1.6.2. Activité prébiotique	56
1.6.3. Activité antioxydante	57
1.6.4. Activité antitumorale.....	58
2. MATERIEL ET METHODES	
2.1. PREPARATION DE LA MATIERE PREMIERE	61
2.2. EXTRACTION DES POLYSACCHARIDES DES CLADODES DE <i>CEREUS TRIANGULARIS</i> 62	
2.3. DOSAGES COLORIMETRIQUES	63
2.3.1. Dosages des oses neutres (ON) et des acides uroniques (AU)	63
2.3.1.1. Dosage des ON par le résorcinol	64
2.3.1.2. Dosage des AU par le méta-hydroxybiphényle (m-HBP)	64
2.3.1.3. Détermination de la concentration en ON et AU.....	64
2.3.2. Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois	65
2.3.3. Dosage des protéines par la méthode de Biuret.....	65
2.3.4. Dosage des sucres réducteurs par l'acide bichinchoninique	66
2.3.5. Etude des propriétés antioxydantes des polysaccharides	66
2.3.5.1. Test anti-radicalaire par le dosage au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)	66
2.3.5.2. Test anti-radicalaire (Hydroxyl radical)	67
2.3.5.3. Test anti-radicalaire (Superoxyde anion radical)	67
2.3.5.4. Test anti-radicalaire par dosage du pouvoir réducteur	68
2.4. ANALYSE DE LA COMPOSITION GLUCIDIQUE	69
2.4.1. Détermination des monosaccharides constitutifs par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/SM-EI	69
2.4.2. Analyse des liaisons glycosidiques par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM-EI)	71
2.4.3. Analyses spectroscopiques.....	75
2.4.3.1. Analyses par spectroscopie infrarouge	75
2.4.3.2. Analyses par Résonance Magnétique et Nucléaire (RMN)	75
2.5. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES POLYSACCHARIDES	76
2.5.1. Détermination de la masse moléculaire par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de lumière (SEC-MALLS)	76
2.6. ETUDE RHEOLOGIQUE DES POLYSACCHARIDES DE <i>Cereus triangularis</i>	78
2.6.1. Rhéologie	78
2.6.2. Mesure de la viscosité	82
2.7. PRODUCTION D'OLIGOSACCHARIDES.....	85
2.7.1. Enzymes et substrats.....	85
2.7.1.1. Enzymes.....	85
2.7.1.2. Substrats.....	85
2.7.2. Méthodologies.....	86

2.7.2.1. Hydrolyses enzymatiques avec l'endo- β -(1,4)-galactanase d' <i>A. niger</i>	86
2.7.2.2. Hydrolyses enzymatiques avec l'endo- β -(1,4)-galactanase de <i>C.thermocellum</i>	86
2.7.3. Analyses chromatographiques par HPLC-SEC et HPAEC des produits issus de l'hydrolyse enzymatique	86
2.7.3.1. Analyse HPLC-SEC des hydrolysats enzymatiques	86
2.7.3.2. Analyse HPAEC (Dionex) des hydrolysats.....	87
2.7.3.3. Analyse des AU	88
2.8. ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES.....	89
2.8.1. Test de digestibilité <i>in vitro</i> des polysaccharides issus de <i>Cereus triangularis</i> ..	89
2.8.2. Etudes des propriétés prébiotiques des polysaccharides et oligosaccharides issus de <i>C. triangularis</i>	90
2.8.3. Tests antibactériens	91
2.8.3.1. Milieux de cultures	91
2.8.3.1.1. Milieux pour le test antibiogramme.....	91
2.8.3.1.2. Milieu d'enrichissement	91
2.8.4. Tests des activités antimicrobiennes	91
2.8.4.1. Principe.....	91
2.8.4.2. Mode opératoire	92
2.8.4.2.1. Caractéristiques des souches	92
2.8.4.2.2. Revivification des souches.....	92
2.8.4.2.3. Ensemencement et dépôt des disques	92
3. RESULTATS ET DISCUSSION	
3.1. EXTRACTION ET COMPOSITION GENERALE DES POLYSACCHARIDES	94
3.2. COMPOSITION OSIDIQUE	96
3.3. METHODES SPECTROSCOPIQUES	98
3.3.1. Spectroscopie Infra-Rouge	98
3.3.2. Spectroscopie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire)	99
3.4. IDENTIFICATION DES LIAISONS GLYCOSIDIQUES DU POLYSACCHARIDE EXTRAIT DES CLADODES DE <i>Cereus triangularis</i>.....	102
3.5. MASSE MOLECULAIRE ET VISCOSITE INTRINSEQUE DU POLYSACCHARIDE.....	105
3.6. ETUDE DES PROPRIETES RHEOLOGIQUES DU POLYSACCHARIDE EXTRAIT DES CLADODES DE <i>CEREUS TRIANGULARIS</i>	113
3.6.1. Mesure en écoulement	113
3.6.2. Concentration critique de recouvrement C*	115
3.6.3. Evaluation de la viscosité du polysaccharide en fonction des sels	116
3.6.4. Evaluation de la viscosité de solutions de polysaccharide en fonction de la température	117
3.6.5. Comportement viscoélastique des polysaccharides de <i>Cereus triangularis</i>	119

3.7. ETUDE DE LA DEGRADATION ENZYMATIQUE DU POLYSACCHARIDE EXTRAIT DES CLADODES DE <i>CEREUS TRIANGULARIS</i>	121
3.7.1. Choix et validation de l'enzyme	121
3.7.2. Analyse des hydrolysats enzymatiques par HPLC et HPAEC	122
3.7.2.1. Evaluation de la masse moléculaire de l'AG au cours de l'hydrolyse....	122
3.7.2.2. Suivi de la dégradation enzymatique de l'AG de <i>C. triangularis</i> et d'un galactane pectique par CEHAP	124
3.8. ACTIVITES BIOLOGIQUES DE L'ARABINO GALACTANE DE <i>CEREUS TRIANGULARIS</i> .	127
3.8.1. Tests de digestibilité	127
3.8.2. Tests prébiotiques	130
3.8.3. Test antimicrobiens	132
3.8.4. Etude des propriétés antioxydantes des polysaccharides des cladodes de <i>Cereus triangularis</i>	134
3.8.4.1. Activité anti-radical DPPH	135
3.8.4.2. Activité anti-radical hydroxyle	136
3.8.4.3. Activité anti-radical anion superoxyde.....	137
3.8.4.4. Pouvoir réducteur	138
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	140
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	142
ANNEXES	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification des cactus	4
Figure 2 : <i>Cereus triangularis</i> (a) la plante, (b) les cladodes, (c) cladodes en coupe, (d) les fleurs (Source : l'auteur en octobre 2015).....	10
Figure 3 : Représentation schématique de la paroi cellulaire (Aurélié, 2009).....	13
Figure 4: Constituants des parois cellulaires végétales (McCann et Roberts, 1994)	14
Figure 5 : Structure de la cellulose (Hijazi, 2001)	15
Figure 6 : Structure d'un arabinoxylane (Habibi, 2004)	22
Figure 7: Structure d'un xylane acide (Habibi, 2004)	22
Figure 8: Représentation schématique d'un xyloglucane (Reiter, 2002)	23
Figure 9 : Structure du glucomannane des feuillus	24
Figure 10 : Structure d'un galactomannane (Habibi, 2004).....	25
Figure 11 : Structure d'un galactoglucomannane de bois de résineux (De Cherisey, 2015).25	
Figure 12 : Représentation schématique de la structure primaire des pectines (Pérez <i>et al.</i> , 2003).....	29
Figure 13 : Structure d'un arabinogalactane de type I (Mohnen, 2008)	35
Figure 14: Structure d'un arabinogalactane de type II de mélèze (<i>Larix laricina</i>)	38
Figure 15: Mécanisme général de l'hydrolyse acide des glycosides (Bemiller, 1967)	48
Figure 16: Stabilité de la liaison uronosidyle à l'hydrolyse acide (Timell <i>et al.</i> , 1965).....	49
Figure 17 : Catalyse intramoléculaire d'une liaison (1,4) par un groupement carboxyle précédant un acide uronique (Ciancia et Cerezo, 1993).....	50
Figure 18 : Représentation de cellulases de type " endo " et " exo "	52
Figure 19 : Mécanismes d'inversion et de rétention de configuration obtenus lors de l'hydrolyse des polysides par les GH.....	53
Figure 20 : Situation géographique de la zone de récolte	61
Figure 21 : Schéma général du procédé d'extraction de polysaccharides de <i>Cereus triangularis</i>	63
Figure 22 : Triméthylsilylation des O-glycosides (Kamerling <i>et al.</i> , 1975)	70

Figure 23 : Schéma d'une source à ionisation par impact électronique.....	71
Figure 24 : Formation des AAPM (Garon-Lardière, 2004)	73
Figure 25: Ordre de clivage préférentiel au sein des AAPM (Garon-Lardière, 2004)	73
Figure 26 : Comportements rhéologiques de liquides aux propriétés physiques différentes	80
Figure 27 : Etats d'enchainement des polymères en fonction de la concentration	81
Figure 28 : Rhéomètre de géométrie plan/plan)	82
Figure 29 : Diagramme des potentiels appliqués à l'électrode d'or d'un détecteur ampérométrique pour la détection des sucres (WWW.dionex.com)	87
Figure 30 : Colonne CarboPac PA1 (Dionex 4 x 250 mm)	88
Figure 31 : Polysaccharides hydrosolubles extraits des cladodes de <i>C. triangularis</i> (A) après purification par l'éthanol et l'acétone et (B) après séchage 24 heures à 50 °C	94
Figure 32 : Schéma général du processus d'extraction des polysaccharides des cladodes de <i>Cereus triangularis</i>	95
Figure 33 : Chromatogramme du polysaccharide extrait des cladodes de <i>C. triangularis</i> hydrolysé au TFA, trimethylsilylé et analysé par CG/SM-EI. Avec: ARA : arabinose ; RHAM : rhamnose ; GalA : acide galacturonique ; GAL : galactose ; GLC : glucose et, MAN : mannose	97
Figure 34 : Spectre IR-TF du polysaccharide extrait de cladodes de <i>Cereus triangularis</i>	98
Figure 35 : (A) Spectres RMN 13C et (B) spectre RMN 1H du polysaccharide extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> (40g/L dans le D2O à 60 °C)	100
Figure 36 : Spectre de corrélation hétéronucléaire 2D 13C/1H (HSQC) du polysaccharide extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> (40 g.L-1 dans le D2O à 60°C).....	101
Figure 37 : Chromatogramme CG/SM des différents dérivés d'acétate d'alditols partiellement O-méthylés issus du polysaccharide extrait des cladodes de <i>C. triangularis</i>	103
Figure 38 : Structure proposée pour le polysaccharide extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i>	105
Figure 39 : Analyse HPSEC-MALLS du polysaccharide extrait des cladodes de <i>C. triangularis</i> (solution non filtrée). Avec LS : détection laser, AUX1 : détection réfractométrique et, AUX2 : détection UV	106

Figure 40 : Chromatogramme obtenu par analyse HPSEC-MALLS réalisée sur le polysaccharide extrait de cladodes de <i>C. triangularis</i> (solution filtrée sur 0,45 µm). Avec LS : diffusion de la lumière et dRI : détection réfractométrique.....	107
Figure 41 : Evolution de (A) la masse molaire et (B) la viscosité intrinsèque du polysaccharide extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> . Les analyses sont effectuées sur l'ensemble du volume d'élution (Zone 1 : 11,5 mL à 18 mL). Avec dRI : détection réfractométrique, LS : détection laser.	108
Figure 42 : Evolution des rayons de giration du polysaccharide extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> . Les analyses sont effectuées sur la fraction de forte masse molaire (Zone 2 : 11,5-14,8 mL) correspondant à 20 % de l'échantillon injecté.....	109
Figure 43 : Variation de la viscosité apparente (Pa.s) de solutions de polysaccharide (1 à 10% (m/v)) extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> et de solutions de xanthane en fonction du taux de cisaillement (s^{-1}).....	114
Figure 44 : Détermination de la concentration critique de recouvrement C^* des polysaccharides des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> en solution	116
Figure 45 : Effet de l'ajout de sels (KCl 0,5M ; NaCl 0,5M) sur la viscosité des solutions d'arabinogalactanes préparées à des concentrations de 2,5% et 5% (m/v).....	117
Figure 46 : Effet de la température sur la viscosité de solutions de polysaccharides à 5% (m/v). Les mesures sont réalisées à 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C et 60°C	118
Figure 47 : Représentation des modules complexes G' et G'' (Pa) en fonction de la déformation (%) des solutions aqueuses de polysaccharide à 2,5 % et 5 % (m/v). (A): dans l'eau ; (B) dans NaCl 0,5 M et, (C) : dans KCl 0,5 M	120
Figure 48 : Cinétique d'hydrolyse enzymatique de l'AG extrait des cladodes de <i>C. triangularis</i> , d'un galactane pectique (P-PGAPT) et d'un galactane de pomme de terre (P-GALPOT) à une concentration de 10 g/L dans un tampon acétate de sodium tri- hydraté (100 mM, pH4) par une endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN, 130 U).....	121
Figure 49 : Suivi cinétique de l'hydrolyse enzymatique de l'AG (10g/L) de <i>C. triangularis</i> par chromatographie d'exclusion stérique haute performance sur colonnes Gel 5000PW-XL et Gel 3000 PW-XL	123
Figure 50 : Evolution des masses moléculaires des différentes familles constitutives de l'AG de <i>C. triangularis</i> lors de son hydrolyse enzymatique par E-EGALN. Avec 0+E : début de la dégradation enzymatique à $t=0$ min (substrat en contact avec l'enzyme (E)).....	124
Figure 51 : Chromatogrammes des hydrolyses enzymatiques de l'arabinogalactane de <i>Cereus triangularis</i> (10g/L) obtenus par chromatographie échangeuse d'anions haute performance (CEHAP) sur colonne Carbowac PA200. Avec Gal : Galactose et Gal Biose : 4- β -Galactobiose.....	126
Figure 52 : Chromatogrammes des hydrolyses enzymatiques du galactane pectique commercial P-PGAPT (10g/L) obtenus par chromatographie échangeuse d'anions haute	

performance (CEHAP) sur colonne Carbopac PA200. Avec Gal : Galactose et Gal Biose : 4- β - Galactobiose.....	127
Figure 53 : Etude de la digestibilité à 37°C de pH 1 à 5 pour (A) les FOS, (B) l'inuline et, (C) l'arabinogalactane de <i>C. triangularis</i>	129
Figure 54 : Courbe de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sur milieu MRS supplémenté ou non par de la vitamine C (2%), du glucose (2% m/v), de l'inuline (2% m/v), des FOS (2% m/v), de l'AG de <i>Cereus triangularis</i> (PolyS, 2% m/v) et, de l'oligosaccharide issu d'hydrolyse enzymatique de l'AG de <i>Cereus triangularis</i> (OligoS, 2% m/v)	130
Figure 55 : Inhibition de la croissance de microorganismes pathogènes par une solution à 20 mg/mL d'un AG extrait de <i>Cereus triangularis</i>	134
Figure 56 : Activités anti-radicalaires (radical DPPH) de l'AG extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> (-O-) et de l'acide ascorbique (- $\diamond$ -) utilisé comme anti-oxydant standard	135
Figure 57 : Activités anti-radicalaires (radical hydroxyle) de l'arabinogalactane extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> (-O-) et de l'acide ascorbique (- $\diamond$ -) utilisé comme antioxydant standard.....	136
Figure 58 : Réaction de dismutation du radical superoxyde catalysée par la SOD	137
Figure 59 : Activités anti-radicalaires (radical anion superoxyde) de l'arabinogalactane extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> (-O-) et de l'acide ascorbique (- $\diamond$ -) utilisé comme antioxydant standard	138
Figure 60 : Pouvoir réducteur de l'AG extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> (-O-) et de l'acide ascorbique (- $\diamond$ -) utilisé comme antioxydant standard	139

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Degré de polymérisation de celluloses de différentes origines (Klemm et al., 1998; Treiber, 1957).....	16
Tableau 2 : Propriétés mécaniques des dérivés de cellulose (Jordi et Margeurite, 1999) ...	20
Tableau 3 : Caractéristiques des différentes hémicelluloses du bois (De Cherisey, 2015) ...	27
Tableau 4 : Origine, composition et masses moléculaire des Arabinogalactanes de type I.	37
Tableau 5 : Origine, composition et masses moléculaires des AG de type II et des AGP	41
Tableau 6 : Origine, composition et masses moléculaires des AG-II et AGP des autres gommes exsudatives.....	45
Tableau 7 : Propriétés biochimiques et physico-chimiques de quelques enzymes de clivage spécifique des arabinogalactanes.....	47
Tableau 8 : Types d'enzymes intervenant dans la dégradation des parois végétales.....	54
Tableau 9 : Principales activités biologiques décrites chez les arabinogalactanes	60
Tableau 10 : Composition du milieu MRS	90
Tableau 11 : Caractéristiques des souches testées pour les activités antimicrobiennes	92
Tableau 12 : Caractérisation de la sensibilité des germes (Leipzig, 1996)	93
Tableau 13 : Rendement et composition globale du polysaccharide hydrosoluble extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i>	96
Tableau 14 : Composition en monosaccharide (% molaire) du polysaccharide extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> après analyse par CG/SM-EI	97
Tableau 15 : Principales bandes caractéristiques des groupes fonctionnels des polysaccharides extraits des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> analysés par spectroscopie Infra-Rouge.....	99
Tableau 16 : Déplacements chimiques des protons ^1H et des carbones ^{13}C (δ ppm) des résidus glycosidiques du polysaccharide extrait des cladodes de <i>C. triangularis</i>	102
Tableau 17 : Acétates d'alditols partiellement O-méthylés issus du polysaccharide extrait des cladodes de <i>C. triangularis</i>	104

Tableau 18 : Analyses HPSEC-MALLS réalisées sur la solution non filtrée du polysaccharide extrait des cladodes de <i>C. triangularis</i>	106
Tableau 19 : Propriétés physico-chimiques du polysaccharide extrait des cladodes de <i>Cereus triangularis</i> . Les analyses sont effectuées sur l'ensemble du volume d'élution (Zone 1 : 11,5 mL à 18 mL)	109
Tableau 20 : Propriétés physico-chimiques de la fraction de forte masse molaire représentant 20 % de l'échantillon (Zone 2 : 11,5 mL-14,8 mL).....	110
Tableau 21 : Caractéristiques physico-chimiques d'AG d'origines diverses	112
Tableau 22 : Estimation des masses moléculaires des hydrolysats par chromatographie d'exclusion stérique haute performance sur colonnes Gel 5000PW-XL et Gel 3000 PW-XL)	123
Tableau 23 : Quantification du galactose et du 4- β -Galactobiose au cours de l'hydrolyse enzymatique de l'arabinogalactane de <i>C. triangularis</i> par l'endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN)	125
Tableau 24 : Digestibilité des sucres testés (Inuline, FOS, AG de <i>Cereus triangularis</i>) exprimée en pourcentage d'hydrolyse	128
Tableau 25 : Diamètres d'inhibition (mm) des souches testées sur milieux solides en présence d'un disque imbibé d'une solution d'AG de <i>C. triangularis</i> à 20 mg/mL.....	132

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'île de Madagascar est située entre le 12^{ème} et le 26^{ème} degré de latitude sud, dans l'Océan Indien. Elle est connue pour sa richesse biologique et notamment pour sa flore endémique. Cette flore endémique qui n'a pas encore livrée tous ses secrets est une richesse encore peu valorisée pour la population malgache. Elle est par ailleurs fortement menacée par l'exploitation forestière, l'agriculture et l'arrivée de nombreuses espèces étrangères invasives. La situation économique très dégradée de Madagascar où une partie importante de la population vit sous le seuil de pauvreté ne fait qu'aggraver cette situation et rend urgent la mise en place de collaborations internationales dans le cadre d'études ethnobotaniques.

A Madagascar, la médecine traditionnelle à base de plantes (souvent endémiques) coexiste avec la médecine moderne. Comme dans tous les pays en voie de développement, elle est plus accessible pour une part importante de la population qui n'a pas ou peu accès aux traitements médicamenteux modernes pour des raisons financières. L'industrie pharmaceutique s'intéresse de longue date à ces traitements traditionnels dont certains ont permis l'identification de nouvelles molécules thérapeutiques. Il est donc indispensable d'explorer et d'exploiter ces plantes médicinales afin de donner une base scientifique à leur utilisation qui reste encore aujourd'hui basée sur des connaissances empiriques. La détermination des activités biologiques des végétaux permet ainsi la vérification et la justification de leurs utilisations traditionnelle par l'homme. C'est sur la base de ce constat que l'Université d'Antsiranana (Diego Suarez – Madagascar) collabore depuis 2007 avec l'Institut Pascal (UMR CNRS 6602) de l'Université Blaise Pascal (Clermont Ferrand France). Les travaux réalisés en collaboration entre les deux équipes et partiellement financés par des programmes de recherche internationaux (AUF Océan Indien) visent à identifier, caractériser et mettre en œuvre des polysaccharides issus de macroalgues marines et de plantes terrestres endémiques de Madagascar pour leurs propriétés biologiques et technofonctionnelles.

Les polysaccharides hydrosolubles, souvent qualifiés d'hydrocolloïdes, sont des substances mucilagineuses extrêmement répandues et couramment extraites de tissus animaux (glycosaminoglycanes, chitine,...), de microorganismes bactériens ou fongiques (xanthane, gellane, curdlane, scléroglycanes....) de micro- et macroalgues marines (carraghénanes, alginates, porphyranes,...) ou encore de plantes terrestres telles que les plantes succulentes,

les plantes à gommés et autres (pectines, gomme arabique, guar....). Ces polymères d'oses de très grandes tailles sont utilisés dans les secteurs agro-alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques pour leurs propriétés biologiques, stabilisantes, épaississantes et gélifiantes. L'inventaire des structures existantes est très incomplet et son évolution régulière est souvent associée à des succès commerciaux, allant des marchés de niche (cosmétique, nutraceutique) à des applications plus larges (agroalimentaire, adhésifs, matériaux biosourcés,.....). Dans ce contexte la caractérisation des polysaccharides de Cactées peut être une source d'innovation. En effet, la capacité de cette catégorie de plantes terrestres à piéger et stocker l'eau est fortement corrélée à leur teneur en hydrocolloïdes hydrophyles. Cette spécificité fait de ces plantes de très bons candidats pour la recherche de nouveaux polysaccharides porteurs d'activités biologiques et/ou de propriétés technofonctionnelles originales, d'autant plus qu'ils sont fréquemment utilisés comme plantes médicinales.

C'est ainsi que, dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles malgaches, nous nous sommes intéressés aux extraits hydrosolubles de *Cereus triangularis* (Cactacées), une plante malgache non endémique, utilisée traditionnellement pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques et connue sous le nom vernaculaire « Fakatsilo » ou « 50 maladies ». *Cereus triangularis* (Cactacées) est un cactus épiphyte des zones tropicales sèches. A Madagascar, des décoctions de ses cladodes riches en polysaccharides sont couramment consommées pour soulager certains désordres digestifs. Au début de cette thèse, aucune étude ne s'était intéressée au potentiel de cette plante très répandue comme source d'hydrocolloïdes. Ce travail de doctorat a donc consisté à isoler, identifier et caractériser les polysaccharides hydrosolubles issus de cette plante puis à tester leurs propriétés biologiques (prébiotique et antioxydant) et technofonctionnelles (propriétés rhéologiques) afin de valider leurs utilisations empiriques par l'Homme.

Ce manuscrit s'articule autour de trois grandes parties. Dans un premier chapitre, une synthèse bibliographique nous a permis de mieux cerner quelques aspects de taxonomie propres aux plantes succulentes. Les polysaccharides de paroi végétale ainsi que leur diversité structurale et leurs propriétés biologiques ont ensuite été traités. Une seconde partie intitulée matériels et méthodes décrit les principales techniques utilisées dans cette étude. Enfin, un troisième chapitre résultats et discussion présente et discute les résultats obtenus. Ces différents chapitres sont précédés d'une introduction et suivis d'une conclusion accompagnée des perspectives qui se dégagent de ce travail.

CHAPITRE 1 :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. GENERALITES SUR LES CACTUS

1.1.1. Définition

Le mot *cactus* vient du grec ancien κάκτος / *káktos*, désignant le chardon. Les Cactacées (également rencontrées sous l'appellation Cactées) sont des plantes grasses, vivaces, terrestres ou arboricoles. On les qualifie de plantes xérophytes. Ce terme signifie qu'elles stockent dans leurs tissus des réserves de « suc » pour faire face aux longues périodes de sécheresse (Habibi, 2004). On y rencontre des plantes de formes variées telles que des sphères, des cylindres, des cônes renversés, des oves et des prismes. Leurs fleurs sont construites un peu comme celles du Nénuphar avec de nombreux pétales prenant insensiblement la forme de sépales. Leurs fleurs sont hermaphrodites et solitaires, rarement groupées en panicule qui est une inflorescence composée, formée par une grappe de grappes sur un axe simple. Elles admettent un axe de symétrie (symétrie radiaire) et sont actinomorphes ou faiblement zygomorphes dans la mesure où elles ne possèdent qu'un plan de symétrie (symétrie bilatérale) (Lavastine, 1947). Leurs tiges, leurs rameaux, lorsqu'elles en possèdent, sont généralement anguleux, garnis de côtes, de bossettes et de verrues disposées en lignes droites ou en spirales, hérissés d'aiguillons plus ou moins groupés. Dans leur ensemble, on peut répartir les Cactées en deux groupes, suivant qu'elles ont des graines à enveloppe mince ou des graines à enveloppe épaisse et dure (Fournier, 1954). Les premières de ces graines sont en général très petites, les secondes, plus grosses, ressemblent assez à de très petits noyaux de cerise et ne sont guère moins résistantes (Fournier, 1954).

1.1.2. Classification des Cactus

Les cactacées sont des plantes vasculaires dans les groupes des phanérogames (plantes à fleurs) et dans la classe des angiospermes (plantes à graines renfermées dans un fruit), dicotylédones, dialypétales (ses pétales ne sont absolument pas soudés), caliciflores (plantes dont les étamines sont insérées sur le calice) de l'ordre des Caryophyllacées (Wallace, 1995 ; Butterworth *et al.*, 2002).

L'appartenance à la famille des Cactacées se détermine par trois critères principaux :

- Les points végétatifs sont des aréoles, c'est-à-dire des sortes de dépressions dans l'épiderme, garnis de laine ou de duvet leur donnant l'aspect de petits coussins, d'où sont issus les segments ou rejets, les fleurs et les feuilles réduites que sont les épines et les glochides (petits aiguillons barbelés très irritants pour la peau trouvés sur certaines plantes). L'existence d'aréoles est le critère le plus employé par l'amateur pour l'identification, d'abord parce qu'il

n'est pas nécessaire d'attendre la floraison et la fructification pour les observer, ensuite parce que, contrairement aux deux autres critères, les aréoles n'existent dans aucune autre famille de plantes.

- L'ovaire doit être infère, c'est-à-dire qu'il doit être situé sous les pièces florales (sauf chez quelques cactus très primitifs comme *Pereskia aculeata*).
- Le fruit doit être une baie à une seule loge, il n'existe pas de cloisons internes séparant les graines ou groupes de graines.

1.1.3. Les trois grandes sous-familles de Cactus

La famille des Cactaceae, comprenant environ 2500 espèces réparties en près de 90 genres, est subdivisée en trois sous-familles : les Péreskioideae, les Opuntioideae et les Cactoideae (Griffith et Porter, 2009; Kirkpatrick *et al.*, 2009 ; Rebman et Pinkava, 2001). Ces 3 sous-familles (**Figure 1**) partagent la même capacité à stocker l'eau et en tant que telles, sont qualifiées de plantes succulentes (Oldfield, 1997). Toutes les plantes succulentes ne sont pas des Cactus. Ce sont des familles de plantes qui ont adopté les mêmes méthodes de lutte contre les périodes de sécheresse, comme les Asclepiadaceae ou les Crassulaceae.

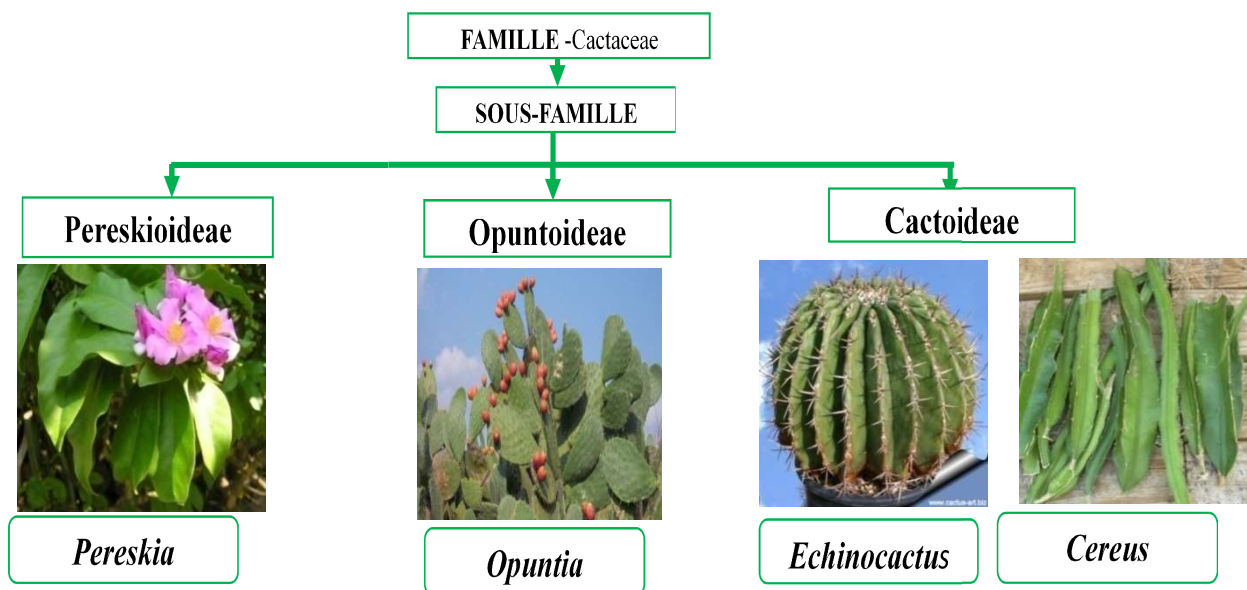


Figure 1: Classification des cactus (Kirkpatrick *et al.*, 2009).

1.1.3.1. Sous-famille des Pereskioideae

La sous-famille des Pereskioideae (*Pereskia*.) regroupe des arbres, des arbustes ou des lianes subsucculentes aux feuilles caduques saisonnièrement mais bien développées. Leurs tiges sont droites dépourvues de glochidies, et leurs graines noires sont dépourvues d'arille (un arille est une enveloppe charnue plus ou moins développée autour d'une graine). Excepté en ce qui concerne un point commun relatif à la floraison (les fleurs poussent sur les aréoles), leur relation avec le reste de la famille est difficile à établir.

La sous-famille **Pereskioideae** comprend environ 25 espèces regroupées en un seul genre : le genre *Pereskia* (Anderson, 2001, Leuenberger, 1986).

1.1.3.2. Sous-famille des Opuntioideae

La sous-famille des Opuntioideae se caractérise par des arbres, des arbustes ou des sous-arbrisseaux aux feuilles rapidement caduques sur les jeunes pousses. Les fleurs sont de formes conique ou cylindrique et les tiges sont plus ou moins cylindriques et pourvues de glochidies (le terme glochidie désigne des poils rigides). Les graines sont couvertes d'un arille pâle et dur. Cette sous-famille regroupe environ 17 genres parmi lesquels le genre *Opuntia* est le plus répandu et connu sous le nom de figuier de barbarie (Arba, 2000; Habibi, 2004). Les espèces du genre *Opuntia* poussent avec des articles plats en forme de raquettes appelés cladodes. Ces plantes portent de grandes et fortes épines assurant un rôle défensif, mais aussi des glochides. Elles recouvrent aussi les fruits. Les *Opuntia* sont parfois appelés «Cactus raquettes» en raison de la forme de leurs cladodes ou encore dans leurs régions d'origine «Nopal» ou «Nopales». Certaines espèces d'*Opuntia* donnent des fruits comestibles. Ainsi *Opuntia ficus-indica* produit les figes de Barbarie qui font l'objet d'une production commerciale dans de nombreux pays.

1.1.3.3. Sous-famille des Cactoideae

La sous-famille des Cactoideae, à laquelle appartient le genre *Cereus*, regroupe de nombreux genres aux feuilles absentes ou vestigiales (feuilles subissent une régression phylogénétique) et rapidement caduques. Les tiges sont très succulentes, sphériques à cylindriques ou colonnaires (ayant la forme d'une colonne, sans bras, telles que les espèces du genre *Cereus*) et dépourvues de glochidies (Mauseth, 2006). Les graines sont noires ou brunes et non enveloppées par un arille dur. Cette sous-famille, regroupant environ 117 des genres, est subdivisée en neuf tribus. Il a été décrit que les cladodes du genre *Cereus jamacarus* et les

fruits du genre *Cereus undatus* contiennent des pectines (Oliveira *et al.*, 2013 ; Liaotrakoon, 2013).

1.2. GENERALITES SUR LE GENRE *CEREUS*

1.2.1. Biologie et écologie florale du genre *Cereus*

Le genre *Cereus* de la famille des Cactacées (sous-famille des Cactoideae) regroupe une quarantaine d'espèces toutes natives d'Amérique du Sud et des Antilles. En 2005, Anderson a listé les différentes espèces du genre *Cereus* telles que *Cereus argentinensis*, *Cereus bicolor*, *Cereus braunii*, *Cereus cochabambensis*, *Cereus comarapanus*, *Cereus fernambucensis*, *Cereus hankeanus*, *Cereus hexagonus*, *Cereus hildmannianus*, *Cereus insularis*, *Cereus jamacaru*, *Cereus lamprospermus*, *Cereus lanosus*, *Cereus pachyrhizus*, *Cereus pierrebraunianus*, *Cereus roseiflorus*, *Cereus stenogonus*, *Cereus tacuaralensis*, *Cereus trigonodendron*, *Cereus validus*, *Cereus vargasianus*, *Cereus adelmarii*, *Cereus aethiops*, *Cereus estevesii*, *Cereus haageanus*, *Cereus kroenleinii*, *Cereus phatnospermus*, *Cereus saddianus*, *Cereus spegazzinii*, *Cereus albicaulis*, *Cereus mirabella*, *Cereus fricii*, *Cereus horrispinus*, *Cereus huilunchu*, *Cereus mortensenii*, et *Cereus repandus* (Anderson, 2005).

Ce genre s'est principalement diversifié au Brésil, mais demeure très répandu du Mexique et des Caraïbes, à l'Argentine. Ces plantes grasses ont une forme de cierge arborescents ou arbustifs, habituellement dressés, mais parfois rampants et constitués de plusieurs tiges capables d'atteindre 15 m de hauteur (*C. lamprospermus*, *C. hexagonus*, et *C. trigonodendron*). Il existe de nombreuses variations au sein d'une même espèce entraînant des confusions fréquentes dans la nomenclature. De plus, les noms adoptés par les botanistes ne correspondent pas toujours à ceux employés dans le milieu horticole. Initialement, les botanistes ont utilisé le genre *Cereus* afin de positionner de nombreuses nouvelles espèces de cactus du Nouveau Monde. Il est ainsi devenu un genre important qui englobait de nombreuses espèces. Avec l'avancée des méthodes de classification et de taxonomie, certaines espèces ayant des caractéristiques communes ont été retirées du genre *Cereus* et regroupées dans de nouveaux genres, tels que *Hylocereus* et *Selenicereus*. Britton et Rose (1919 ; 1923) et Berger (1905; 1929) ont également divisé le genre *Cereus* en créant les genres *Echinocereus*, *Cereus* (*Lepidocereus* et *Eucereus* comme sous genres), *Pilocereus*, *Porocactus*, *Cleustocactus*, *Eulychinia* et *Myrtillocactus*. Les différentes espèces appartenant au genre *Cereus* tel que définis par Anderson (2005) sont celles qui répondent le mieux aux critères de classification de ce genre.

Les *Cereus* présentent des vagues successives de floraisons entre mai et octobre dans l'hémisphère nord (Barbeau, 1990; Weiss *et al.*, 1994; Nguyen, 1996; Nerd et Mizrahi, 1997; Ortiz-Hernández, 1999). Par contre à la Réunion et à Madagascar, les *Cereus* fleurissent durant l'été austral (de novembre à avril) pendant lequel les floraisons sont cycliques et étalées. Le nombre de vagues de floraisons dépend de l'espèce. On en compte 7 à 8 pour l'espèce *Cereus* à fruits rouges (*Cereus purpusii*) contre 5 à 6 pour l'espèce *Cereus* à fruits blancs (*Cereus undatus*). Trois à quatre semaines espacent deux vagues de floraison (Barbeau, 1990; Bellec et Judith, 1999). Les délais entre l'apparition du bouton floral (phase I d'une durée de 15-20 jours) et entre l'anthèse de la fleur et la récolte du fruit (phase II d'une durée de 30 jours) sont très courts.

La reproduction des clones allogames des différentes espèces du genre *Cereus* est assurée la nuit par des chauves-souris pollinivores (Nerd et Mizrahi, 1997; Herrera et Martinez, 1998) ou par des espèces de papillons de l'espèce *Sphingidae Maduca* (Daudresse, 1999). Il ne semble pas y avoir de problèmes majeurs de fructification dans les principaux pays producteurs (Amérique Latine et Asie) (Barbeau, 1990; Nguyen, 1996; Jacobs, 1998). La déhiscence (ouverture spontanée d'organes végétaux clos) des anthères a lieu quelques heures avant l'ouverture complète de la fleur. Les grains de pollen sont très nombreux, lourds et peu pulvérulents. La fleur s'ouvre en début de nuit aux alentours de 20h00 et le stigmate domine alors les étamines. Les fleurs ne s'épanouissent qu'une seule fois et se referment (fécondées ou pas) pendant la matinée du lendemain de l'anthèse (période pendant laquelle une fleur est complètement ouverte et fonctionnelle). Les jours suivants, les pétales se ramollissent puis se dessèchent progressivement. La base des fleurs non fécondées jaunit et elles chutent 4 à 6 jours après la floraison tandis que la base des fleurs fécondées reste verte et augmente de volume. Ensuite, les fleurs se développent et donnent des fruits (Le Bellec *et al.*, 2006). Dans certains pays (Israël, Afrique du Sud, Madagascar, Réunion et Antilles), la production naturelle de fruits par des clones de *C. undatus* et *C. purpusii* est quasi inexistante (Le Bellec et Renard, 1997). L'auto incompatibilité (Raveh *et al.*, 1993) des clones de ces deux espèces et/ou l'absence de pollinisateurs efficaces sont à l'origine de ce phénomène (Le Bellec, 1993; Weiss *et al.*, 1994). Les abeilles (*Apis mellifera*) sont très attirées par le pollen des fleurs des différentes espèces de *Cereus* (Le Bellec *et al.*, 2006). Les visites répétées de ces insectes peuvent améliorer leur fécondation (Weiss *et al.*, 1994; Nerd et Mizrahi, 1997).

1.2.2. Multiplication et plantation des espèces appartenant au genre *Cereus*

La multiplication des espèces appartenant au genre *Cereus* peut être réalisée par bouturage ou par semis de graines (Barbeau, 1990; Fouqué, 1969). Le bouturage est une méthode efficace et préférable car il permet de multiplier fidèlement la variété. De plus, la mise à fruits est rapide et survient moins d'un an après le bouturage contre trois ans pour les plantes issues de semis. Enfin, la rusticité des espèces de *Cereus* permet de réaliser un bouturage directement au champ à condition de prendre des boutures en repos végétatif d'au moins 50-70 cm de longueur (Nguyen, 1996). Il est également nécessaire d'assurer un arrosage régulier afin de permettre l'enracinement. Toutes ces conditions conduisent à des taux de reprise de l'ordre de 90 % (Le Belle et Judith, 1999). Les distances de plantation recommandées dépendent du type de tuteur choisi. En palissage verticale, des espacements de 2 à 3 m sur la ligne de plantation et de 4 à 5 m entre deux lignes sont requis (soit entre 2000 et 3750 boutures par ha, à raison de 3 boutures par tuteur) (Barbeau, 1990; Nguyen, 1996). Les densités sur palissage horizontal et sur plan incliné sont beaucoup plus élevées puisque les boutures sont implantées tous les 50-75 cm autour de la table de production qui est la parcelle de terrain destinée à la plantation (6500 boutures par ha) ou tout du long du plan incliné (5000 boutures par ha) (Le Bellec et Judith, 1999).

1.3. DESCRIPTION DE L'ESPECE *CEREUS TRIANGULARIS*

1.3.1. Classification de *Cereus triangularis*

Taxonomie de *Cereus triangularis* selon Bauer (2003).

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Tracheophyta*

Classe : *Spermatopsida*

Ordre : *Caryophyllales*

Famille : *Cactacées*

Genre : *Cereus*

Espèce : *Cereus triangularis* Mill.

L'espèce *Cereus triangularis* est une espèce de cactus de la sous famille des Cactoïdées et du genre *Cereus*. A Madagascar, cette espèce est sauvage. Elle a été récemment domestiquée pour des usages ornementaux et/ou thérapeutiques.

1.3.2. Exigences écologiques de *Cereus triangularis*

Cereus triangularis se rencontre dans des régions à pluviométrie extrême (340 à 3500 mm/an) et à des altitudes allant jusqu'à 2750 m (Le Bellec *et al.*, 2006). Cette espèce peut supporter

de fortes chaleurs, allant jusqu'à 38-40 °C (Barbeau, 1990); tandis que des températures inférieures à 12 °C peuvent provoquer des nécroses sur les tiges comme on l'observe chez d'autres espèces du même genre (Erwin, 1996). Un ensoleillement trop important et une alimentation en eau insuffisante provoquent des brûlures sur les tiges (Raveh *et al.*, 1998). Par contre un excès d'eau déclenchera la chute des fleurs et des jeunes fruits (Barbeau, 1990; Le Bellec et Renard, 1997). Les genres *Cereus* y compris l'espèce *Cereus triangularis* peuvent s'adapter à de nombreux types de sols pourvus qu'ils soient drainants (Barbeau, 1990; Barcenas, 1994; Nguyen, 1996; Luders, 1999).

1.3.3. Biologie de *Cereus triangularis*

Cereus triangularis est une plante rampante ou grimpante (dite plante lianescente), semi-épiphyte originaire d'Amérique centrale dont la croissance nécessite un support naturel ou artificiel (arbres, poteaux en bois ou en béton) (Bossier *et al.*, 1984 ; Rondon, 1998). Elle s'accroche à ces derniers grâce à des racines aériennes. Les longues tiges de *Cereus triangularis* ont trois arêtes charnues vertes et peuvent mesurées jusqu'à 4 mètres de longueur. Les bords des tiges sont dentelés et portent de fines épines se trouvant dans des aréoles (nombreuses petites excroissances de la plante à partir desquelles partent en faisceau les épines, des poils laineux, les feuilles, les méristèmes des nouveaux rameaux et les fleurs.) (**Figure 2**). La fleur est dite « parfaite » ou bisexuée (hermaphrodite), c'est-à-dire qu'elle contient à la fois des étamines et pistils blancs ou roses. Elle mesure jusqu'à 20 cm de long (**Figure 2**). Elle s'épanouit la nuit et exhale une odeur attirant les insectes et les chauves-souris qui agissent généralement comme pollinisateurs. Après la pollinisation, les fruits se développent, en fonction de la température (Infante, 1997). Les fruits sont de forme ovoïde et de couleur rouge foncé à maturité. *Cereus triangularis*, a été souvent nommé à tort *Cereus undatus*, un cactus très similaire (Bauer, 2003 ; Morton, 1987; Nicolas, 2012).



Figure 2 : *Cereus triangularis* (a) la plante, (b) les cladodes, (c) cladodes en coupe, (d) les fleurs (Source : l’auteur en octobre 2015)

1.4. LES POLYSACCHARIDES DE PAROI VEGETALE

Les biopolymères d’origine naturelle peuvent être classés en 8 grandes familles incluant les acides nucléiques, les polyamides, les polyoxoesters, les polythioesters, les polyesters inorganiques, les polyisoprénoides et les polysaccharides. Ces derniers ont été identifiés chez une multitude d’organismes allant des bactéries aux animaux en passant par les plantes supérieures, les champignons, les micro- et macroalgues. Les polysaccharides sont l’une des familles de biomolécules les plus diversifiées en termes de structure. Cette grande variabilité structurale provient du nombre important de motifs monosaccharidiques disponibles (principalement des hexoses et des pentoses) et de la possibilité de réaliser des liaisons glycosidiques entre le groupement hydroxyle anomérique d’un ose et n’importe lequel des groupements hydroxyles d’un autre monosaccharide. A titre de comparaison, les acides

nucléiques comptent 5 bases différentes et les protéines une vingtaine d'acides aminés, toujours associés par le même type de liaison. La formation d'un disaccharide avec deux hexoses identiques offre par contre pas moins de 5 possibilités différentes. A noter que cette diversité peut encore s'accroître par la présence sur ces structures de motifs non sucres associés de façon covalente à certains hydroxyles secondaires des monosaccharides constitutifs (sulfates, acides organiques...). De ce fait, les polysaccharides comme les oligosaccharides peuvent être des homopolymères ou des hétéropolymères. Ils peuvent également être linéaires, ramifiés et/ou substitués. Enfin un dernier niveau de complexité concerne l'existence ou l'absence d'unités de répétition dans leur structure. La classification de ces macromolécules peut reposer sur leur fonction biologique, le type d'organisme dont ils proviennent, leurs propriétés rhéologique ou encore leurs caractéristiques structurales.

Si on s'intéresse aux polysaccharides végétaux il est nécessaire de prendre conscience que leur variabilité structurale est en partie liée à leurs fonctions biologiques. Ils peuvent être catégorisés en polysaccharides de structure (cellulose, hémicellulose, chitine et pectine), en polysaccharides de réserve (amidon ou guar), en gommes ou exsudats (gomme Arabique) et en mucilages. La différence entre les gommes (collante) et les mucilages (visqueux) est souvent ambiguë dans la littérature. Les exsudats provenant des surfaces d'arbres sont généralement qualifiés de gommes (gommes Arabique, ghatti ou tragacanthé) (Stephen, 1995). Les mucilages sont plus considérés comme étant des hydrocolloïdes issus de tissus souples ou de graines et qui s'écoulent en présence d'eau. Le nom mucilage est également souvent utilisé pour désigner de façon abusive des extraits végétaux riches en hydrocolloïdes. Ces fractions mucilagineuses ont la capacité à former un gel qui retient plusieurs fois sa masse en eau. De la même manière certains polysaccharides identifiés dans des fractions clairement mucilagineuses sont également couramment rencontrés dans les polysaccharides pariétaux qui sont les polysaccharides constitutifs des parois végétales ayant plus un rôle de maintien des tissus.

Les polysaccharides constituant ces mucilages sont polaires et donc très hydrophyles. Ils sont généralement de très hautes masses molaires, constitués d'oses différents (hétéropolymères) et souvent hautement ramifiés. La présence de ces mucilages est essentiel à la survie des cactées de part la niche écologique qu'ils occupent. De ce fait, ces plantes très riches en mucilage sont capables d'absorber et de stocker de grandes quantités d'eau lorsque celle-ci est disponible. La libération de l'eau à partir du mucilage requiert ensuite de l'énergie et se traduit par la dégradation progressive de ce tissu lors de sécheresses prolongées afin d'exporter l'eau vers les tissus. La quantité de mucilage varie fortement suivant les espèces. Il

est absent chez *Ferocactus acanthodes* (sous famille des Cactoïdées), mais représente respectivement 19%, 26% et 35% de la masse sèche des espèces *Opuntia basilaris*, *O. acanthocarpa* et *Echinocereus engelmannii* (Fabrice, 2008). Le mucilage est synthétisé dans des cellules spécialisées dispersées dans le parenchyme et le cortex, et est ensuite excrété entre la membrane plasmique et la paroi cellulaire. Ces cellules à mucilage finissent par mourir et deviennent des sacs à mucilage. Chez les *Opuntia*, ces cellules sont tellement nombreuses qu'elles peuvent former des canaux dans les articles (feuilles succulentes appelées cladodes). *Ariocarpus fissuratus* (sous famille des Cactoïdées) possède une cavité mucilagineuse géante qui remplit le centre de la racine. Il est probable que le mucilage représente aussi un moyen de stockage du carbone. Les pressions engendrées par l'absorption d'eau sont extrêmement puissantes et reflètent le pouvoir de rétention de l'eau de ce tissu. Ainsi, le gonflement du mucilage, lorsque la plante est en présence de fortes quantités d'eau, peut conduire à son éclatement (Fabrice, 2008).

Le mucilage obtenu à partir des genres *Cereus* est décrit comme étant un arabinogalactane. Il a été isolé dans la gomme visqueuse exsudée de *Cereus peruvinus* (Cactaceae) (Tanaka *et al.*, 2010). Les mucilages des genre *Opuntia* sont des biopolymères complexes de nature glucidique, avec une structure fortement ramifiée (McGarvie et Parolis, 1981; Medina-Torres *et al.*, 2000, 2003; Goycoolea et Cardenas, 2004; Matsuhira *et al.*, 2006). Ils contiennent des proportions variables de L-arabinose, de D-galactose, de L-rhamnose et de D-xylose, ainsi que de l'acide galacturonique dans des proportions différentes. Ces caractérisations structurales renforcent le positionnement des mucilages de Cactées dans la catégorie des polysaccharides de la paroi végétale.

1.4.1. Organisation de la paroi végétale

Selon les espèces végétales, l'âge et les tissus, la structure de la paroi cellulaire varie. Elle peut être considérée comme un empilement de plusieurs couches constituées de lignine (polymère non polysaccharidique), d'hémicelluloses, de pectines et de celluloses. C'est l'association spécifique de ces 4 familles de polymère qui va conférer à la paroi pecto-cellulosique ses propriétés mécaniques particulières qui pourront évoluer en fonction des tissus et de l'âge de la cellule. Un modèle général peut être défini par des caractéristiques anatomiques. Ainsi, la paroi végétale peut être divisée en trois parties (**Figure 3**).

- La plus externe est la lamelle moyenne : c'est une couche qui sépare les cellules entre elles. Elle est riche en pectine et dépourvue de cellulose.

- La paroi primaire de type I (pour les plantes dicotylédones) : elle est composée de cellulose, d'hémicellulose et de pectines. Elle est à la fois rigide même si elle est plus souple que la paroi secondaire, et elle assure une plasticité et une élasticité permettant la croissance et la division cellulaire (McNeil *et al.*, 1984).
- La paroi secondaire : elle est constituée d'un réseau de cellulose, d'hémicellulose et de lignine (WatreLOT, 2013 ; McNeil *et al.*, 1984).

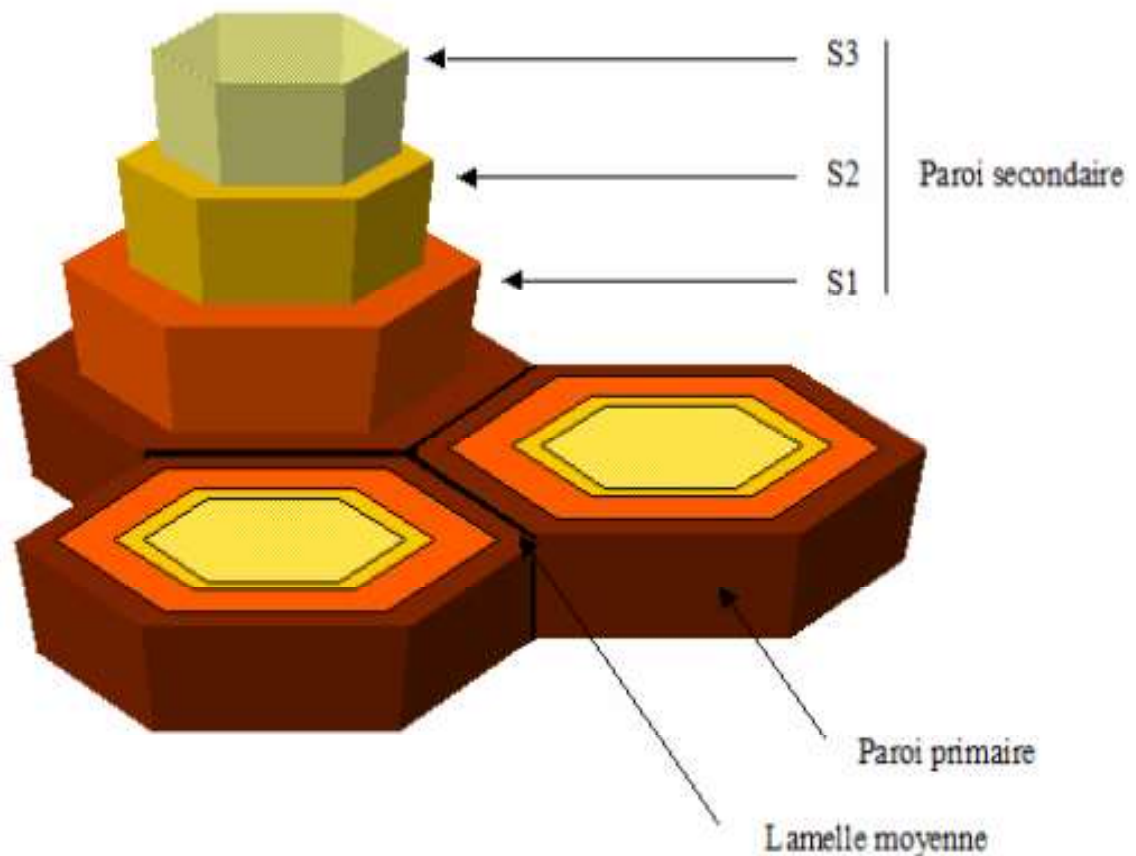


Figure 3 : Représentation schématique de la paroi cellulaire (Muschitz *et al.*, 2009)

Les polysaccharides de la paroi végétale représentent jusqu'à 90 % en masse des constituants pariétaux et sont qualifiés de polysaccharides pariétaux (Carpita et Gibeaut, 1993). Ces polymères interagissent entre eux et forment de véritables réseaux (**Figure 4**).

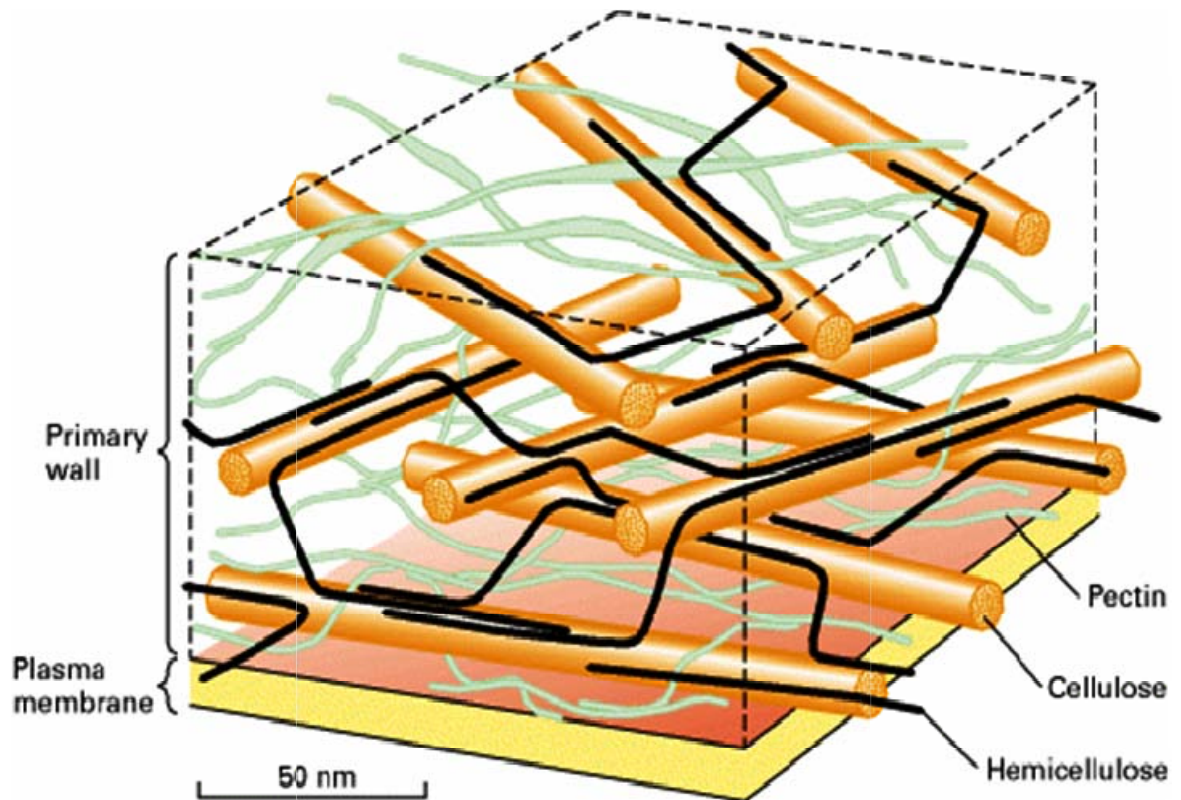


Figure 4: Constituants des parois cellulaires végétales (McCann et Roberts, 1994)

1.4.1.1. Les celluloses

La cellulose est considérée comme le polymère le plus abondant sur terre (plus de 50 % de la biomasse terrestre) (Robert et Roland, 1998; Saxena et Brown, 2005). Ce polysaccharide est le constituant essentiel de la paroi cellulaire des végétaux. Il représente une part très significative de leur masse sèche pouvant aller jusqu'à 99 % dans le coton. La cellulose est un homopolymère linéaire formé d'unités D-glucopyranoses liées par des liaisons glycosidiques de type β -(1,4) (**Figure 5**). Les unités glucopyranoses en conformation chaise (4C_1) ont leurs groupes hydroxyles en position équatoriale et établissent de nombreuses liaisons hydrogènes inter- et intramoléculaires. Deux unités glucose successives sont décalées de 180° l'une par rapport à l'autre ce qui explique la linéarité de la macromolécule qui est stabilisée par ces liaisons hydrogènes. Le principal type de liaison hydrogène intrachaine a lieu entre le groupe hydroxyle (OH) du carbone C3 d'une unité glucopyranose et l'O du cycle du monomère adjacent. On assiste également à la création de liaisons hydrogènes entre l'hydrogène (OH) du groupement CH_2OH du C6 d'une unité glucopyranose et l'oxygène du groupement OH porté par le C2 de l'unité glucose adjacente. Concernant les liaisons intermoléculaires, elles apparaissent essentiellement entre l'hydrogène (OH) du groupe CH_2OH et l'oxygène de l'hydroxyle en C3 d'une unité glucose porté par une autre chaîne.

La structure qui en découle a un caractère insoluble et présente des régions cristallines et des régions amorphes. Les liaisons hydrogènes sont beaucoup plus nombreuses dans la première. Le taux de cristallinité de la cellulose est de 40 à 50 % pour le bois, 60 % pour le coton et supérieur à 70 % pour certaines algues marines (Lin, 1987). Chez les plantes supérieures, la cellulose est synthétisée au niveau de la membrane cytoplasmique par des complexes intermembranaires qualifiés de rosettes composés de 36 celluloses synthases. Les 36 chaînes neosynthétisées s'associent en microfibrilles rigides et cristallines de 3 nm d'épaisseur (Somerville, 2006; Cosgrove, 2005). Les microfibrilles s'enroulent étroitement et fournissent ainsi une résistance mécanique à la plante face aux stress externes et à la pression osmotique interne (Brown, 2004). Elles servent aussi de structure d'ancrage aux autres polysaccharides des parois cellulaires et notamment aux hémicelluloses et aux pectines. La masse molaire (MM) des chaînes de cellulose varie de façon importante et peut atteindre $2,5 \times 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$ ce qui représente 15000 unités de glucose (Reguant et Rinaudo, 1999 ; Somerville, 2006). Le **Tableau 1** donne quelques exemples de celluloses caractérisées par leur degré de polymérisation (DP). Le DP des chaînes de cellulose est fortement dépendant de son origine et des traitements mis en œuvre pour son obtention à partir de matrices végétales brutes.

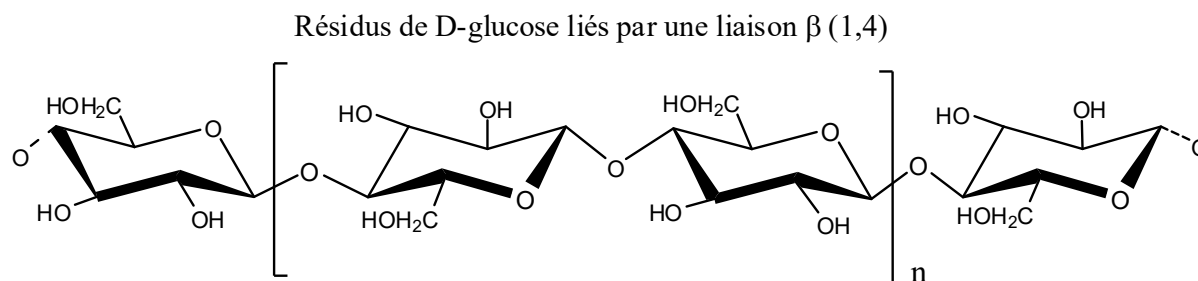


Figure 5 : Structure de la cellulose (Hijazi, 2001)

Si on considère les cactus, des celluloses ont été isolées des cladodes de *Cereus jamacarus* (Oliveira *et al.*, 2013) et des raquettes d'*Opuntia spp.* (Ben Thlija, 1987 ; Malainine *et al.*, 2003). Des cladodes fraîches d'*Opuntia ficus-indica* et de *Cereus jamacaru* ont été traitées selon la méthode décrite par Malainine *et al.* (2003). Après 2 heures d'extraction à l'eau à 50°C, le résidu insoluble a été filtré (60 μm) et dispersé dans une solution de NaOH à 2 %. La suspension a ensuite été lavée abondamment avec de l'eau distillée ce qui a permis de séparer la fraction alcali-insoluble des polysaccharides et les sels. Enfin, la fraction insoluble contenant les fibres de cellulose a été blanchie par du peroxyde d'hydrogène. Ce traitement permet d'extraire une cellulose relativement pure exempte de polysaccharides solubles, de lignines et de protéines.

Avec ce traitement, le rendement obtenu avec *Opuntia ficas-indica* était de $15,0 \pm 6,7$ % contre $11,5 \pm 7,8$ % avec *Cereus jamacaru* (Melainine *et al.*, 2003).

Tableau 1 : Degré de polymérisation de celluloses de différentes origines (Klemm *et al.*, 1998; Treiber, 1957)

Types de Celluloses	DP*
Coton natif	Jusqu'a 12000
Coton purifié	300-1500
Linters coton	6500
Lin	8000
Ramie	6500
α -Cellulose isolée à partir de bois	800-1100
Pâte à dissoudre	600-1200
Pâte d'épicea	3300
Pâte de hêtre	3050
Pâte de tremble	2500
Cellulose bactérienne	2700
Filaments et fibres de cellulose régénérée	250-500
Poudres de cellulose (préparés par hydrolyse partielle et désintégration mécanique)	100-200

DP* : degré de polymérisation

La conformation globale de la cellulose est très ordonnée et la régularité des liaisons hydrogènes intra- et intermoléculaires lui confère un caractère fibrillaire (chaines de surface) et partiellement cristallin. Le cœur des microfibrilles apparaît comme cristallin tandis que les chaînes de surface sont amorphes. Il existe 4 états polymorphes de la cellulose (de la cellulose I à la cellulose IV) sur la base de la diffraction aux rayons X (Isogai, 1994).

La cellulose I (cellulose native), elle-même constituée de 2 allomorphes (I α et I β (le plus stable)) cristallisés, est caractérisée par un arrangement parallèle des chaînes moléculaires.

La cellulose II est issue de la cellulose I après son traitement par de la soude (procédé de mercérisation). Cette conversion de la cellulose I en cellulose II est irréversible. Cette forme de cellulose est caractérisée par un arrangement anti-parallèle des chaînes dans une maille cristalline.

La cellulose III est obtenue par traitements chimiques ou thermiques des celluloses I ou II.

L'allomorphe III est la forme la plus stable de cellulose mais n'existe pas dans la nature.

La cellulose IV que l'on rencontre dans les parois primaires de certaines plantes est considérée comme étant une forme désordonnée de la cellulose I.

Si on considère la paroi végétale, la microfibrille de cellulose est l'élément structural de base (Preston *et al.*, 1948). Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer l'agencement des chaînes de cellulose dans cette paroi. Parmi eux, celui où les chaînes de cellulose sont considérées comme étirées a pu être confirmé par diffraction aux rayons X et par des travaux sur la polarité des microfibrilles (Chanzy et Henrissat, 1985 ; Koyama *et al.*, 1997).

Les microfibrilles de cellulose sont constitutives de la paroi primaire sans avoir d'orientation préférentielle. Elles sont par ailleurs intégrées dans une matrice de pectines et d'hémicelluloses. Cette structuration conduit à une architecture fibrillaire qui reste relativement plastique. Par opposition, la paroi secondaire qui va apparaître après la différenciation et la croissance définitive des cellules, est beaucoup plus riche en microfibrilles de cellulose et en lignine mais est dépourvue de pectines. Cette caractéristique lui confère une grande rigidité.

Dans la littérature, on parle rarement de l'extraction de la cellulose mais plutôt de purification de la cellulose ou encore d'une façon plus explicite de l'enrichissement en cellulose. Cet enrichissement résulte de l'élimination de tous les contaminants qui peuvent exister tant phénoliques que pectiques ou hémicellulosiques.

Généralement, la lignine est le contaminant résiduel qui reste fortement associé à la cellulose après l'élimination des pectines et des hémicelluloses. Elle est éliminée ou transformée à l'aide d'agents oxydants communément appelés agents de blanchiment. Les réactifs de blanchiment les plus utilisés ont été pendant longtemps des réactifs chlorés. Le chlorite de sodium est le dérivé chloré le plus employé, au moins à l'échelle du laboratoire. Il a été utilisé pour la première fois par Jayme (Jayme, 1942) puis son usage s'est développé suite aux travaux de Wise *et al.* (1946). C'est un traitement doux et non altérant réalisé en milieu tamponné et à 70°C. En raison de contraintes environnementales, les agents chlorés ont progressivement été abandonnés au profit d'agents de blanchiment plus écologiques tels que l'ozone ou le peroxyde d'hydrogène.

La cellulose, en tant que ressource renouvelable, a été largement étudiée pour des applications dans différents domaines tels que l'agroalimentaire, l'industrie chimique, la pharmacie, les biocarburants et pour la production de matières plastiques telles que le cellophane (Simon *et al.*, 1998). La cellulose n'est pas soluble dans l'eau, mais le diamètre de ses fibres peut augmenter de 20 % en milieu aqueux (gonflement). La résistance mécanique de la fibre

augmente également de 15-20 % en présence d'eau et le gonflement entraîne un développement important de la porosité (Chemchame, 2011). Le **Tableau 2** représente les propriétés mécaniques des dérivés de cellulose. Ces dérivés sont produits afin de modifier leurs propriétés mécaniques ou pour les rendre plus solubles dans l'eau après modification de la structure cristalline par substitution des groupements hydroxyles (Simon *et al.*, 1998). L'estérification de la cellulose a ainsi également permis le développement de plastiques biodégradables utilisables dans la filière agroalimentaire (Chauvelon *et al.*, 1999). Les éthers de cellulose sont quant à eux utilisés en tant épaississants ou gélifiants à faible concentration pour contrôler la viscosité d'un milieu, notamment dans l'alimentaire, les peintures, les colles ou encore les cosmétiques. Ils servent aussi d'émulsifiants dans l'industrie alimentaire ou lors de la fabrication des laques. Les principaux dérivés connus de la cellulose sont les suivants :

La cellophane :

La cellophane est un film fin et transparent constitué d'hydrate de cellulose. C'est un matériau très utilisé pour les emballages alimentaires du fait de sa transparence et de son étanchéité aux microorganismes (Vartiainen *et al.*, 2014). Les films de cellophane ont un allongement à la rupture (caractéristique sans dimension des matériaux) de 15-45 % et une contrainte à la rupture entre 124-193 MPa (Reguant et Rinaudo, 1999).

L'acétate de cellulose :

L'acétate de cellulose a un module de Young (constante reliant la contrainte de traction à la déformation d'un matériau élastique isotrope) de 5900-27580 MPa, un allongement à la rupture de 6 à 70 % et une contrainte à la rupture de 13 à 59 MPa. Sa résistance à la flexion est comprise entre 14-110 MPa (Reguant et Rinaudo, 1999). L'acétate de cellulose est utilisé comme base pour les pellicules en photographie, comme vernis, comme composant de certains adhésifs, d'explosifs et de laques (Engelhardt, 1995; Eicher et Wandel, 1986).

L'acétate butyrate de cellulose (CAB) :

L'acétate / butyrate de cellulose qui présente une excellente résistance à l'humidité a un module de Young compris entre 4800-13800 MPa et un allongement à la rupture de 40 à 88 %. Sa contrainte à la rupture se situe entre 18-48 MPa (Reguant et Rinaudo, 1999). Il est utilisé comme matériau de base pour la fabrication de nombreux objets d'usage courant du fait de sa haute résistance aux chocs, à l'humidité, à la lumière (UV notamment), et à la dégradation par voie chimique (Sabde *et al.*, 1997).

Le nitrate de cellulose :

Le nitrate de cellulose ou Nitrocellulose est un ester de cellulose utilisé comme explosif dans les munitions sous la forme de fulmicoton, coton-poudre ou encore pyroxyle (Hon et Gui,

1986). Ce polymère a un module de Young compris entre 13100-15200 MPa, un allongement à la rupture de 40 à 45 % et une contrainte à la rupture comprise entre 48-55 MPa (Reguant.et Rinaudo, 1999).

L'éthyl cellulose :

L'éthyl cellulose (également orthographié ethycellulose) est fabriqué à partir de cellulose végétale partiellement éthérifiée, (Koch, 1937). Ce polymère est pratiquement insoluble dans l'eau. Il possède un Module de Young de 6900-20700 MPa, un allongement à la rupture de 5 à 40 % et une contrainte à la rupture de l'ordre de 14-55 MPa (Reguant.et Rinaudo, 1999). Ce polymère est utilisé comme additif alimentaire sous le numéro E462, comme agent émulsifiant, d'enrobage ou épaississant.

Tableau 2 : Propriétés mécaniques des dérivés de cellulose (Reguant.et Rinaudo, 1999)

	Cellophane	Acétate de cellulose	Acétate de cellulose (haut taux d'acétyle)	Acétate /butyrate de cellulose	Nitrate de cellulose	Ethyl-cellulose	Norme
Module de Young sur plastiques (MPa)	-	5900-27580	6900-24000	4800-13800	13100-15200	13100-15200	ASTM D638
Allongement de rupture (%)							
- sur plastiques	-	6-70	4-55	40-88	40-45	5-40	ASTM
- sur films	15-45	15-45	-	60-70	30-40	30-65	D638
Contrainte à la rupture (MPa)							
- sur plastiques	-	13-59	21-55	18-48	48-55	14-55	ASTM
- sur films	124-193	34-83	-	41-62	69-76	48-69	D638
Résistance à la flexion sur plastiques (MPa)	-	14-110	24-90	12-64	62-76	28-83	ASTM D790
Résistance à la pliure sur film	-	250-400	-	250-400	50-250	2700	a
Résistance à la compression sur plastiques (MPa)	-	89-248	97-248	52-152	152-586	69-241	ASTM D695
Résistance à l'impact Izod sur plastiques (Nm/m)	-	21-277	21-277	43-363	267-373	106-427	ASTM D256
Résistance à la déchirure (g) sur films	2-10	2-25	-	4	-	7-36	b

^a Courbure dans un « Schopper bending endurance tester » sur un film de 1-mm d'épaisseur.

^b «Bimendorf tear» pour la force requise pour continuer la déchirure d'un film de 1 mm avec entaille.

1.4.1.2. Les hémicelluloses

Les hémicelluloses représentent, après la cellulose, les polysaccharides les plus abondants dans la nature. Ce sont des polysaccharides amorphes constitués de monosaccharides neutres (xylose, arabinose, galactose, glucose et mannose) et d'acides uroniques (acides glucuronique et acide 4-*O*-methyl-glucuronique). Elles sont définies comme des polysaccharides végétaux solubilisables à pH alcalin (par exemple KOH 1M) (Selvendran *et al.*, 1985). Les hémicelluloses présentent un haut degré de variabilité en fonction des espèces végétales, du type de tissus et des stades de maturité. Les monosaccharides les plus représentés dans ce type de structure sont le glucose, le mannose ou le xylose (Adler, 2014 ; Moine, 2005). Même si ces polysaccharides sont principalement de nature hétéropolymériques (xyloglucanes, arabinoxylanes, glucomannanes, glucuronoxylanes ou glucuronoarabinoxylanes) quelques hémicelluloses homopolymériques (glucanes, mannanes et xylanes) ont été décrites dans la littérature (Habibi, 2004, Moine, 2005). La structure des hémicelluloses consiste en un squelette de base de monosaccharides liés en β -(1,4) et de type D-pyranoses, où l'O-4 est en position équatoriale (O'Neill et York, 2003).

D'une façon générale et comme il a été mentionné précédemment, les hémicelluloses sont solubles dans des solutions alcalines. En effet, des solutions de soude et dans une moindre mesure de potasse peuvent être utilisées pour extraire l'hémicellulose. L'augmentation de la concentration en soude ou/et de la température favorise le rendement et la vitesse de l'extraction. Cependant une trop forte concentration en base forte risque de provoquer une transformation allomorphique de la cellulose I en cellulose II. Dinand *et al.* (1999) ont ainsi pu observer ce phénomène en purifiant les microfibrilles de cellulose issues de la pulpe de betterave. Ils ont ainsi pu déterminer qu'une concentration en soude de 2 % (m/v) était suffisante pour éliminer les hémicelluloses. Habibi (2004) a adapté le même protocole pour extraire les hémicelluloses de la pelure du figuier de barbarie traitée par une solution de soude (0,5M) à 80°C, au cours de deux cycles de 2 heures. Les extraits alcalins ont été neutralisés par de l'acide acétique 20 % (v/v) et les polysaccharides solubilisés précipités par addition d'éthanol. Le rendement d'extraction était de 5,8%. L'hémicellulose de la pelure du figuier de barbarie est composé essentiellement de xylose, (36,6 %) et renferme aussi une quantité importante d'acides uroniques (49,4 %). Cette étude a confirmé qu'il s'agit d'une 4-*O*-méthyl-D-glucurono-(1,2)- β -D-(1,4)-xylose dont un résidu xylose sur six est substitué par l'acide 4-*O*-méthylglucuronique (Habibi, 2004). Des hémicelluloses ont également été extraites et identifiées chez des cactus tels que *Cereus jamacarus* (cladodes) et *Opuntia spp.* (raquettes) (Oliveira *et al.*, 2013; Ben Thlija, 1987; Melainine *et al.*, 2003).

Les homo- et hétéroxyanes :

Les xylanes sont les principales hémicelluloses de la paroi secondaire des trachéides des angiospermes (cellules clarifiées formant les capillaires de conduction de la sève brute) et des fibres des dicotylédones ligneuses. Ils peuvent représenter jusqu'à 25 à 35 % de la biomasse sèche chez ces espèces. Chez les monocotylédones et notamment les Poacées (céréales), ils représentent jusqu'à 50% de la masse sèche (Ebringerova et Heinze, 2000). Ils constituent l'espèce de polysaccharide la plus abondante après la cellulose.

Les xylanes sont composés d'une chaîne linéaire de résidus de type xylopyranoses liés en β -(1,4) et moins fréquemment en β -(1,3) (surtout chez xylanes d'algues). Cette chaîne linéaire présente des branchements plus ou moins réguliers. Elle peut en effet être substituée par des résidus de type arabinoses (Ara) et xylopyranoses (arabinoxylanes également qualifiés de xylanes neutres très répandus chez les céréales) et/ou des acides glucuroniques (GlcA/4-O-Me-GlcA) (glucuronoxylanes/glucuronoarabinoxylanes également qualifiés de xylanes acides) (O'Neill et York, 2003). A noter l'existence d'homoxylanes neutres linéaire ou ramifiés assez rares chez les angiospermes. Tous les types de xylanes peuvent être variablement acétylés en position O-2 et/ou O-3.

Les résidus arabinose présents chez les arabinoxylanes sont liés à la chaîne principale de xylane par des liaisons (1,3) ou (1,3) et (1,2) (**Figure 6**). La masse moléculaire de certains arabinoxylanes a été mesurée comme étant égale à 300 kDa (Ebringerova et Hromadkova, 1999).

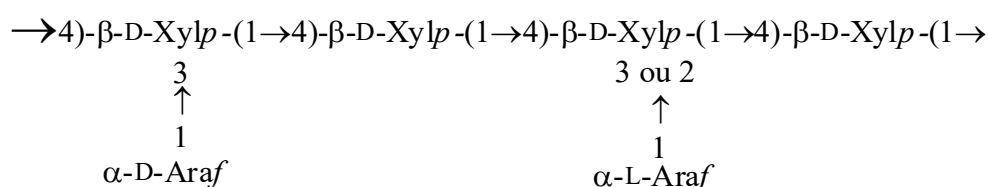


Figure 6 : Structure d'un arabinoxylane (Habibi, 2004)

Les xylanes acides sont substitués par de l'acide glucuronique ou de l'acide 4-O-méthyle- α -D-glucuronique en position 2 des unités xylopyranoses (**Figure 7**).

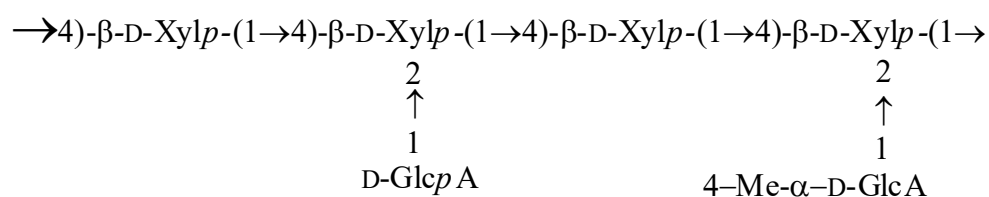


Figure 7 : Structure d'un xylane acide (Habibi, 2004)

A noter que ce type de structure peut également être substitué par des esters d'acide férulique (Wikie, 1979). Les xylanes substitués par la forme méthylée de l'acide glucuronique sont les plus nombreux dans le règne végétal chez les dicotylédones et il est extrêmement rare de trouver des xylanes substitués à la fois par la forme méthylée et non méthylée de l'acide glucuronique (Wikie, 1979). Les xylanes anioniques peuvent également être substitués par des résidus arabinofuranoses, notamment chez les gymnospermes (Stephan, 1983). On parlera alors de glucuronoarabinoxylanes.

Les xyloglucanes :

Les xyloglucanes sont les principales hémicelluloses présentent dans la paroi primaire des cellules de plantes vasculaires (Chávez, 2008). Ils sont composés d'un squelette de β -(1,4)-D-glucopyranoses où les glucoses peuvent être substitués par des résidus D-xyloses en α -(1,6). La chaîne principale de glucane peut également porter des di ou trisaccharides incluant du xylose, du galactose et du fucose. Les disaccharides sont de type $[1)\text{-}\alpha\text{-D-Xylp-(2,1)-}\beta\text{-D-Galp}]$ et les trisaccharides de type $[1)\text{-}\alpha\text{-D-Xylp-(2,1)-}\beta\text{-D-Galp-(2,1)-}\alpha\text{-L-Fucp}]$. Ces oligosaccharides sont également positionnés sur les C6 des résidus glucose de la chaîne principale (**Figure 8**).

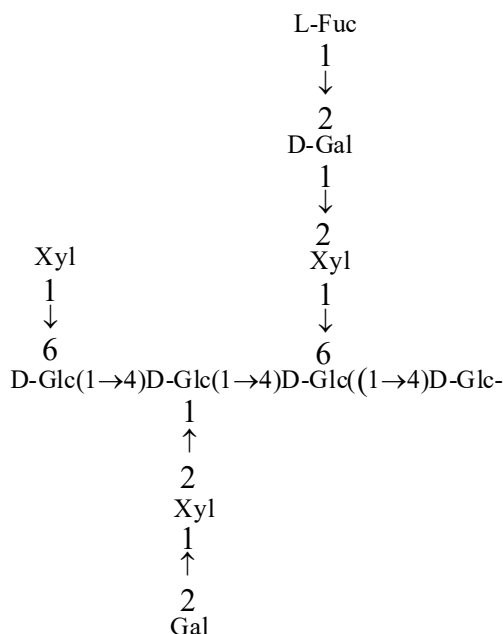


Figure 8 : Représentation schématique d'un xyloglucane (Reiter, 2002)

Les mannanes :

Les mannanes font partie des hémicelluloses que l'on rencontre dans les parois végétales. Ce sont par ailleurs les hémicelluloses les plus fréquentes de la paroi des cellules du bois (Thi,

2011 ; De Cherisey, 2015). Ils peuvent ainsi représenter jusqu'à 5% de la masse sèche du bois (**Tableau 6**). A noter que les mannanes sont également des substances de réserve chez les graines de nombreux végétaux tels que les légumineuses (endosperme des graines). On les trouve également en abondance dans les bulbes de certaines plantes (gomme Konjac). Ils ne sont alors pas considérés à proprement parler comme des hémicelluloses même s'ils sont de structures proches ou identiques (Buckeridge *et al.*, 2000; Hoch, 2007).

Les mannanes hémicellulosiques sont constitués d'un squelette principal d'unités D-mannopyranoses liées en β -(1,4), avec quelques branchements et/ou des groupements acétyles en position O-2 ou/et O-3 (Stephen, 1983). Sans être de nature cristalline, ces macromolécules possèdent une conformation proche de la cellulose avec le même polymorphisme.

Ces mannanes sont très souvent des hétéromannanes qui peuvent présenter deux voir trois types de structure, également rencontrées comme substance de réserve. On distingue ainsi des glucomannanes de très haute masse molaire constitués d'une alternance de résidus D-mannopyranoses et D-glucopyranoses liés en β -(1,4), et des galatomannanes composés d'une chaîne principale d'unités D-mannopyranoses liées en β -(1,4) régulièrement substituée en α -(1,6) par des résidus de D-galactopyranoses (**Figure 10**) (Habibi, 2004). Les glucomannanes des conifères présentent 1 unité glucose pour 3 unités mannoses alors que pour les feuillus, il y a 1 unité glucose pour 2 unités mannoses (Avat, 2013).

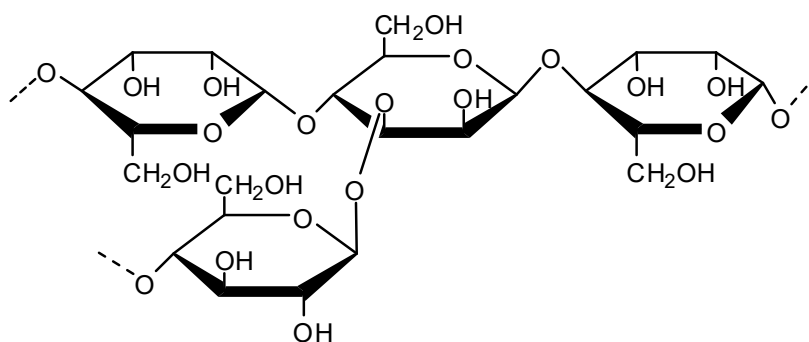


Figure 9 : Structure du glucomannane des feuillus

La forme galactomannane (**Figure 10**) est la plus répandue chez les végétaux. Le rapport M/G d'un galactomannane ainsi que la taille des chaînes macromoléculaires peuvent varier au sein d'une même espèce végétale en fonction des conditions climatiques, de la composition du sol, de la variété et de l'âge de l'arbre et des conditions de culture (Bouzouita *et al.*, 2007 ; Dakia, 2009; McCleary, 1980 ; Moreira *et al.*, 2008). Ces deux éléments, vont permettre d'établir une distinction entre les différents types de galactomannanes.

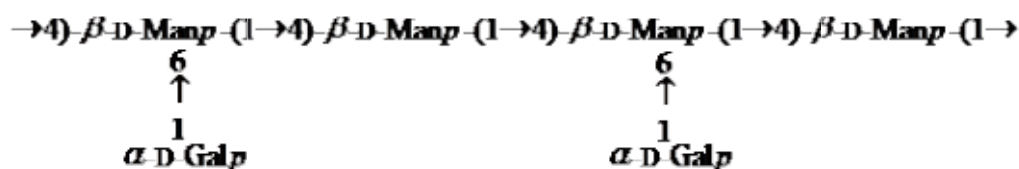


Figure 10 : Structure d'un galactomannane (Habibi, 2004)

Une troisième structure d'hétéromannane se positionne à l'interface des deux précédentes. Il s'agit de celle des galactoglucomannanes qui correspondent à des chaînes osidiques assez courtes de 45 à 150 unités osidiques (De Cherisey, 2015). Ces galactoglucomannanes sont généralement la famille dominante de mannanes dans les bois de résineux (De Cherisey, 2015). Leur structure se compose d'une chaîne principale de glucomannane, similaire à celle précédemment décrite, régulièrement substituée α -(1,6) par des résidus galactopyranoses (Figure 11).

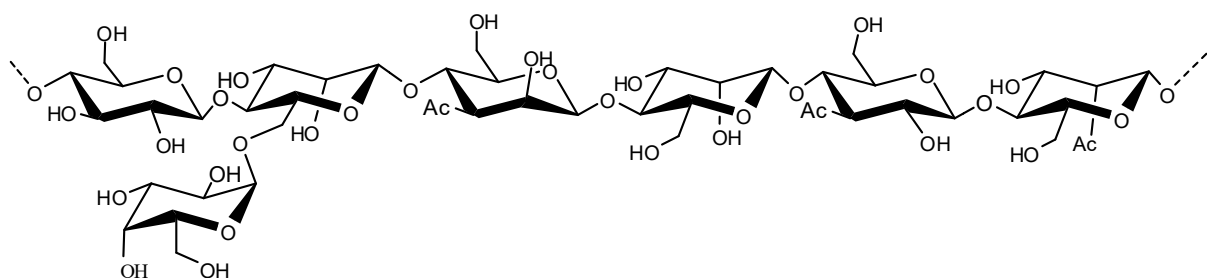


Figure 11 : Structure d'un galactoglucomannane de bois de résineux (De Cherisey, 2015)

Les hémicelluloses se caractérisent par leur solubilité dans les solutions alcalines diluées (Whistler et Shah, 1978). Il est cependant possible de les extraire à l'aide de solvants organiques et notamment de diméthylsulfoxyde (DMSO). L'utilisation de solutions alcalines de concentrations variées en fonction des types d'hémicelluloses (entre 1 et 24 %) permet la rupture des liaisons hydrogènes qui les lient à d'autres polysaccharides pariétaux et à la saponification de certains esters. Ce traitement alcalin peut être associé à des procédés d'extraction à haute pression en présence de vapeur (Wi *et al.*, 2015).

L'utilisation d'ions borate dans les solvants d'extraction favorise la formation de complexes avec les hydroxyles en C-2 et C-3 des résidus mannoses ce qui favorise leur solubilité en milieu alcalin.

Après l'extraction alcaline, un groupe d'hémicelluloses précipite quand on neutralise la solution. Ce type d'hémicelluloses (nommées hémicelluloses A) est un groupe de polysaccharides de masses molaires élevées, linéaires ou presque linéaires et normalement

ayant très peu (ou aucun) groupements carboxyliques. Les hémicelluloses restant en solution (hémicelluloses B) sont généralement plus branchées, avec une masse molaire plus basse et avec de nombreux groupements carboxyliques. Ces hémicelluloses peuvent être facilement précipitées à l'aide d'éthanol (Manolas, 1993, Brisson *et al.*, 1994). En règle générale, les protocoles d'extraction des hémicelluloses sont fortement dépendants de la teneur des tissus végétaux en lignines (Joseleau, 1980). Des traitements délignifiants peuvent ainsi être nécessaires afin d'éviter une contamination des hémicellulose par ce polymère partiellement soluble en conditions alcalines.

Le Tableau 3 résume les caractéristiques des différentes hémicelluloses du bois.

Tableau 3 : Caractéristiques des différentes hémicelluloses du bois (De Cherisey, 2015)

Type de polysaccharides	Sources	% de la masse sèche du bois	Composition	Proportion	Liaison osidique	Solvants d'extraction	DPm	DPn
<i>O</i> -Ac.-4- <i>O</i> -Met-glucuronoxylane	Bois de feuillus	10-35	β -D-Xylp 4- <i>O</i> -Me-Glcp O-acétyl	10 1 7	β -(1,4) α -(1,2) -	Solutions alcalines (KOH-DMSO)	180-250	200
Glucomannane	Bois de feuillus	3-5	β -D-Manp β -D-Glcp	1-2 1	β -(1,4) β -(1,4)	Solutions alcalines (NaOH) en présence d'ions	120	70
Arabino-4- <i>O</i> -Met-Glucuronoxylane	Bois de conifère	10-15	β -D-Xylp 4- <i>O</i> -Me-GlcpU O-acétyl α -L-Araf	10 2 - 1-3	β -(1,4) α -(1,2) - α -(1,3) -	Solutions alcalines KOH,Ba(OH) ₂ , DMSO	-	120
Galactoglucomannane	Bois de conifère	5-10	β -D-Manp β -D-Glcp α -D-Galp O-acétyl	3 1 1 0,24	β -(1,4) - β -(1,4) β -(1,6)	Solutions alcalines (KOH) en présence d'ions borate	150	100
Galactoglucomannane	Bois de conifere	10-15	β -D-Manp β -D-Glcp α -D-Galp O-acétyl	3 1 0,1 1	β -(1,4) - β -(1,4) β -(1,6)	Solutions alcalines (KOH) en présence d'ions borate	150	100

1.4.1.3. Les pectines

1.4.1.3.1. Caractérisation structurale des pectines

C'est Braconnot, en 1825, qui isola pour la première fois des composés particuliers à partir d'extraits de fruit. Il les baptisa pectines (du grec *Pektos* signifiant gelée) pour leurs propriétés gélifiantes. Les pectines sont des macromolécules exclusivement végétales de nature glucidique. Chez les végétaux supérieurs, les pectines représentent environ 30% de la masse des parois primaires de dicotylédones (Carpita *et al.*, 1993 ; Perez *et al.*, 2003). Les pectines sont décrites comme étant soumises à des voies de biosynthèses très complexes et leurs structures peuvent évoluer au cours du développement cellulaire (Voragen *et al.*, 1995 ; Perez *et al.*, 2003). Elles sont les principaux constituants de la lamelle moyenne des parois des cellules et sont essentiellement composées d'acides galacturoniques (Carpita *et al.*, 1993). Elles forment alors un véritable ciment biologique (ciment pectique) qui rattache les cellules les unes aux autres (Voragen *et al.*, 1995). On retrouve également des pectines dans la matrice des parois primaires et en plus faibles quantités dans les parois secondaires des cellules. Les pectines sont abondantes dans les fruits tels que la pomme et le citron (Saulnier *et al.*, 1988 ; Renard, 1995). De manière générale, leur nature évolue avec l'âge des tissus : d'abord insolubles elles assurent la rigidité des tissus, elles sont ensuite dégradées en sucres et en acides par voie enzymatique au cours du mûrissement. Au niveau industriel, elles sont utilisées comme additifs dans l'industrie textile et agro-alimentaire pour leurs propriétés stabilisantes, épaississantes et gélifiantes (ex : les confitures).

La variabilité structurale des pectines en fait l'un des polysaccharides pariétaux les plus complexes (**Figure 12**). On peut les diviser en deux sous-catégories : (i) les substances pectiques acides (homogalacturonane, rhamnogalacturonane de types I et II et, (ii) les substances pectiques neutres (arabinanes, galactanes, arabinogalactanes) associées de manière covalente aux rhamnogalacturonanes au sein de la macromolécule pectique (O'Neill *et al.*, 1990 ; Visser *et al.*, 1996 ; Reiter, 1998 ; Pérez *et al.*, 2003).

L'organisation de ces sous-catégories pectiques est aujourd'hui remise en question. Le modèle longtemps admis décrit une alternance de zone « lisses » (HG) et de zones « hérissées » (RG-I) substituées par des chaînes latérales d'oses neutres (Voragen *et al.*, 1995). Ces dernières années Vincken *et al.* (2003) ont suggéré que la chaîne principale pectique était en réalité une zone RG sur laquelle seraient substituées des chaînes latérales d'oses neutres mais également des zones HG. A ce jour, l'organisation complexe des polymères pectiques n'est donc pas encore totalement élucidée.

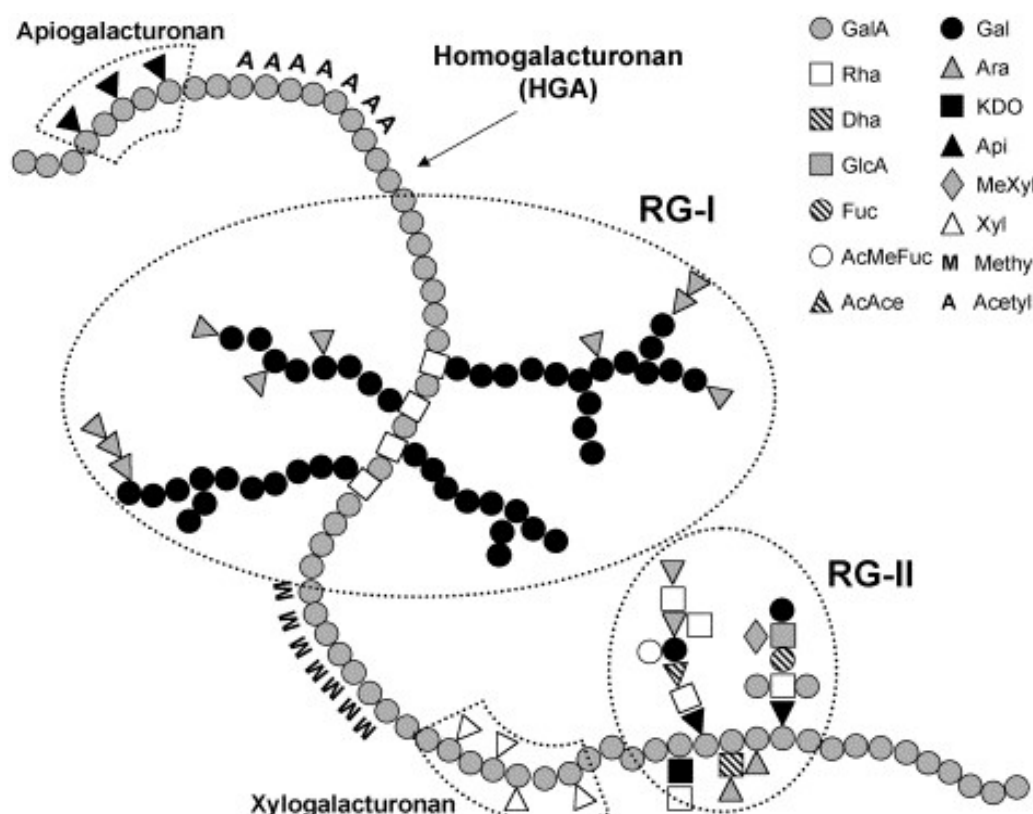


Figure 12 : Représentation schématique de la structure primaire des pectines (Pérez *et al.*, 2003)

Les paragraphes suivants décrivent les principales sous-catégories pectiques connues :

Les homogalacturonanes (HGs) : également nommés zones lisses, ils représentent 50 à 70 % de la pectine (Jackson *et al.*, 2007). Ce sont des chaînes linéaires polygalacturoniques (PGA) composées de 100 à 200 résidus d'acide galacturonique (GalA) liés en α -(1,4) (Renard *et al.*, 1998). Ces HGs dépendent étroitement de la nature de la plante et peuvent être partiellement *O*-méthylés en position C₆ et/ou *O*-acétylés en position C₂ et/ou C₃ (Ishii *et al.*, 1995, 1997). Les fonctions carboxyles que portent en C₆ les acides galacturoniques, en font des polyanions et des échangeurs d'ions pouvant capter les molécules électriquement chargées transitant dans la paroi (tels que des ions monovalents ou divalents comme K⁺, Na⁺ et Ca²⁺). Les propriétés physico-chimiques et les fonctions biologiques des HGs sont souvent corrélées à leur capacité d'établir des interactions de type électrostatique. Le degré d'acidité est modifiable par la cellule qui peut estérifier, de façon réversible les groupes carboxyles grâce à une pectine méthylestérase (PME). Cette propriété est utilisée dans l'industrie alimentaire lors de la clarification des jus de fruits (Camperi *et al.*, 2000). On définit ainsi le degré de méthylation (DM) comme le nombre de fonctions carboxyles estérifiées par le méthanol pour cent motifs galacturoniques. Ce DM permet la classification des pectines en

trois catégories : (i) les acides pectiques, $DM < 5 \%$; (ii) les pectines faiblement méthylées (FM), $DM < 50 \%$ et ; (iii) les pectines hautement méthylées (HM), $DM > 50 \%$. Les pectines naturelles étant habituellement hautement méthylées, on estime que suivant l'origine de la pectine, le taux d'estérification des fonctions carboxyliques latérales est compris entre 20 et 60 %. Les substances pectiques peuvent former des gels (réseaux stables et élastiques à mailles retenant de plus ou moins grandes quantités de molécules d'eau) sous certaines conditions : (i) les nœuds du réseau s'établissent à partir de segments homogalacturoniques réunis par des ions Ca^{2+} captés et logés dans des replis de la chaîne. On parle alors de disposition en boîte d'œufs type «Egg-box» (Grant *et al.*, 1973 ; Thakur *et al.*, 1997) ; (ii) ces « Eggs-box » sont formées par des liaisons de type ionique entre les fonctions hydroxyles et les fonctions acides présentes chez les HGs et l'ion Ca^{2+} . De manière générale, Les HGs présentent une conformation telle que la fixation de Ca^{2+} soit optimale. L'ion Ca^{2+} prendrait part à 9 liaisons de coordinence avec 2 oxygènes des liaisons glycosidiques, 2 oxygènes hétérocycliques, 2 fonctions acides, et 3 fonctions alcools (Grant *et al.*, 1973) ; (iii) une partie des pectines peut être déstabilisée et mise en solution par tout composé capable de prélever le calcium : l'acide oxalique qui précipite en oxalate de calcium, l'EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) chélateur des métaux divalents (type Ca^{2+}) et ; (iv) cette structure en boîte d'œufs ne peut exister que dans une région homogalacturonique de la molécule pectique ; toute substitution des fonctions alcools secondaires (ie : l'acétylation), gênerait la formation de cette structure et donc empêcherait la gélification. Toutes ces propriétés de gélification sont très utilisées dans l'industrie agroalimentaire (Mancini *et al.*, 2000 ; Zhou *et al.*, 2000).

Les rhamnogalacturonanes de type I (RGs-I) : également nommés zone hérissée, ils sont composés d'un squelette d'une dizaine de répétition d'une unité disaccharidique mettant en jeu l'unité rhamnose (α -D-Rha) et l'unité acide galacturonique (α -D-GalA) dans des liaisons de types $[,4)\text{-}\alpha\text{-D-GalA-(1,2)-}\alpha\text{-L-Rha-(1,)]$ (Schols *et al.*, 1994). Le rhamnose fait donc partie de la chaîne principale et son taux dépend de l'origine de la pectine (espèce, tissu, stade de développement). Les RGs-I représentent environ 7 à 15 % de la pectine dans laquelle environ 20 à 80 % des unités α -L-Rha sont substituées (Ridley *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 2007). Les RGs-I ont un degré de polymérisation (DP) d'environ 1000. La nature des liaisons α -(1,4) et α -(2,1) entre le rhamnose et l'acide galacturonique provoque une déviation de 90° de l'axe de la chaîne pectique d'où le nom de « coude pectique » donné à cette région de la

macromolécule. Ce coude confère donc à la molécule une configuration en mode zigzag. Il est prouvé que l'unité acide galacturonique des RGs-I peut être *O*-acétylée en position C₂ et/ou C₃ (Dumville *et al.*, 2000 ; Perrone *et al.*, 2002 ; Komalavilas *et al.*, 1989). Il n'est cependant pas certifié que la majorité des acides galacturoniques soient méthyl-estérifiés même si, certains travaux effectués dans l'analyse structurale des RGs-I ont montré la présence de nombreuses méthyl-estérifications. Par ailleurs, il est à noter que les résidus α -D-GalA ne sont « jamais » substitués par des monosaccharides ou des oligosaccharides, bien que certaines études effectuées sur des familles de RGs-I rapportent qu'il peut exister des monosaccharides acides de type α -D-glucuronique liés au niveau des carbones C-3 pour environ 2 % des α -D-GalA (Renard *et al.*, 1999). Généralement, la littérature révèle que 20 à 80 % des résidus L-Rha sont, selon l'origine végétale et la méthode d'extraction, substitués au niveau du carbone C-4 par des chaînes latérales d'oses neutres telles que des galactanes ([,4)- α -D-Gal-(1,]_n), des arabinanes ([,5)- α -L-Ara-(1,]_n), des arabinogalactanes et plus rarement des xylanes (O'Neill *et al.*, 1990, Oosterveld *et al.*, 2000). Chez certains végétaux (betterave, épinard, etc.), les chaînes latérales peuvent être estérifiées par des acides phénoliques (acide férulique ou coumarique) au niveau des fonctions hydroxyles en position 6 des résidus de galactose ou en position 2 des résidus d'arabinose (Bonnin *et al.*, 2002). Selon l'espèce végétale étudiée il existe donc une différence notable de composition en monosaccharides constitutifs au niveau des RGs-I (Schols *et al.*, 1994). Il n'existe que très peu d'informations relatives aux fonctions biologiques de ces polysaccharides. Cependant, une majorité des données semblent converger vers l'idée que l'évolution de la structure des pectines au niveau des chaînes latérales de galactanes, d'arabinanes et d'arabinogalactanes peut être corrélée à différents stades de développement tissulaire et cellulaire chez la plante (Perez *et al.*, 2003).

Les rhamnogalacturonanes (RGs) de type II (RG-II) : constituent une famille de composés pectiques plus complexes et moins fréquents qui diffèrent des RGs-I par leur enchaînement linéaire d'homogalacturonane: [,4)- α -D-GalpA-(1,] (O'Neill *et al.*, 1990 ; Perez *et al.*, 2003). De plus, les substitutions rencontrées en C-3 des unités α -D-GalpA sont différentes de celles des RGs-I. En effet, Il peut y avoir des substituants de type : 2-*O*-methyl-L-Fucose, 2-*O*-methyl-D-Xylose, D-Apiose, acide acétique, dihydroxy-D-apiose (DHA) ou encore, l'acide 3-deoxy-D-manno-2-octulosonique (KDO). Les RGs-II sont principalement présent dans les vins et divers jus de fruits (Doco *et al.*, 1997). Leur capacité à former des liaisons avec les métaux a pu être mise en évidence (Pellerin *et al.*, 1997, Szpunar *et al.*, 1999, Tahiri *et al.*,

2000). Ces RGs-II apparaissent alors sous forme de dimères liés par des esters 1:2 borate-diol (Ischii *et al.*, 1999 ; Carpita & Gibeaut, 1993; O'Neill & York, 2003). La masse molaire des RGs-II est faible (de l'ordre de 5 à 10 kDa). Ces RGs-II auraient comme rôle biologique principal d'apporter une certaine flexibilité à la paroi végétale permettant ainsi des liaisons intermoléculaires avec la cellulose (Jones *et al.*, 2003 ; Zykwinska *et al.*, 2005).

1.4.1.3.2. Méthodes d'extraction des pectines

Compte tenu des nombreuses macromolécules présentes dans la paroi cellulaire végétale, les protocoles d'extraction doivent être suffisamment sélectives pour permettre l'extraction des pectines de manière privilégiée tout en maintenant l'intégrité de la pectine (Thibault *et al.*, 1994 ; Voragen *et al.*, 1995). Dès lors, la technique d'extraction des substances pectiques la plus appropriée s'effectuera en fonction de la nature des pectines mais également des liaisons établies entre les différents polymères pariétaux (Stolle-Smits *et al.*, 1999). Les protocoles mis en place sont généralement fondés sur la différence de solubilité des dérivés pectiques (Vignon *et al.*, 1996). La solubilité des substances pectiques dépend de leur masse moléculaire, de la présence de chaînes latérales, mais aussi et surtout du degré de méthylestérification et de la distribution de ces groupements méthyles (Thibault *et al.*, 1994 ; Voragen *et al.*, 1995 ; Vignon *et al.*, 1996). Ainsi, une extraction à l'eau bouillante à partir d'un matériel végétal permet d'obtenir des pectines HM (Hautement Méthylestérifiées). Par contre, une extraction à l'eau bouillante en présence d'agents séquestrant les ions Ca^{2+} (EDTA, CDTA, l'imidazole, oxalate d'ammonium) permet d'extraire les pectines FM (Faiblement Méthylestérifiées) (Mc Neil *et al.*, 1979 et 1980 ; Redgwell *et al.*, 1992). En effet, ces dernières ont la propriété de se complexer avec les ions Ca^{2+} (formation de gels de type Eggs-box). Pour obtenir les pectines insolubles (acide homopolylgalacturonique), une extraction chimique par un acide à chaud (HCl, 50 mM, 70°C) ou une base à froid (NaOH ; ou Na_2CO_3 , 50 mM, 4 °C) est généralement réalisée (Renard *et al.*, 1990). Dans le cas du traitement acide à chaud, on notera qu'il s'agit d'une méthode relativement douce dans la mesure où, les séquences homogalacturoniques ne sont pas altérées tout comme les liaisons glycosidiques entre le rhamnose et l'acide galacturonique. Par ailleurs, les estérifications (acétyle et méthylester) sont préservées. En revanche dans le cas du traitement alcalin à froid, aucune étude des méthylations ou des acétylations n'est possible, la saponification ne préservant pas les estérifications. Une fois extraite en solution aqueuse (à froid ou à chaud), les pectines sont précipitées et purifiées à l'alcool. Notons, que selon la matière première

végétale utilisée, les pectines extraites peuvent être préalablement dépigmentée sur charbon actif ou sur résine de type C-18 avant la précipitation et la purification alcoolique (Brillouet, 1998). Ces dernières années, les protocoles d'extraction quantitative des pectines ont été optimisés par l'utilisation de prétraitements physiques de la matière végétale par l'utilisation de techniques telles que la pression, la sonication ou l'irradiation aux micro-ondes (Panchev et Kirchev, 1988 ; Wang et Chen, 2007 ; Brat *et al.*, 2002; Kuribayashi, 1992).

Si on s'intéresse plus particulièrement à la famille des cactus, les pectines sont les principaux composants des polysaccharidiques présents à la fois dans les raquettes et les fruits d'*Opuntia ficus-indica* (Meyer *et al.*, 1980 ; Kaur, 2012 ; Matsuhira *et al.*, 2006; Habibi *et al.*, 2005 ; Habibi *et al.*, 2004). A titre d'exemple, Habibi *et al.* (2004) ont développés un procédé d'extractions des polysaccharides pectiques des pelures de fruits d'*Opuntia ficus indica*. Les pectines sont extraites à chaud séquentiellement avec : (i) l'eau, (ii) un agent chélatant du Ca^{2+} et, (iii) de l'acide chlorhydrique. Dans un premier temps, la pelure du fruit d'*Opuntia ficus indica* est soumise à une extraction par l'eau à 60°C pendant deux cycles de 2 heures. Le résidu végétal insoluble est séparé du milieu (filtration et/ou centrifugation), puis l'extrait soluble obtenu est précipité par de l'éthanol et dialysé contre de l'eau distillée avant d'être lyophilisé pour donner une fraction de polysaccharide notée WSP (Water Soluble Polysaccharide). Dans un second temps, le résidu végétal insoluble est traité par une solution d'EDTA 0,7% à 60°C pendant deux cycles de 2 heures. Chaque extraction est suivie d'une filtration et d'un lavage à chaude du résidu végétal insoluble. Les filtrats obtenus sont précipités par de l'éthanol et dialysés contre de l'eau distillée avant d'être lyophilisés pour donner une fraction de polysaccharide notée CSP (Chelating Soluble Polysaccharide). Finalement, le résidu est traité par une solution d'HCl (0,05M), pendant deux cycles d'une heure à 80°C. Le résidu final insoluble est séparé du milieu (filtration et/ou centrifugation), puis l'extrait soluble est précipité par de l'éthanol et dialysé contre de l'eau distillée avant d'être lyophilisé pour donner une fraction de polysaccharide notée ASP (Acide Soluble Polysaccharide).

1.4.1.4. Les arabinogalactanes

Comme leur nom l'indique, les arabinogalactanes (AG) sont des polymères composés de résidus arabinoses et galactoses. On les sépare en 3 classes : AG de type I, AG de type II et les arabinogalactanes associés à des protéines (qualifiés d'AGP et plus rarement d'AG de type III) (Fincher *et al.*, 1983; Varner et Lin, 1989). Les AG de type I sont le plus souvent associés aux pectines et parfois classifiés dans cette catégorie de polysaccharide végétale (Carpita et

Gibeaut, 1993). Les AGP sont un des composants majeurs de nombreuses gommés et exsudats (Delgobo *et al.*, 1998, 1999; Fincher *et al.*, 1983) tels que la gomme arabique et la gomme ghatti ; la gomme arabique étant l'un des premiers AG à avoir été identifié. D'autres AG ont été ensuite décrits dans la littérature chez presque tous les végétaux, certains d'entre eux ayant un haut potentiel de valorisation. Il s'agit par exemple des AG relativement purs (type II) extraits du bois de mélèze et notamment de l'espèce *Larix occidentalis* et *L. laricina* qui peut être obtenu avec un degré de pureté atteignant 98 % (Goellner *et al.*, 2011). Leurs propriétés nutraceutiques comme fibre alimentaire et stimulateur du système immunitaire leur ont valu une autorisation de mise sur le marché par la FDA. Du point de vue de la physiologie de la plante, les AGs sont impliqués dans diverses fonctions telles que la croissance, le développement, la signalisation, l'embryogenèse et la mort cellulaire programmée (Nothnagel *et al.*, 2000; Majewska-Sawka et Nothnagel, 2000). Les AGP ne sont pas à proprement parler des polysaccharides de la paroi végétale mais plus des gommés ou des exsudats (parfois qualifiés de mucilage). Ils sont produits par de nombreux arbres et arbustes, en particulier dans les régions arides et semi-arides, comme un mécanisme de défense naturel. Suite à une lésion de l'écorce de la plante, la gomme liquide est exsudée pour sceller la plaie après séchage permettant la prévention des infections et la déshydratation (Verbeken *et al.*, 2003). La gomme arabique a été largement utilisée par les Egyptiens entre -5000 et -3000 ans avant Jésus Christ et son utilisation en alimentation remonte à l'âge de pierre (Chevalier, 1924). Même si la gomme d'Arabique est très utilisée comme adhésif de nos jours, les applications les plus importantes sont sa mise en œuvre comme agent de texture dans les produits alimentaires y compris les boissons gazeuses. Les solutions de gomme Arabique ont en effet une faible viscosité, même à forte concentration, et une aptitude à former un film protecteur autour des gouttelettes dans une émulsion (Sanchez *et al.*, 2002). Cette propriété lui a valu d'être utilisée pour la stabilisation de condiments, de glaces (contrôles de la croissance des cristaux et prévention de la synérèse), des sodas et de yaourts (maintien de la texture) notamment (Redgwell *et al.*, 2005 ; Pettolino *et al.*, 2006). La gomme Arabique est également utilisée dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques, et en lithographie (Majewska-Sawka et Nothnagel, 2000 ; Phillips, 2009).

D'un point de vue structural, les AG et les AGP sont très complexes (Aspinall, 1982; Whistler, 1970). Les paragraphes suivants décrivent la structure des différentes familles d'AG et d'AGP.

1.4.1.4.1. Les arabinogalactanes de type I

Les arabinogalactanes de type I sont souvent associés aux RG-I des pectines (Carpita et McCann, 2000; Voragen *et al.*, 2009). La structure de base est constituée de chaînes linéaires d'unités D-galactopyranoses liées en β -(1,4), sur lesquelles peuvent être substituées en position O-3 des unités D-galactopyranoses et/ou des unités L-arabinofuranoses (Carpita et Gibeaut, 1993) (**Figure 13**).

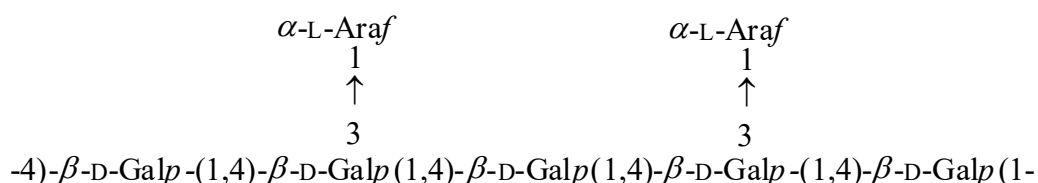


Figure 13 : Structure d'un arabinogalactane de type I (Mohnen, 2008)

Cette structure de base peut cependant fortement évoluée avec la présence de nombreux autres monosaccharides neutres ou acides et de chaînes latérales oligosaccharidiques sur le squelette galactane. Les sources d'AG de type I, leurs compositions en monosaccharides et leurs masses molaires sont présentées dans le **Tableau 4**. Comme indiqué dans ce tableau, les AG hydrosolubles sont bien représentés dans de nombreux tissus végétaux tels que les feuilles, les tiges, les racines, les fruits et les gommés. On les trouve également chez de nombreuses espèces végétales assez éloignées d'un point de vue taxonomique. Dans la majorité des cas, le galactose et l'arabinose sont les monosaccharides les plus représentés au sein de leurs structures même si d'autres monosaccharides tels que le glucose ou des acides uroniques sont présents à des taux très significatifs. Aucune association avec des protéines n'a été rapportée pour ce groupe de polysaccharide (Clarke, 1979). Ces compositions assez hétérogènes en monosaccharides ont parfois été attribuées à des contaminations par d'autres polysaccharides durant les extractions et les purifications des AG de type I. A titre d'exemple, l'analyse par GC-MS de la composition de l'AG de type I extrait d'*Astragalus gummifer* a montré après hydrolyse acide et dérivatisation en acétates d'alditols la présence de Fuc, Ara, Xyl, Man, Gal, et Glc dans un ratio molaire de 3:52:29:6:5:5. Cette composition surprenante pour un AG de type I a pu être expliquée par une contamination par de l'acide tragacanthique, riche en fucose et xylose, au moment de l'extraction (Tischer *et al.*, 2002).

Les AG de type I sont bien représentés dans la famille des Cactaceae. Ainsi, l'écorce des figues de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*) est constituée d'une chaîne principale de β -(1,4)-D-

galactane fortement ramifiée en position C-3 par des résidus arabinofuranoses. La caractérisation fine de ce polysaccharide a en effet montré que 39,5 % des unités galactoses de la chaîne principale sont ramifiées par des résidus arabinofuranoses ou α -(1,5)-L-arabinanes liés en position C-3 (Habibi *et al.*, 2004). En 1974, Srivastava et Pande avaient identifiés un AG de type I de structure similaire à partir du mucilage des tiges d'*Opuntia dillenii*. Cette structure des AG de type I de mucilages extraits d'*Opuntia* ne fait cependant pas totalement l'unanimité, de nombreux auteurs ayant identifiés d'autres oses ou acides uroniques dans ces AGs (Saenz *et al.*, 2004). Une fois encore la contamination par d'autres polysaccharides de parois est fortement suspectée.

Concernant le genre *Cereus*, un AG de type I a pu être isolé à partir de la gomme exsudative de *Cereus peruvianus*. L'analyse monosaccharidique après méthylation et hydrolyse acide indique que le polysaccharide est composé d'une chaîne principale de β -(1,4)-D-Galp, substitué en position C-3 par des résidus L-arabinoses et D-galactoses (Tanaka *et al.*, 2010). Des taux significatifs d'autres monosaccharides ont également pu être identifiés avec un rapport molaire arabinose, galactose, acide galacturonique, rhamnose de 15:66:6:13. La masse molaire de ce polymère a été évaluée à 9×10^5 g/mol.

Tableau 4 : Origine, composition et masses moléculaire des Arabinogalactanes de type I

Sources	Monosaccharides (%)								Mw (g/mol)	Références
	Gal	Ara	Glc	AU	Man	Rha	Xyl	Fuc		
<i>Astragalus gummifer</i> (Gomme adragante)	5	52	5	-	6	-	29	3	-	Tischer <i>et al.</i> , 2002
<i>Cereus peruvinus</i> (gomme exsudative)	66	15	-	6	-	13	-	-	9×10 ⁵	Tanaka <i>et al.</i> , 2010
<i>Glinus oppositifolius</i> (Parties aériennes)	2,9	26,4	3,5	12,1	4,3	4,2	3,9	-	7×10 ⁴	Inngjerdingen <i>et al.</i> , 2005
<i>Opuntia ficus-indica</i> (fruits)	8,4	12,3	29,3	35,6	1,6	3,3	4,5	-	8,5×10 ⁴	Habibi <i>et al.</i> , 2004
<i>Opuntia dillenii</i> (gousses)	75	25	-	-	-	-	-	-	-	Srivastava et Pande, 1974
<i>Phoenix dactylifera</i>	25,4	45,8	-	2,2	-	17,9	8,9	-	-	Amin et Kandeel, 1972
<i>Solanum tuberosum</i> (tubercule)	94	6	-	-	-	-	-	-	-	Wood et Siddiqui, 1972
<i>Solanum betaceum</i> (fruits)	7,9	31,1	42,6	-	-	-	-	-	7×10 ⁶	Do Nascimento <i>et al.</i> , 2015
Farine de soja	52	41	-	4	-	3	-	-	1,24×10 ⁵	Cipriani <i>et al.</i> , 2009
Soja okara	49,73	12,32	6,54	18,23	Traces	traces	6,5	traces	3,2×10 ⁴	Yamaguchi <i>et al.</i> , 1995
<i>Lupinus luteus</i> (graines)	40	26,6	-	20	-	6,6	6,6	-	-	Tomoda et Kitamura, 1967

1.4.1.4.2. Les arabinogalactanes de type II et les AGP

Les arabinogalactanes de type II sont les plus répandus dans la nature (Liang *et al.*, 2014). Ils sont constitués d'une chaîne principale de résidus galactopyranoses liés en β -(1,3) et/ou β -(1,6) sur laquelle peuvent se greffer des chaînes latérales riches en groupements arabinofuranoses, arabinopyranoses et galactopyranoses (**Figure 14**).

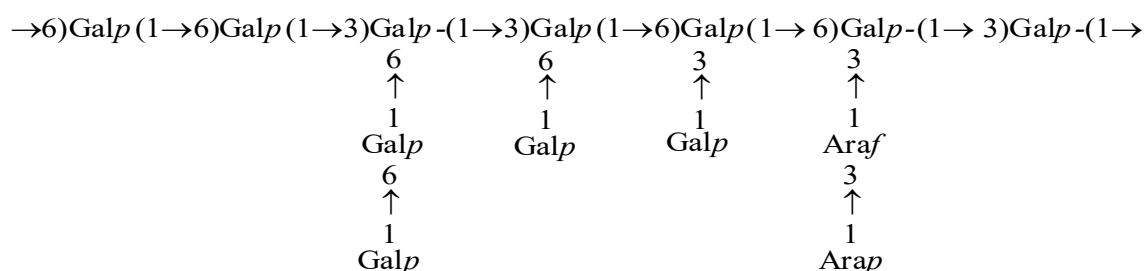


Figure 14 : Structure d'un arabinogalactane de type II de mélèze (*Larix laricina*) (Haq et Adams, 1961)

Cette structure parfois qualifiée d'arabino-3,6-galactane est également rencontrée chez les AGP et est soumise à une variabilité structurale assez importante en fonction des espèces végétales (Arifkhodzhaev, 2000). Les AGPs sont une classe de protéoglycanes de plantes contenant 90 à 99 % polysaccharides et de 1 à 10 % de protéines (Ling *et al.*, 2012). La complexité structurale des AG de type II et des AGP est principalement due à la ramification de la chaîne de galactane principale en O-3 et O-6 par des oligomères linéaires ou eux-mêmes ramifiés de β -(1,6), β -(1,3), β -(1,4)-D-galactopyranoses et/ou de α -(1,3), α -(1,5)-L-arabinofuranoses. A noter que des monomères de résidus L-arabinofuranoses peuvent également substituer la chaîne principale. Les chaînes secondaires portent souvent comme résidus terminaux du α -L-arabinofuranose, du rhamnopyranose, du fucopyranose ou de l'acide glucuronique 4-O méthylé ou non (Gaspar *et al.*, 2001 ; Voragen *et al.*, 2009). D'autres chaînes latérales composées de D-Manp, D-Xylp, et D-Glcp sont également décrites (Fincher *et al.*, 1983).

Notons que selon de nombreux auteurs, la présence d'arabinose sous forme pyranosidique semble être une caractéristique typique des arabinogalactanes de type II (Capek, 2008; Goellner *et al.*, 2011; Odonmazig *et al.*, 1994; Oliveira *et al.*, 2013; Ponder et Richards, 1997 ; Willför *et al.*, 2002) (**Tableau 5**). Des quantités élevées d'unités arabinose ont été observées dans les AG-II de nombreuses parties de plantes comme les feuilles de *Stevia rebaudiana* (Oliveira *et al.*, 2013), les feuilles de *Nerium indicum* (Dong et Fang, 2001) ou

encore dans les racines de *Herba Asari* (Li *et al.*, 2012) et les baies de *Viscum album* (Wagner et Jordan, 1988).

De manière générale, la complexité structurale augmente avec les AGP comparé aux AG de type II. En effet, les AGP constituent l'une des familles de macromolécules les plus complexes présentes chez les végétaux. Cette complexité provient de la diversité des squelettes protéiques qui vient s'additionner à celle de la partie *O*-glycanes. Les AGP qui sont des glycoprotéines glycosylées riches en hydroxyprolines sont actuellement divisés en deux classes en fonction de leur partie protéique: (i) les AGP qualifiés de "classique" et, (ii) les AGP qualifiés de "non classiques" (Mau *et al.*, 1995 ; Du *et al.*, 1996). Les AGP classiques sont définis par un squelette protéique contenant de l'hydroxyproline (Hyp), de l'alanine (Ala), de la sérine (Ser), de la thréonine (Thr) et de la glycine (Gly). Les AGP non classiques présentent des compositions particulières en acides aminés et notamment pauvres en Hyp et riches en cystéine (Cys) et en asparagine (Asn) (Mau *et al.*, 1995 ; Du *et al.*, 1996 ; Baldwin *et al.*, 1993; Hillestad *et al.*, 1977; Mollard *et al.*, 1994). Il est à noter que les AGP sont présents dans tout le règne végétal, aussi bien chez les angiospermes, les gymnospermes que chez les plantes inférieures (bryophytes et algues) (Fincher *et al.*, 1983; Nothnagel, 1997). De par leur composition chimique, les AGP sont comparés aux mucines et aux protéoglycanes (GAG) animaux (Bacic *et al.*, 2000).

De nombreuses études se sont focalisées sur la caractérisation de la partie polysaccharidique des AGPs de diverses plantes et gommages végétales telles que *Arabidopsis* (Sun *et al.*, 2005), la gomme Arabique (GA) (Osman *et al.*, 1993; Tischer *et al.*, 2002a), la gomme adragante (Tischer *et al.*, 2002b), le bois de mélèze (Ponder et Richards, 1997), la pomme (Brillouet *et al.*, 1996), le raisin (Saulnier *et al.*, 1992), le radis (Tsumuraya *et al.*, 1987; Tsumuraya *et al.*, 1988) et l'ivraie (Bacic *et al.*, 1987; Tischer *et al.*, 2002b). Les AGPs sont considérés comme ayant des fonctions biologiques diverses. Ils sont impliqués dans la croissance et le développement des plantes, la signalisation cellulaire, l'embryogenèse et la mort cellulaire programmée (Majewska-Sawka et Nothnagel, 2000). Lorsque l'écorce de la plante est blessée, une solution aqueuse de gomme est exsudée pour sceller la plaie et prévenir des infections et de la déshydratation. Cette propriété est à la base des procédés de récolte de diverses gommages exsudatives à base d'AGP telles que la gomme Arabique (Sanchez *et al.*, 2008).

La gomme Arabique est l'un des polysaccharides qui a été le plus étudié dans la littérature. Cette gomme exsudée à partir de tiges et de branches des espèces *senegal* et *seyal* du genre *Acacia* est une fibre soluble et non visqueuse très utilisée en industries alimentaires (Dauqan et Abdullah, 2013; Al-Assaf *et al.*, 2009; Sakai *et al.*, 2012) Cet AGP est de structure

extrêmement complexe qui n'est toujours pas totalement élucidée à ce jour. La gomme Arabique est un biopolymère partiellement anionique et fortement associé à certains cations tels que Ca^{2+} , Mg^{2+} et K^+ . Le squelette polysaccharidique est celui d'un AG de type II. Il est constitué d'une chaîne principale de β -(1,3)-D-galactane ramifiée en position O-6 par de courtes chaînes (2 à 5 résidus) de β -(1,3)-D-galactanes. La chaîne principale et les chaînes ramifiées de β -(1,3)-D-galactanes sont substitués par de nombreux résidus monosaccharidiques tels que du α -L-arabinofuranose, du α -L-rhamnopyranose, du β -D-glucuronopyranose et du 4-O-méthyl- β -D-glucuronopyranose. Ces deux derniers résidus se trouvent en position terminale des chaînes latérales (Sanchez *et al.*, 2008; Anderson et Stoddart, 1966). La composition de la gomme Arabique varie fortement en fonction de la source végétale, de l'âge de la plante, de l'environnement et des conditions climatiques (Verbeken *et al.*, 2003). La gomme Arabique a pu être séparée en 3 fractions par des méthodes chromatographiques. La fraction principale est un AG contenant très peu de protéines et ayant une masse moléculaire proche de $3,8 \times 10^5$ g/mol. Les deux autres fractions sont un AGP contenant 10 % de protéines et présentant une masse molaire de près de $1,45 \times 10^6$ g/mol. Enfin, la troisième fraction qui ne représente qu'une très faible partie de la gomme (de l'ordre de 1,2 %) est une glycoprotéine de faible masse molaire ($2,5 \times 10^5$ g/mol) au niveau de laquelle la partie protéique riche en acide aspartique représente 42 %. Les fractions protéiques de l'AG et de l'AGP sont pour leur part riche en L- hydroxyproline (Hyd), L-serine (Ser) et proline (Pro) (Ray *et al.*, 1995; Randall *et al.*, 1989; Islam *et al.*, 1997). Il existe beaucoup d'exsudats végétaux (**Tableau 6**), autres que les gommages arabiques issues des genres *Acacia* (Redgwell *et al.*, 2005). La gomme ghatti a une composition en monosaccharides incluant principalement de l'arabinose et du galactose et dans une moindre mesure du rhamnose, du xylose, du mannose, du glucose et des acides uroniques. Comme tous les AGP, ce polysaccharide est associé avec des protéines en quantité inférieure à 5 % (Ghosh *et al.*, 2015, Kang *et al.*, 2011). De même, *Anacardium occidentale* produit une gomme principalement constituée de galactose (73 %) et dans une moindre mesure d'arabinose (5 %). Comme la gomme ghatti, cette gomme contient d'autres monosaccharides en quantités mineures tels que le rhamnose, le glucose, le mannose et l'acide glucuronique. Les autres gommages telles que la gomme exsudative de *Spondias dulcis* (Martinez *et al.*, 2003), l'exsudat des mangues (Nagel *et al.*, 2015) et l'exsudat de fruits de *Bromelia hieronymi* (Bongiorno de Pfrirter *et al.*, 1973) contiennent également des AGs de type II.

Tableau 5 : Origine, composition et masses moléculaires des AG de type II et des AGP

Sources	Monosaccharides (%)							Mw (g/mol)	Références
	Gal	Ara	Glc	AU	Man	Rha	Xyl		
<i>Brassica campestris</i> (rape)	48	46	6	-	-	-	-	-	Siddiqui et Wood, 1972
<i>Brassica nopus</i> (rape)	10	90	-	-	-	-	-	-	Larm <i>et al.</i> , 1975
<i>Coffea arabica</i> (graines)	48,2	19,8	-	-	0,8	1,1	-	1,1×10 ⁴	Navarini <i>et al.</i> , 1999
<i>Glycine max</i> (graines de soja)	66	34	-	-	-	-	-	3,3×10 ⁵	Morita, 1965 ; Kikuchi, 1972
<i>Jatropha curcas L.</i> (graines)	-	-	-	3,4	4,0	-	3,5	1,4×10 ⁵	Janina <i>et al.</i> , 2010
<i>Triticum aesticum</i>	58,4	40,8	-	-	-	-	0,8	-	Neukom et Markwalder, 1975
<i>Acacia senegal</i> (gomme arabique)	40	36,7	-	16,1	-	-	-	3,8×10 ⁶	Redgwell <i>et al.</i> , 2005
<i>Anoectochilus formosanus</i>	56,5	22,4	5,4	-	5,4	-	-	2,9×10 ⁴	Lai <i>et al.</i> , 2015

Tableau 5 (suite) : Origine, composition et masses moléculaires des AG de type II et des AGP

Sources	Monosaccharides (%)							Mw (g/mol)	Références
	Gal	Ara	Glc	AU	Man	Rha	Xyl		
<i>Araucaria angustifolia</i>	55	37	-	5	-	3	-	$1,2 \times 10^5$	Maurer <i>et al.</i> , 2010
<i>Cannabis sativa</i> (feuilles)	28,3	42,5	25,6	-	3,6	-	-	$0,2 \times 10^5$	Hillstead <i>et al.</i> , 1977
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	58,8	38,4	2,8	-	-	-	-	$1,7 \times 10^5$	Liang <i>et al.</i> , 2014
<i>Centella asiatica</i> (feuilles)	1,9	1,0	-	0,3	-	0,3	0,2	$5,4 \times 10^5$	Wang <i>et al.</i> , 2005
<i>Cistanche deserticola</i> (tiges)	1,8	3,5	0,9	-	traces	traces	-	$6,8 \times 10^4$	Wu <i>et al.</i> , 2012
<i>Echinacea purpurea</i> (jus)	59,1	33,2	-	-	2,6	1,1	-	$1,2 \times 10^6$	Classen <i>et al.</i> , 2000
<i>Endopleura uchi</i> (écorce)	16,3	6,8	34,0	14,2	5,2	21,0	2,5	$1,1 \times 10^5$	Bento <i>et al.</i> , 2014
<i>Glinus oppositifolius</i> (parties aériennes)	9,7	5,5	3,3	68,3	0,6	10,3	0,5	7×10^4	Wu <i>et al.</i> , 2005

Tableau 5 (suite) : Origine, composition et masses moléculaires des AG de type II et des AGP

Sources	Monosaccharides (%)							Mw (g/mol)	Références
	Gal	Ara	Glc	AU	Man	Rha	Xyl		
<i>Isatis indigotica</i>	1,5	1,0	-	-	-	-	-	6,6×10 ⁴	Shan <i>et al.</i> , 2015
<i>Lycium barbarum</i> (Fruit)	44,3	42,9	-	9,4	-	3,3	0,3	0,4-1×10 ⁶	Redgwella <i>et al.</i> , 2011
<i>Larix laricina</i> (Bois)	80,5	15,2	0,7	-	3,1	-	0,5	38×10 ³	Goellner <i>et al.</i> , 2011
<i>Larix dahurica</i> L	85,9	12,5	-	-	-	0,2	1,2	1,6×10 ⁴	Odonmaig <i>et al.</i> , 1994
<i>Lycium ruthenicum</i> (fruit)	10,4	14,9	-	-	-	1,0	-	1,3×10 ⁴	Peng <i>et al.</i> , 2016
<i>Nicotiana alata</i>	12,9	8,2	59	-	3,3	11	1,9	1,4×10 ⁵	Gane <i>et al.</i> , 1995
<i>Oryza sativa</i>	44,8	10	29,8	-	9,3	-	6,1	7,7×10 ⁴	Yang <i>et al.</i> , 2015
<i>Pereskia aculeata</i> (feuilles)	5,4	8,3	1,8	-	-	-	-	-	Merce <i>et al.</i> , 2011

Tableau 5 (suite) : Origine, composition et masses moléculaires des AG de type II et des AGP

Sources	Monosaccharides (%)							Mw (g/mol)	Références
	Gal	Ara	Glc	AU	Man	Rha	Xyl		
<i>Stevia rebaudiana</i> (feuilles)	20	38	-	37	-	5	-	1,1×10 ⁴	Oliveira <i>et al.</i> , 2013
<i>Silybum marianum</i> (Suspension cellulaire)	10,8	6,6	61,3	-	-	8,3	12,8	10×10 ⁴	Sanchez <i>et al.</i> , 2008

Tableau 6 : Origine, composition et masses moléculaires des AG-II et AGP des autres gommex exsudatives

Sources	Monosaccharides (%)							Mw (g/mol)	Références
	Gal	Ara	Glc	UA	Man	Rha	Xyl		
<i>Anogeissus latifolia</i> (gomme ghatti)	16,4	49,7	8,5	2,1	2,2	2,1	3,7	-	Kang <i>et al.</i> , 2011
<i>Anacardium occidentale</i>	73	5	11	6,3	1	4	-	1,6×10 ⁴	De Paula et Rodrigues, 1995
<i>Bromelia hieronymi</i> (exsudat de fruit)	22	41,5	-	5,5	-	-	31	-	Bongiorno de Pfirter <i>et al.</i> , 1973
<i>Cirrus limonio</i>	36	33	-	7	-	5	-	20×10 ⁵	Stoddart et Jones, 1968
<i>Combretum flartmonnium</i>	22	43	-	5,13	10	4	6	6,4×10 ⁵	Anderson et Bell, 1976.
Mango peel (mangue exsudat)	2,8	3,8	1,6	-	-	-	-	2,2×10 ⁴	Nagel <i>et al.</i> , 2015
<i>Odina wodie</i>	28,6	50	-	20	-	1,4	-	-	Gupta et Mukherjee, 1973
<i>Panax notoginseng</i>	43,7	56,3	-	-	-	-	-	2,1×10 ⁴	Wang <i>et al.</i> , 2015
<i>Spondias dulcis</i> (gomme exsudative)	50	12	-	-	6	17	1	-	Martinez <i>et al.</i> , 2003

1.4.1.4.3. Les enzymes qui dégradent les AG

Les galactanases sont impliquées dans la dégradation des polysaccharides des plantes en général et des pectines en particulier. Elles comprennent des endoenzymes, des exoenzymes et des osidases. Cet ensemble d'enzymes hydrolyse les liaisons impliquant les résidus galactoses au sein des galactanes linéaires ou d'arabinogalactanes de type I et II (Véronique, 2007). On distingue ainsi différentes galactanases :

- Les **endo β -D-galactanases (E.C.3.2.1.89)** qui hydrolysent généralement les liaisons β -(1,4) entre deux résidus de galactose et libèrent du galactose et/ou des oligagalactanes de DP inférieur ou égal à 4 (Nakano *et al.*, 1990 ; Brillouet *et al.*, 1991) ;
- Les **exo β -D-galactanases (EC 3.2.1.145)** sont spécifiques des liaisons β -(1,4) ou β -(1,3) et sont d'origine bactérienne (Pellerin et Brillouet, 1994). Le produit d'hydrolyse est composé principalement de galactane lié en O-3 et en (3,6) (Pellerin et Brillouet, 1994) ;
- Les **endo-(1,6)- β -D-galactanases (EC 3.2.1.164)** qui hydrolysent spécifiquement les β -(1,6)-D-galactooligosaccharides possédant un DP supérieur à 3 (Okemoto *et al.*, 2003) ;
- Les **β -D-galactosidases (E.C.3.2.1.23)** hydrolysent les liaisons β -(1,4) des AG de type I de faible masse moléculaire et libèrent les résidus galactose terminaux non réducteurs présents au sein des galactanes (Sekimata *et al.*, 1989).

Les propriétés biochimiques et physico-chimiques de quelques enzymes de clivage spécifiques des arabinogalactanes sont présentées dans le **Tableau 7**.

Tableau 7: Propriétés biochimiques et physico-chimiques de quelques enzymes de clivage spécifique des arabinogalactanes

Sources des enzymes	Masse moléculaire (kDa)	pI	Activité spécifique (U/mg)	T _{optimale} (°C)	pH _{optimal}	Fournisseur
Endo- β -(1,4)-galactanase (<i>Clostridium thermocellum</i>)	44,6	5,9	33	60	4,5	Megazyme International Ireland
Endo-(1,4)- β -galactanase (<i>Aspergillus niger</i>)	48	-	400	50	4,0-4,5	Megazyme International Ireland
Endo-(1,4)- β -galactanase (<i>Cellvibrio japonicus</i>)	41,1	6,2	102	40	6,0-8,0	Megazyme International Ireland
Endo-(1,6)- β -D-galactanase (<i>Aspergillus niger</i>)	-	-	-	-	-	-
Endo-(1,6)- β -D-galactanase (<i>Trichoderma viride</i>)	-	-	-	-	-	-
exo- β -(1,3)-galactanase (<i>Bifidobacterium longum</i>)	-	-	-	-	-	-
exo- β -(1,3)-galactanase (<i>Clostridium thermocellum</i>)	-	-	-	-	-	-
exo- β -(1,3)-galactanase (<i>Aspergillus niger</i>)	-	-	200	60	4,5	Megazyme International Ireland

1.5. DEGRADATION DES POLYSACCHARIDES

La méthodologie d'analyse d'un polysaccharide repose sur l'obtention d'unités oligosaccharidiques plus faciles à caractériser par les techniques de RMN et de spectrométrie de masse. Cependant, dans le cas des polysaccharides contenant des acides uroniques, la stabilité de la liaison uronosidyle rend souvent délicate l'application des méthodes classiquement utilisées en chimie des sucres. Les liaisons qui engagent un ou plusieurs acides hexuroniques peuvent néanmoins constituer une zone de rupture privilégiée. Cette propriété est souvent mise à profit pour le développement de méthodes spécifiques applicables aux polysaccharides natifs contenant des acides uroniques. Les méthodes les plus efficaces demeurent toutefois celles qui font appel aux enzymes spécifiques qui vont permettre l'obtention d'unités de répétitions plus facilement analysables (Brudieux, 2007).

1.5.1. Hydrolyse chimique

1.5.1.1. Hydrolyse acide ménagée

Cette méthode basée sur la résistance différentielle des liaisons glycosidiques permet en théorie de libérer des fragments oligosaccharidiques de masses molaires variables. Le mécanisme général comprend 3 étapes successives (**Figure 15**). En milieu acide, l'oxygène anomère est protoné. Il s'en suit la décomposition de l'acide conjugué en ion oxonium, stabilisé par résonance sous la forme conformationnelle de demi-chaise. L'extrémité réductrice est enfin régénérée par addition d'eau.

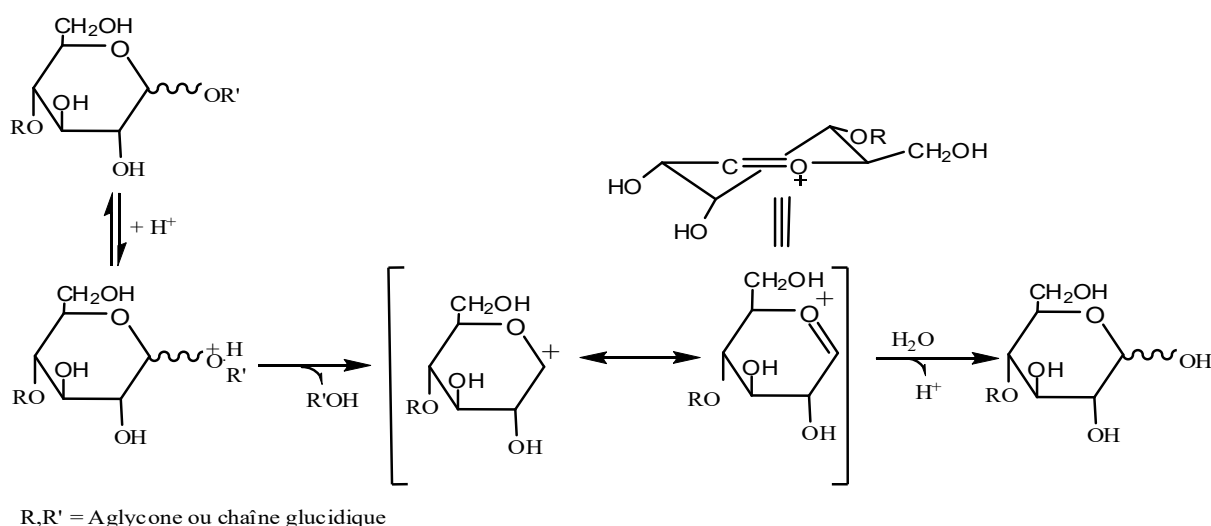


Figure 15 : Mécanisme général de l'hydrolyse acide des glycosides (Bemiller, 1967)

Dans le cas des polysaccharides acidocarboxylés, la stabilité chimique des liaisons impliquant les acides uroniques confère aux polymères une certaine résistance aux acides forts, y compris à température élevée. On observe alors une cinétique relativement faible dans le cas de l'hydrolyse d'un polymère engageant des liaisons uronosidyles. La stabilité de ces liaisons à l'hydrolyse acide s'explique par les effets inducteurs et conformationnels du groupement carboxyle en C-5 (**Figure 16**) (Timell *et al.*, 1965). Les électrons du doublet de l'oxygène du cycle forment une liaison hydrogène avec le proton carboxylique diminuant la capacité du doublet de l'oxygène à se délocaliser sur la liaison O-C1 par effet mésomère. L'état de transition est, dans ce cas, peu favorisé.

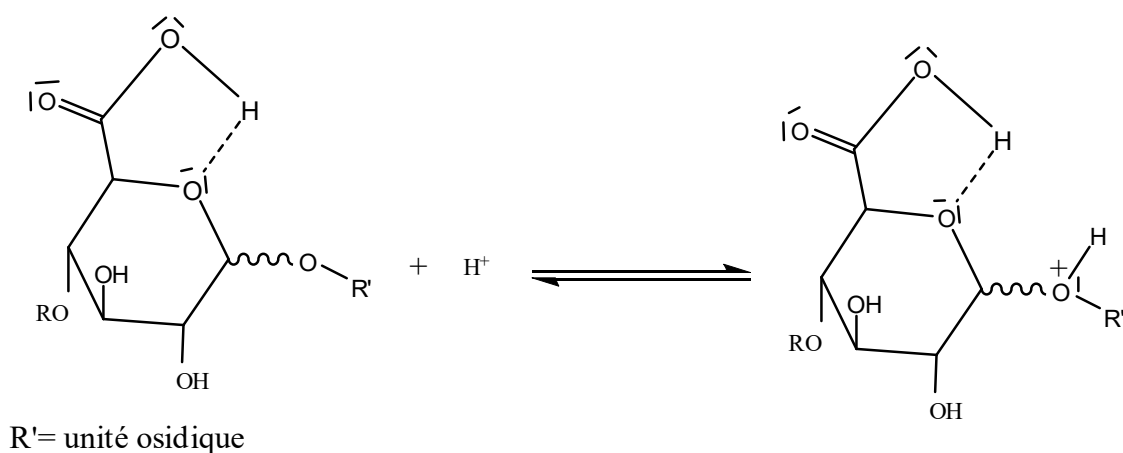


Figure 16 : Stabilité de la liaison uronosidyle à l'hydrolyse acide (Timell *et al.*, 1965)

1.5.1.2. Autohydrolyse

L'autohydrolyse des polysaccharides est une méthode de dégradation extrêmement douce qui suit le même mécanisme qu'une hydrolyse acide. L'acidité est ici apportée par les fonctions carboxyles et/ou sulfates du polysaccharide. Rapportée par Hirst et Jones en 1938 pour l'analyse de gommages végétales, l'autohydrolyse a ensuite largement été employée lors de l'étude des phycocolloïdes et des polysaccharides sulfatés. La sensibilité et la sélectivité du polymère à l'autohydrolyse sont directement dépendantes de la nature des liaisons glycosidiques et de la répartition des charges sur le polysaccharide. Des études relatives au mécanisme de l'autohydrolyse indiquent des différences majeures entre le rôle des sulfates et des groupements carboxyles sur la sélectivité de la réaction. En effet, les groupements sulfatés se dissocient totalement pour des valeurs de $\text{pH} < 7$ contrairement aux groupements carboxyliques qui s'ionisent en deçà de $\text{pH} 5$. De plus, les groupements carboxyliques sont stables en milieu acide à température ambiante; les acides uroniques ne se décomposant qu'après une période de chauffage prolongée, alors que les groupements sulfates sont

rapidement hydrolysés et convertis en acide sulfurique. Ciancia et Cerezo (1993) ont montré une certaine sélectivité de l'autohydrolyse. Contrairement à l'acidité apportée par les sulfates qui n'est pas localisée en un point précis du polymère, la fonction carboxyle catalyse la réaction d'hydrolyse au niveau des liaisons (1,4) précédant un acide uronique (**Figure 17**).

Très facile à mettre en œuvre, l'autohydrolyse nécessite au préalable la mise sous forme acide des polysaccharides par simple passage sur résines acides échangeuses d'ions. Les protocoles se déroulent ensuite dans des conditions de température et de pression variables qui sont directement dépendantes de la résistance des polysaccharides à l'hydrolyse.

Classiquement, les conditions retenues vont de la température ambiante sous pression atmosphérique jusqu'à des températures de 190°C à 13 bars dans le cas du vapocraquage du bois (Brudieux, 2003). Une telle méthode conduit à la libération d'oligosaccharides de DP variables. Enfin, en raison de son caractère non agressif, l'autohydrolyse protège les substitutions non carbonées des polysaccharides. Elle limite par exemple les phénomènes de désulfatation des phycocolloïdes ou dé-acétylation des xylanes ce qui, du point de vue de l'analyse structurale, apporte des renseignements précieux.

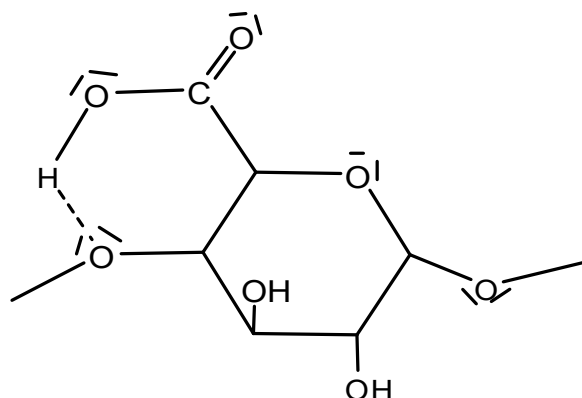


Figure 17 : Catalyse intramoléculaire d'une liaison (1,4) par un groupement carboxyle précédant un acide uronique (Ciancia et Cerezo, 1993)

1.5.2. Hydrolyse enzymatique

La structure des parois végétales étant très hétérogène et complexe, leur dégradation nécessite une grande diversité d'enzymes. La dégradation complète des parois végétales en sucres simples nécessite différents types d'enzymes (Mirande, 2009). Parallèlement à la classification EC des glycoside-hydrolases (GH), réalisée en fonction de la spécificité du substrat et du type de réaction catalysée, les domaines catalytiques des glycoside-hydrolases sont classés en familles selon leur homologie de séquences en acides aminés (Henrissat et Bairoch, 1993).

Les modes d'action :

Les glycoside-hydrolases fonctionnent selon deux mécanismes de type acide/base, entraînant une rétention ou une inversion de la configuration du carbone anomère du site d'hydrolyse. Le mécanisme d'inversion se déroule en une seule étape (substitution nucléophile) qui implique la participation d'un acide ou d'une base dans la catalyse avec l'attaque d'une molécule nucléophile, l'eau (Mirande, 2009). Le mécanisme de rétention se déroule en 2 étapes selon un mécanisme de double-déplacement permettant la formation d'un intermédiaire glycoside-enzyme qui est ensuite hydrolysé par l'ion oxocarbonium (Davies et Henrissat, 2002). La réaction se poursuit par la formation d'un groupe hydroxyle à partir d'une molécule d'eau sur le carbonium et d'un proton sur le nucléophile. Ce 2ème mécanisme est majoritaire chez les xylanases et les cellulases (Tomme *et al.*, 1995).

Malgré la grande diversité des familles de GH, la topologie de leur site actif peut être classée en trois catégories selon leur forme (sillon, tunnel ou poche). La topologie du site actif reflète le mode d'action d'une enzyme. Au sein d'une même famille de GH, des enzymes peuvent avoir des sites actifs avec des géométries différentes et donc des modes d'action différents (Davies et Henrissat, 1995). La relation entre la topologie du site actif et le mode d'action des enzymes a été particulièrement étudiée.

La relation entre la topologie du site actif et le mode d'action des enzymes a été particulièrement étudiée dans le cas des cellulases :

- le type «*endo*»

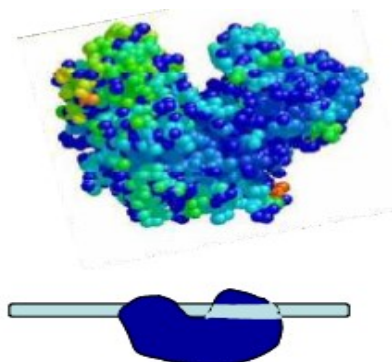
Ces enzymes hydrolysent de façon aléatoire des liaisons à l'intérieur des chaînes polysaccharidiques, générateur de nouvelles chaînes plus courtes et libéral ainsi de nouvelles extrémités. Le site actif de ces enzymes possède une topologie ouverte plusieurs résidus glucidiques. Une chaîne se positionne dans le sillon du site actif et la liaison Glycosidique est ensuite clivée (**Figure 18**).

- le type «*exo*»

Cette théorie est destinée aux enzymes qui évoluent le long de la chaîne glucidique. Ces enzymes hydrolysent de façon progressive les chaînes à partir d'une extrémité, libérant ainsi des mono ou disaccharides (Davies & Henrissat, 1995). On parle alors de mode d'action de type «*exo*», ce mécanisme est dit processif. Enfin, certaines enzymes sont capables d'ouvrir leur site temporairement actif pour attaquer de façon «*endo*» une liaison glycosidique à

l'intérieur d'une chaîne, puis de dégrader cette dernière, à partir des extrémités qui vient de générer. Ces enzymes sont appelées endoprocessives.

Site actif en forme de sillon
Mode d'action de type « Endo »



Site actif en forme de tunnel
Mode d'action de type « Exo »

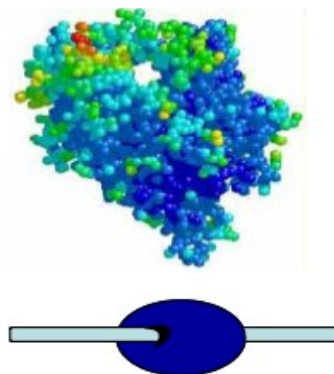


Figure 18 : Représentation de cellulases de type « endo » et « exo »

Les modes d'action

Les glycoside-hydrolases fonctionnent selon deux mécanismes de type acide/base, entraînant une rétention ou une inversion de configuration du carbone anomérique du site d'hydrolyse. Le mécanisme d'inversion se déroule en une seule étape (substitution nucléophile) qui implique la participation d'un acide ou d'une base dans la catalyse avec l'attaque d'une molécule nucléophile, l'eau. Le mécanisme de rétention se déroule en 2 étapes selon un mécanisme de double-déplacement permettant la formation d'un glycoside-enzyme intermédiaire qui est ensuite hydrolysé par l'ion oxocarbone. **(Figure 19)** (Davies & Henrissat, 2002). La réaction se poursuit par la formation d'un groupe hydroxyle à partir d'une molécule d'eau sur le carbonium et d'un proton sur le nucléophile.

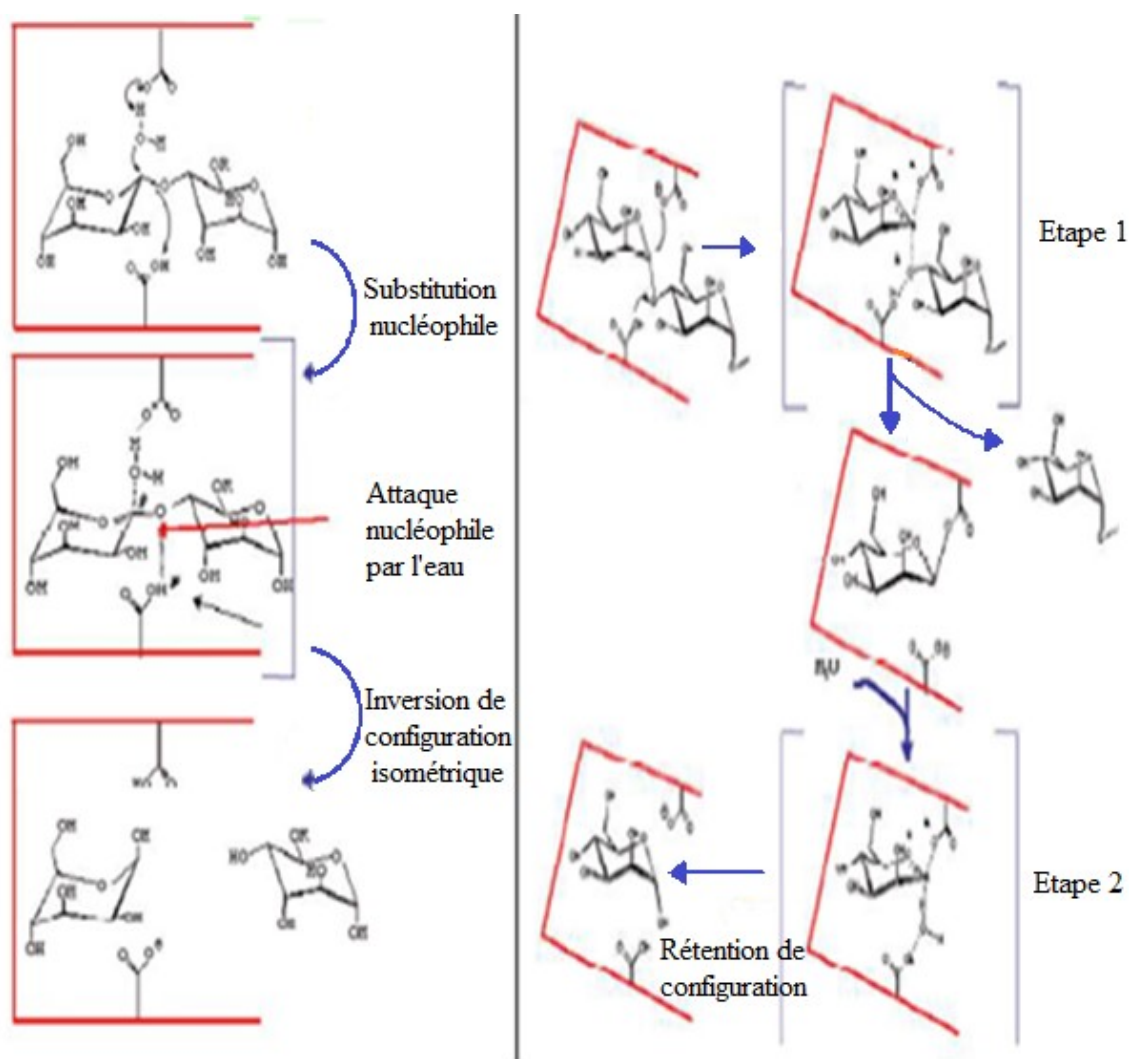


Figure 19 : Mécanismes d'inversion et de rétention de configuration obtenus lors de l'hydrolyse des polysides par les GH.

Plusieurs types d'enzymes, spécifiques des nombreux substrats présents dans les fibres, interviennent donc dans la dégradation des parois végétales. L'ensemble de ces enzymes est résumé dans le **Tableau 8**.

Tableau 8 : Enzymes intervenant dans la dégradation des parois végétales

Enzymes	Substrats	Liaisons clivées	Produits d'hydrolyse
Endo- β -(1,4)-glucanase	Cellulose	β -(1,4)-glucose	Cellooligomères
Exo- β -(1,4)-glucanase	Cellulose	β -(1,4)-glucose	Cellobiose
Cellodextrinase	Cellulo-oligomères	β -(1,4)-glucose	Cellobiose et cellotriose
Cellobiase	Cellobiose	β -(1,4)-glucose	Glucose
Endo- β -(1,4)-xylanases	Xylane	β -(1,4)-xylose	Xylooligomères
Exo- β -(1,4)-xylanases	Xylane	β -(1,4)-xylose	Xylobiose
β -(1,4)-xylosidase	Xylobiose	β -(1,4)-xylose	Xylose
α -L-arabinofuranosidase	Arabinoxylane	α -(1,3)-xylose	Arabinoxylane et arabinose
α -glucuronidase	Glucuronoxylane	α -(1,3) ou (1,2) acide glucuronique	Glucuronoxylane et acide glucuronique
<i>O</i> -acétyl xylane estérase	Acétyl xylane	Acétyl ester	Acétyl xylane et acétate
Acide férulique estérase	Ac férulique lié aux résidus arabinose	Féruloyl ester	Acide férulique et xylane
Acide <i>p</i> -coumarique estérase	Ac <i>p</i> -coumarique lié aux résidus arabinose	<i>p</i> -coumarique ester	Acide <i>p</i> -coumarique et xylane
β -(1,3)-glucanase	Laminarine	β -(1,3)-glucose	Oligolaminarines
β -(1,3)-(1,4)-glucanase	Lichénine, β -glucanes	β -(1,3) et (1,4)-glucose	Oligolichénine, β -oligoglucanes
β -(1,4)-glucanase	Lichénine, β -glucanes	β -(1,4)-glucose	Oligolichénine, β -oligoglucanes

Tableau 8 (suite) : Enzymes intervenant dans la dégradation des parois végétales

Enzymes	Substrats	Liaisons clivées	Produits d'hydrolyse
Polygalacturonase	Polygalacturonane désestérifié	α -(1,4)-galacturonide	Oligomères d'Acide polygalacturonique
Polygalacturonate lyase	Polygalacturonane et pectines	α -(1,4)-galacturonide	Oligomères d'Acide polygalacturonique
Pectine méthyl estérase	Pectines	Méthyl ester	Méthanol polygalacturane
Endo-(1,4)- β -D-galactanase	Arabinogalactane	β -(1,4)-D-galactane	Galactose, galactobiose
Endo-(1,6)- β -D-galactanase	β -(1,6)- β -D-galactane	Galactooligosaccharide	Galactooligosaccharide
Exo-galactanase	Galactooligosaccharide	Galactooligosaccharide	Galactooligosaccharide
β -D-galactosidase	Arabinogalactane	β -(1,4)-D-galactane	Galactooligosaccharide
Polygalacturonase	Polygalacturonane désestérifié	α -(1,4)-galacturonide	Oligomères d'acide polygalacturonique
Polygalacturonate lyase	Polygalacturonane et pectines	α -(1,4)-galacturonide	Oligomères d'Acide polygalacturonique
Pectine méthyl estérase	Pectines	Méthyl ester	Méthanol polygalacturane
Endo-(1,4)- β -D-galactanase	Arabinogalactane	β -(1,4)-D-galactane	Galactose, galactobiose
Endo-(1,6)- β -D-galactanase	β -(1,6)- β -D-galactane	Galactooligosaccharide	Galactooligosaccharide
Exo-galactanase	Galactooligosaccharide	Galactooligosaccharide	Galactooligosaccharide

1.6. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ARABINO GALACTANES

Les arabinogalactanes sont des polysaccharides structuraux largement décrits dans la littérature pour leurs propriétés biologiques (Thakur *et al.*, 2012). D'une manière générale, les AGs possèdent de nombreux effets bénéfiques dans les domaines alimentaire et pharmacologique. En effet, les AGs sont présentés comme des agents anti-inflammatoires, anti-complémentaires, gastro-protecteurs, immuno-modulateurs, ou encore comme des agents de support de médicament (Bovo *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2012; Svetlana *et al.*, 2002; Marozienne *et al.*, 2000; Kawai *et al.*, 1999; Sugihara *et al.*, 1999). Dans ce chapitre, nous présentons de manière non exhaustive, les principales activités biologiques des AG telles que les activités anti-complémentaires, les activités prébiotiques, les activités antioxydantes et les activités anti-tumorales. Pour plus d'informations, les activités biologiques connues des arabinogalactanes sont résumées dans le **Tableau 9**.

1.6.1. Activité anti-complémentaire

Le système du complément se définit comme un ensemble de protéines de nature membranaire ou plasmatique jouant un rôle primordial dans les mécanismes de défense immunitaire (Kazatchkine et Carreno, 1998). Il intervient dans la défense de l'organisme (élimination des complexes immuns et destruction des agents infectieux) et dans certains processus pathologiques tel que l'inflammation (Kazatchkine et Carreno, 1998). Dans le sang, le système du complément est responsable de la lyse des globules rouges (l'hémolyse). Le terme activité anti-complémentaire se rapporte à l'inhibition observée de l'hémolyse due à l'interaction entre les protéines du complément et un principe actif (Morgan et Harris, 2003). De manière générale, les tests ne différencient pas l'activation ou l'inhibition du système du complément, mais il prouve que le système du complément est affecté par la présence de certains principes actifs tels que des polysaccharides (Kraus et Franz, 1992). A ce titre, de nombreux AG-I, AG-II et AGP extraits de différentes plantes telles que : le bois de mélèze, les feuilles de *Plantago major*, les feuilles de *Thymus vulgaris*, les racines de *Angelica acutiloba kitagawa* et les racines de *Codonopsis pilosula* ont montré des activité anti-complémentaires (Kiyohara *et al.*, 1986 ; Kiyohara *et al.*, 1987 ; Kiyohara *et al.*, 1989 ; Yamada *et al.*, 1987 ; Yamada *et al.*, 1965 ; Samuelsen *et al.*, 1998 ; Samuelsen *et al.*, 1996 ; Zou *et al.*, 2014 ; Chun *et al.*, 2001...). Récemment, des études ont été réalisées sur la modulation des effets anti-complémentaires humains par l'utilisation d'arabinogalactanes issus de différentes gommex exsudatives (Bovo *et al.*, 2016).

1.6.2. Activité prébiotique

La notion de molécules prébiotiques a été largement définie dans la littérature et une des premières descriptions a été proposée en 1995 par Gibson et Roberfroid. Les prébiotiques peuvent être définis comme des ingrédients alimentaires non digestibles et non absorbés dans l'intestin grêle. Les prébiotiques sont fermentés par le microbiote de l'intestin. Il a été clairement établi que les prébiotiques sont des ingrédients non digestibles entraînant des changements sur l'activité du microbiote gastro-intestinal. Ils confèrent également des avantages sur la santé de l'hôte par la stimulation de la croissance d'un nombre limité de micro-organismes dans le côlon (Saad *et al.*, 2013). L'utilisation de prébiotiques peut alors restaurer la diversité de la flore intestinale et en apportant des effets positifs sur le système immunitaire (Valcheva et Dieleman, 2016; Saad *et al.*, 2013). Selon Laparra et Sanz (2010), trois critères ont été mentionnés comme nécessaires pour mesurer l'efficacité d'un prébiotique: (i) la résistance à l'acidité de l'estomac et aux activités enzymatiques du système digestif, (ii) la possibilité d'être fermenté par les micro-organismes de la flore intestinale et, (iii) la modulation et la stimulation de la croissance des bactéries bénéfiques au niveau de l'intestin. Les prébiotiques sont des glucides utilisés comme ingrédients alimentaires et des oligosaccharides principalement fonctionnels issus de l'inuline, des gommes exsudatives, de l'amidon, du xylane et des hémicelluloses (Saad *et al.*, 2013). Les arabinogalactanes sont décrits comme des fibres prébiotiques et les AG de bois de Mélèze ont été approuvée en tant que telles par la Food and Drug Administration (FAD) (Gregory, 1999). Cela signifie que les AG ne sont pas digérés et sont véhiculés au travers du tractus digestif jusqu'au gros intestin où ils sont activement fermentés par la microflore intestinale anaérobie dites bénéfiques composée principalement de Bifidobactéries et de *Lactobacillus* (Saad *et al.*, 2013). De plus, les AG assurent le confort digestif en aidant à la protection de la flore intestinale, à la diminution des ballonnements et à l'optimisation du métabolisme (Saad *et al.*, 2013). Frémont (2007) décrit la gomme d'Acacia comme une fibre naturelle multifonctionnelle stimulant le développement des bactéries bénéfiques et la production des acides gras à chaînes courtes (AGCC) permettant alors la régulation du transit intestinal et du métabolisme des lipides. Ainsi, l'augmentation de cette flore bénéfique contribue à la diminution de la biomasse bactérienne indésirable pour la santé de l'hôte telle que celle de *Clostridia* (Fitzpatrick *et al.*, 2004). Comme relaté par Fitzpatrick *et al.* (2004), au niveau de la flore intestinale, la fermentation des AG joue un rôle clé dans la protection contre les maladies gastro-intestinales en permettant: une augmentation de la production d'AGCC tels que le butyrate et le propionate et, une diminution de la quantité d'ammoniac générée. Notons que de nombreux

cliniciens utilisent des prébiotiques tels que les AG pour prévenir et traiter les maladies intestinales comme la diverticulose, le syndrome du côlon irritable, ainsi que les maladies inflammatoires de l'intestin comme l'iléite régionale (maladie de Crohn) et la colite ulcéreuse (rectocolite hémorragique) (Fitzpatrick *et al.*, 2004 ; Steed *et al.*, 2008). Finalement, des travaux récents ont permis de développer des procédés de dépolymérisations enzymatiques d'arabinogalactanes issus des gommages végétales afin de générer différentes fractions oligosaccharidiques présentant des propriétés prébiotiques plus importantes que le AG non traité enzymatiquement (Gavilighi *et al.*, 2013). Il a ainsi été démontré que les fractions de faibles masses moléculaires augmentaient significativement la croissance de probiotiques tels que : *Bifidobacterium longum subsp. longum*, *Bifidobacterium longum subsp. infantis*, *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis*. De plus certaines de ces fractions oligosaccharidiques ont montré un effet inhibiteur sur la croissance de pathogènes tels que *Clostridium perfringens*. Ces travaux mettent en avant l'application possible d'oligomères d'arabinogalactane dans le domaine alimentaire en apportant une nouvelle valeur ajoutée aux gommages alimentaires classiques.

1.6.3. Activité antioxydante

Lors d'un stress oxydatif, des molécules spécifiques appelées espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées. Par conséquent, certains tissus cellulaires endommagés ont pu être observés en raison de l'effet des ROS sur les macromolécules biologiques telles que les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Halliwell et Auroma, 1991). Le stress oxydatif est connu pour générer des ROS tels que le radical anion superoxyde et le radical hydroxyle largement décrits pour leur rôle important dans la cancérogenèse (Cuzzocrea *et al.*, 2001). Pour lutter contre les dommages oxydatifs, les molécules antioxydantes sont généralement utilisées pour protéger les cellules humaines en régulant la quantité de ROS générés. D'une manière générale, dans l'industrie alimentaire, des antioxydants chimiques, tels que le butylhydroxytoluène (BHT), le tert-butylhydroquinone (TBHQ), le propyl gallate (PG) ou le butylhydroxyanisole (BHA) sont utilisés (Qi *et al.*, 2005). Néanmoins, leur utilisation dans les aliments est de plus en plus controversée en raison de leur impact potentiel dans la carcinogenèse (Elboutachfai *et al.*, 2011). L'industrie alimentaire reconnaît de plus en plus l'importance des antioxydants dans la conception de nouveaux aliments fonctionnels à valeur ajoutée. Ces antioxydants alimentaires non seulement aident à prévenir les maladies dégénératives liées aux radicaux libres, mais aussi à améliorer la durée de conservation des aliments fonctionnels. Dès lors, au cours des dernières décennies, l'utilisation d'antioxydants

naturels a été de plus en plus privilégiée. Parmi eux, les polysaccharides et plus particulièrement les AG ont été décrits comme des molécules antioxydantes validées en utilisant diverses techniques telles que les mesures du pouvoir : anti-radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), anti-radical anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et antiradical hydroxyle ($HO^{\bullet}$) ou encore ; la méthode de FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power) mesurant la réduction des ions ferriques en présence d'antioxydants et finalement les dosages spécifiques mesurant l'inhibition de la peroxydation des lipides (Ngo et Kim, 2013; Delattre *et al.*, 2011). A titre d'exemple, des arabinogalactanes isolés à partir de : l'écorce de racine d'*Aralia elata*, la gomme gatti (*Anogeissus latifolia* gum), l'écorce de *Larix gmelinii*, la feuille de *Maytenus ilicifolia*, la feuille de *Andrographis paniculata* et, la feuille de *Fallopia sachalinensis* ont été décrits pour leurs propriétés antioxydantes intéressantes notamment dans la capacité à piéger les radicaux anion superoxyde et hydroxyles (Ghosh *et al.*, 2015 ; Chatterjee *et al.*, 2014 ; Liu *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2013 ; Nosalova *et al.*, 2013 ; Baggio *et al.*, 2012). D'une manière générale, de nombreuses études ont confirmé les propriétés antioxydantes de la gomme Arabique (Ali et Al Moundhri 2006; Hinson *et al.*, 2004; Trommer et Neubert, 2005). Plus récemment encore, un AGP issus de gomme de *Lannea grandis* (Majee *et al.*, 2016) et un AG issus de feuilles de *Lycium ruthenicum murra* (Liu *et al.*, 2016) ont été décrits pour leur pouvoir antioxydant. Ainsi, tous ces arabinogalactanes constituent donc une source potentielle d'antioxydants naturels pouvant intéresser l'industrie alimentaire.

1.6.4. Activité antitumorale

A l'heure actuelle, le cancer est probablement considéré comme l'une des principales causes de décès chez l'Homme. Récemment, Amaro *et al.* (2013) ont mentionné que l'incidence du cancer a augmenté par deux au cours des dernières années. Le développement du cancer nécessite plusieurs étapes où l'apparition d'événements détermine la transition d'une cellule normale en une cellule tumorale. Ces événements sont généralement associés à une perte des mécanismes contrôlant divers processus biologiques. Cela peut alors entraîner l'accumulation d'altérations génétiques, des changements dans le nombre de copies du gène, des réarrangements chromosomiques, des mutations et des altérations épigénétiques (Robles-Fernández *et al.*, 2013). Au cours de phénomènes tumoraux, plusieurs protéines comme par exemple les caspases sont bien connues pour être impliquées dans le processus de carcinogenèse (Guedes *et al.*, 2003). Par conséquent, des activités de nature protéasique sont nécessaires pour empêcher et supprimer le mécanisme entraînant la tumeur cellulaire (Amaro *et al.*, 2013). Pour le traitement du cancer, des méthodes de chimiothérapie sont couramment

développées en utilisant des médicaments anticancéreux très cytotoxiques (Ehrke, 2003). Dès lors, pour améliorer le bien-être et les bénéfices santé, il existe un fort besoin concernant l'utilisation de composés naturels en tant qu'agents anti-tumoraux (Themeli *et al.*, 2013; Schepetkin et Quinn, 2006). Ainsi, ces dernières années, les activités anti-tumorales de polysaccharides tels que les arabinogalactanes ont été étudiées par des expériences *in vitro* et *in vivo*. Dans leurs travaux, Cao *et al.* (2006 et 2010) ont étudié les propriétés anti-cancéreuses d'AG. En utilisant les AG extraits de racines de *Angelica sinensis*, les auteurs ont mis en évidence l'inhibition de la prolifération de différentes cellules cancéreuses issues du col de l'utérus (cellules HeLa : lignée cellulaire cancéreuse) et de poumon humain (cellules A549 : lignée cellulaire cancéreuse). Les mêmes auteurs ont démontré que cette AG issus de *Angelica sinensis* étaient capable d'inhiber la croissance des tumeurs chez la souris. En effet, il a été particulièrement observé que le taux d'inhibition atteignait 50,7 % chez les souris traitées avec une dose de 100 mg d'AG / kg (Cao *et al.*, 2006, 2010). Dans une autre étude, il a été montré que des AG extraits d'écorce de *Endopleura uchi* pouvaient inhiber à hauteur de 25 % la prolifération de cellules cancéreuses HeLa issues du col de l'utérus (Bento *et al.*, 2014). Dans leurs études, Beuth *et al.* (1988 et 1987) ont démontré que l'AG extrait de *Larix europaea* avait un effet inhibiteur sur la colonisation des cellules tumorales hépatiques dans deux modèles de tumeurs animales. Les auteurs ont notamment montré que l'AG bloquait spécifiquement les lectines des hépatocytes. Dans d'autres travaux, l'activité anti-cancéreuse de l'AG extrait d'*Anoectochilus formosanus* a été évaluée sur un model du cancer du côlon de souris (Yang *et al.*, 2014). Il a été observé que l'AG permettait de réduire la masse et la taille de la tumeur cancéreuse. En effet, dans cette étude, les auteurs mentionnent que trois semaines de traitements avec une dose d'AG de 15mg/kg entraînaient l'inhibition de la croissance des tumeurs de 61,7%. Finalement, notons que l'angiogénèse joue un rôle essentiel dans le développement des tumeurs cancéreuses. Bloquer les mécanismes de l'angiogénèse dans la tumeur permet donc de limiter la progression du cancer. A ce titre, un AG extrait des fleurs de *Panax notoginseng* a permis d'inhiber l'angiogénèse dans des cellules cancéreuses de pancréas (Wang *et al.*, 2015).

Tableau 9 : Principales activités biologiques décrites chez les arabinogalactanes

Espèces	AG actifs		Activités	Références
	AGI	AGII		
<i>Angelica acutiloba</i>	-	-	anti-complémentaire	Yamada <i>et al.</i> , 1985
<i>Atractylodes lancea</i>		-	immunitaire intestinale	Taguchi <i>et al.</i> , 2004
<i>Bupleurum falcatum</i>		-	anti-ulcéreuse	Sakurai <i>et al.</i> , 1998
<i>soybean meal</i>	-		anti-ulcéreuse	Cipriani <i>et al.</i> , 2009
<i>Bupleurum falcatum</i>		-	anti-complémentaire	Yamada <i>et al.</i> , 1989
<i>Camellia sinensis</i>		-	anti-diabétique	Wang <i>et al.</i> , 2015
<i>Cistanche deserticola</i>	-	-	Immunostimulante	Wu <i>et al.</i> , 2005
<i>Cuscuta chinensis</i>		-	Immunostimulante	Bento <i>et al.</i> , 2014
<i>Cuscuta chinensis</i>		-	Antioxydante	Bao <i>et al.</i> , 2002
<i>Diospyrus kaki</i>		-	Immunostimulante	Duan <i>et al.</i> , 2003
<i>Entada africana</i>	-	-	Immunostimulante	Samuelsen <i>et al.</i> , 1998
<i>Glinus oppositifolius</i>	-	-	immunomodulatrice	Kari <i>et al.</i> , 2007
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>		-	immunomodulatrice	Jong-Hyun <i>et al.</i> , 2007
<i>Larix spp</i>		-	Immunostimulante	Gregory, 1999
<i>Lycium barbarum</i>	-		Immunostimulante	Ting <i>et al.</i> , 2014
<i>Melocactus depressus</i>	-		Immunostimulante	Da Silva et Parente, 2002
<i>Panax ginseng</i>	-	-	immunomodulatrice	Friedl <i>et al.</i> , 2001
<i>Panax ginseng</i>		-	anti-complémentaire	Gao <i>et al.</i> , 1991
<i>Piper nigrum</i>		-	anti-complémentaire	Chun <i>et al.</i> , 2002
<i>Plantago major</i>	-	-	anti-complémentaire	Samuelsen <i>et al.</i> , 2006
<i>Vernonia Kostchyana</i>	-	-	anti-complémentaire	Nergard <i>et al.</i> , 2005
<i>Cereus peruvianus</i>	-		anti-ulcéreuse	Tanaka <i>et al.</i> , 2010
<i>Centella asiatica</i>		-	immunomodulatrice	Wang <i>et al.</i> , 2005

CHAPITRE 2 :

MATERIELS ET METHODES

2.1. PREPARATION DE LA MATIERE PREMIERE

Les cladodes de *Cereus triangularis* ont été recueillis dans la région de Sakaramy, commune rurale d'Antsiranana située au Nord de Madagascar (Figure 20) en Décembre 2013.



Figure 20 : Situation géographique de la zone de récolte

Les cladodes ont été nettoyés manuellement à l'eau de robinet afin d'éliminer la poussière ou les traces de terre sur leur surface. Ils ont ensuite été coupés en morceaux de 1 à 2 cm et séchés à l'étuve (JOUAN-N ° 78 120) à 40 °C jusqu'à stabilisation de leur masse pendant

environ 2 semaines. Les morceaux de cladodes secs ont été ensuite broyés à l'aide d'un mélangeur mécanique à haute vitesse (Blender 800 ES) afin d'obtenir une poudre fine.

2.2. EXTRACTION DES POLYSACCHARIDES DES CLADODES DE *CEREUS TRIANGULARIS*

Cent cinquante grammes de poudre de cladodes sont mises en suspension dans 3 L d'eau distillée. Le mélange est homogénéisé sous agitation à 750 rpm pendant 3 heures à température ambiante à l'aide d'un agitateur à pales (Heidolph RZR 2021) puis filtré à travers une passoire à mailles fines pour retirer les débris macroscopiques insolubles (Culot 1). Le filtrat obtenu est centrifugé à 20 000 g pendant 15 minutes à 20 °C à l'aide d'une centrifugeuse (BECKMAN COULETR, anti-J-E, centrifuge). Après centrifugation, le surnageant est filtré sous vide à l'aide d'un Buchner muni de papier Wattman de porosité 20-25 µm. Les polysaccharides présents dans le filtrat sont précipités par 3 volumes d'éthanol 96 % sous agitation (350 rpm) pendant 30 minutes et récupérés par filtration sur verre fritté de porosité 2. Ils sont lavés à l'éthanol 96 % (500 mL) puis à l'acétone (150 mL) à l'aide d'une passoire à mailles fines. Les polysaccharides obtenus sont ensuite séchés à 45°C pendant 24 h dans une étuve et broyés en poudre fine (FP1).

Ce procédé d'extraction est répété sur le Culot 1 pour pouvoir récupérer le reste des polysaccharides des cladodes de *Cereus triangularis*, les polysaccharides issus de cette opération sont nommés FP2. Un schéma général du procédé d'extraction réalisé est présenté en **Figure 21**.

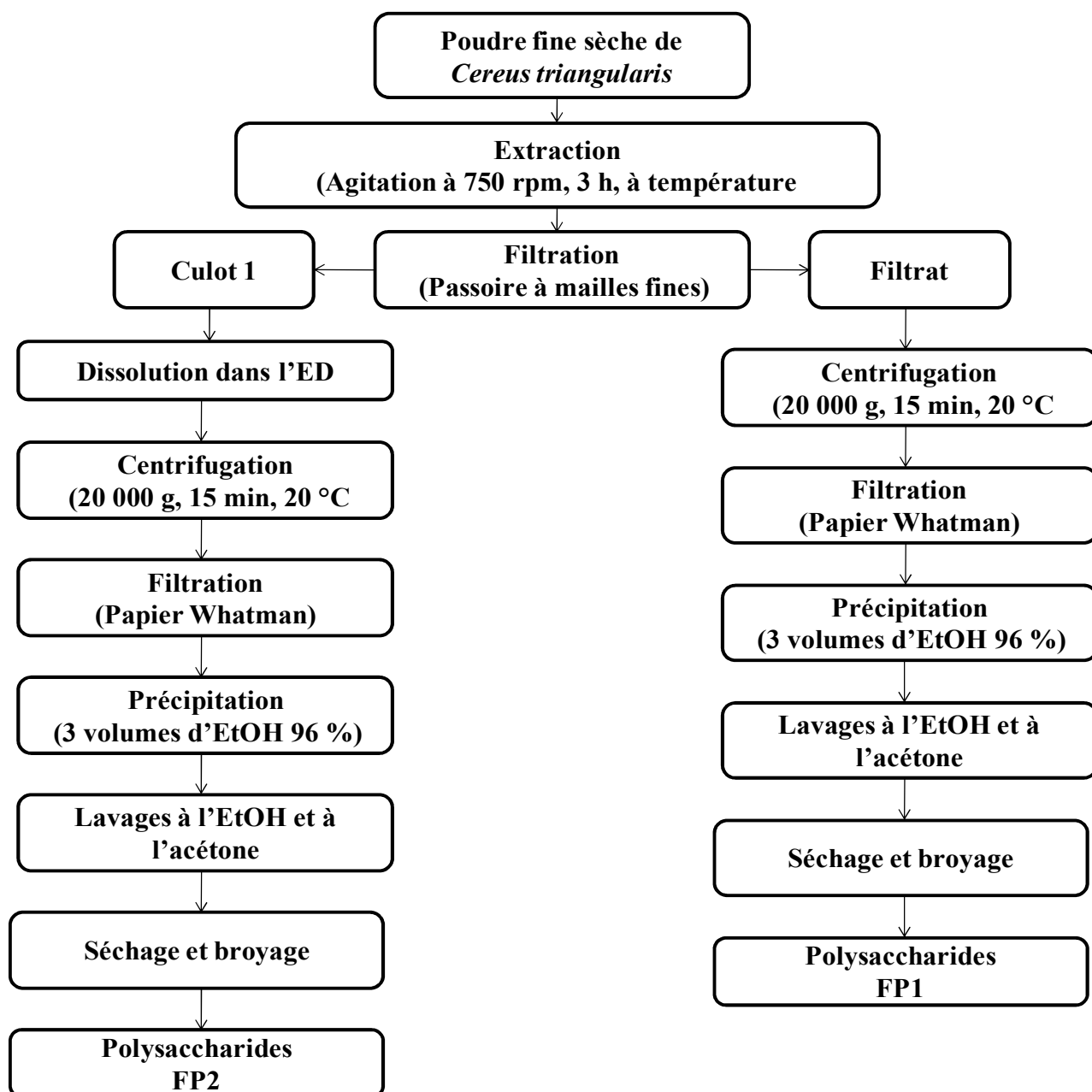


Figure 21 : Schéma général du procédé d'extraction de polysaccharides de *Cereus triangularis*

2.3. DOSAGES COLORIMETRIQUES

Les teneurs en oses neutres, oses acides, oses totaux et en protéines des polysaccharides de *Cereus triangularis* ainsi que leurs activités antioxydantes ont été déterminées par des méthodes colorimétriques.

2.3.1. Dosages des oses neutres (ON) et des acides uroniques (AU)

La quantification des oses constitutifs 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 furfuriques. Par condensation, des composés phénoliques tels que le résorcinol pour le dosage des ON (Monsigny *et al.*, 1988) et le méta-hydroxybiphényle (mHBP) pour le dosage des AU (Van Den Hoogen *et al.*, 1973) interviennent lors du dosage. Il s'agit de tests très sensibles dans la mesure où ils permettent de détecter jusqu'à 1 µg de composé.

2.3.1.1. Dosage des ON par le résorcinol

Les dérivés de furfural se condensent avec le résorcinol en milieu acide pour donner un complexe brun-orange dont l'absorbance est mesurée à 450 nm.

La solution de résorcinol est préparée à 6 mg/mL dans l'eau milli-Q et est stockée à 4 °C où elle est stable 4 semaines. Une gamme étalon de glucose (ou de galactose dans le cas de l'étude des galactanes) est préparée de 0 à 0,14 g/L. On dépose dans les tubes de dosage 200 µL d'échantillon, 200 µL de la solution de résorcinol et 1 mL d'H₂SO₄ à 80 %. Les tubes sont agités puis maintenus dans un bain marie sec à 80 °C pendant 30 min. Après retour à température ambiante à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 450 nm.

2.3.1.2. Dosage des AU par le méta-hydroxybiphényle (m-HBP)

4,576 g de tétraborate de sodium (Na₂B₄O₇·10H₂O) sont dissous dans 100 mL d'acide sulfurique à 95-97 % dans un bain de glace. Cette solution est conservée à 4 °C à l'abri de la lumière.

100 mg de mHBP sont dissous dans 1 mL de DMSO et maintenus à 4 °C à l'abri de la lumière. Avant usage, 100 µL de cette solution sont ajoutés à 4,9 mL d'H₂SO₄ à 80 %. Une coloration jaune apparaît. Cette solution est maintenue à 4 °C à l'abri de la lumière.

A 200 µL d'échantillons, on ajoute 1 mL de la solution de tétraborate de sodium. Après agitation, les tubes sont incubés à 80 °C pendant 60 min puis refroidis 15 min à température ambiante à l'abri de la lumière. Après addition de la solution de mHBP et agitation, on laisse la coloration se développer pendant 15 min à l'obscurité (température ambiante). L'absorbance est mesurée à 490 nm. La gamme étalon d'acide glucuronique est préparée de 0 à 0,8 g/L.

2.3.1.3. Détermination de la concentration en ON et AU

En raison de l'interférence des acides uroniques dans le dosage des oses neutres, il est nécessaire de corriger les calculs par la méthode établie par Montreuil et Spik (1963).

L'analyse spectrophotométrique des solutions témoins d'oses neutres (galactose ou glucose) et d'acides uroniques (acide glucuronique) permet de tracer les droites d'étalonnages du dosage.

La pente de chaque droite étalon est ensuite mesurée :

Dosage au Résorcinol : Pente = α pour les oses neutres

Pente = β pour les acides uroniques

Dosage au m-HBP : Pente = α' pour les oses neutres

Pente = β' pour les acides uroniques

A partir de ces pentes et en fonction des absorbances mesurées lors des dosages, les concentrations en acides uroniques (AU) et oses neutres (ON) sont déterminées grâce aux expressions suivantes :

$$[ON] = \frac{Abs_{m.HBP} - \beta'[AU]}{\alpha'}$$
$$[AU] = \frac{Abs_{résorcinol} - (\alpha / \alpha') Abs_{m.HBP}}{(\alpha' \beta - \alpha \beta') / \alpha'}$$

2.3.2. Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois

La quantité d'oses totaux constitutifs des polysaccharides est déterminée par la méthode de dosage colorimétrique de Dubois *et al.* (1956) utilisant le phénol et l'acide sulfurique. Ce dosage se réalise dans les mêmes conditions que le dosage des oses neutres décrit ci-dessus. Les liaisons glycosidiques sont hydrolysées, à chaud, en présence d'acide sulfurique concentré et la déshydratation des unités osidiques conduit à la formation de composés furfuriques. Ces derniers interagissent avec les composés phénoliques (phénol) par condensation pour former des composés de coloration orange-jaune absorbant à 492 nm.

Une gamme étalon de glucose est réalisée avec des concentrations en oses comprises entre 0,05 et 0,3 g/L. Une solution de phénol à 5 % (m/v) est préparée avec de l'eau ultra pure.

On dépose dans les tubes de dosage 200 μ L d'échantillon, 200 μ L de phénol et 1 mL d'acide sulfurique 80% (m/v). Les tubes sont incubés à 90 °C pendant 5 min, puis maintenus 30 min à température ambiante à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 492 nm (Spectrophotomètre UV-Visible CPS-240 A, Shimadzu).

2.3.3. Dosage des protéines par la méthode de Biuret

La concentration en protéines est mesurée par la méthode de Biuret (Gornall *et al.*, 1949). Le réactif de Biuret réagit en milieu alcalin avec le sulfate de cuivre (CuSO₄) en donnant une

coloration violette. Une gamme étalon de sérum albumine bovine (SAB) est préparée de 0 et 20 mg/mL. Un millilitre d'échantillon est additionné de 4 mL de réactif de Biuret. Après avoir mélangé au vortex, le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 540 nm.

2.3.4. Dosage des sucres réducteurs par l'acide bichinchoninique

Le couple L-sérine/ Cu^{2+} , en présence d'une extrémité réductrice, est réduit en L-sérine/ Cu^+ . Ce nouveau couple forme avec le 4,4'-dicarboxy-2,2'-biquinoline un complexe pourpre qui absorbe à 540 nm. L'absorbance à cette longueur d'onde est proportionnelle au taux de sucres réducteurs dans la solution (Waffenschmidt & Jaenicke, 1987).

On prépare deux solutions A et B qui sont ensuite mélangées volume à volume.

Solution A

2,42 g de Na_2CO_3 , 6,35 g de NaHCO_3 et 194,2 mg de 4,4'-dicarboxy-2,2'-biquinoline sont dissous qsp pour 100 mL d'eau milli-Q.

Solution B

126,2 mg de L-sérine et 124,8 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sont dissous qsp 100 mL d'eau milli-Q.

Les 2 solutions sont stables 4 semaines à 4 °C à l'obscurité.

250 μL du mélange A/B fraîchement préparé sont ajoutés à 5 mL de chaque échantillon. Le mélange réactionnel est incubé à 100 °C pendant 15 min puis refroidi 10 min dans un bain d'eau à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 540 nm.

2.3.5. Etude des propriétés antioxydantes des polysaccharides

Plusieurs méthodes ont été utilisées afin de déterminer les propriétés antioxydantes des polysaccharides extraits de *C. triangularis*.

2.3.5.1. Test anti-radicalaire par le dosage au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

La mesure de l'activité anti-radicalaire des polysaccharides issus de *Cereus triangularis* a été réalisée par le dosage au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon un protocole adapté de Delattre *et al.* (2015). Les fractions polysaccharidiques étaient dissoutes à différentes concentrations (de 0 à 10 g/L) dans l'eau distillée. Un volume de 1 mL de chaque solution a été mélangé avec 1 mL d'une solution de DPPH (0,1 mM dans l'éthanol). Après homogénéisation au vortex, les mélanges étaient incubés à température ambiante (25°C) à l'abri de la lumière. Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance était lue à 517 nm. La

vitamine C (acide ascorbique) a été utilisée comme témoin positif. Les dosages ont été réalisés en triplicata.

Le pourcentage d'activité anti-radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du radical DPPH (\%)} = (1 - (A_{\text{échantillon}}/A_{\text{témoin}})) \times 100.$$

Avec :

$A_{\text{échantillon}}$ = Absorbance à 517 nm du mélange : 1 mL de solution polysaccharidique + 1 mL de DPPH (0,1 mM dans l'éthanol)

$A_{\text{témoin}}$ = Absorbance à 517 nm du mélange : 1 mL d'eau distillée + 1 mL de DPPH (0,1 mM dans l'éthanol).

2.3.5.2. Test anti-radicalaire (Hydroxyl radical)

La mesure de l'activité anti-radicalaire (Hydroxyl radical) des polysaccharides issus de *Cereus triangularis* a été réalisée selon un protocole adapté par Delattre *et al.* (2015).

Les fractions polysaccharidiques étaient dissoutes à différentes concentrations (de 0 à 10 g/L) dans de l'eau distillée. Un volume de 0,2 mL de chaque solution a été mélangé avec 0,2 mL d'une solution de FeSO₄ (5 mM dans l'eau distillée). Après homogénéisation au vortex, 0,2 mL de H₂O₂ (1 % dans l'eau distillée) ont été ajoutés avant de mélanger la solution. Les mélanges ont été incubés à température ambiante (25 °C). Après 60 minutes d'incubation, 1 mL d'eau distillée était ajouté avant lecture de l'absorbance à 510 nm ($=A_{\text{échantillon}}$). La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme témoin positif. Les dosages ont été réalisés en triplicata.

Le pourcentage d'activité anti-radical hydroxyl est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du radical hydroxyl (\%)} = ((A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}})/A_{\text{témoin}}) \times 100.$$

Avec :

$A_{\text{échantillon}}$ = Absorbance à 510 nm de la fraction polysaccharide à doser

$A_{\text{témoin}}$ = Absorbance à 510 nm du mélange où l'échantillon à doser est remplacé par 0,2 mL d'eau distillée.

2.3.5.3. Test anti-radicalaire (Superoxyde anion radical)

La mesure de l'activité anti-radicalaire (Superoxyde anion radical) des polysaccharides issus de *Cereus triangularis* a été réalisée selon un protocole adapté de Elboutachfaiti *et al.* (2011).

Les fractions polysaccharidiques étaient dissoutes à différentes concentrations (de 0 à 10 g/L) dans de l'eau distillée. 0,42 mL d'échantillon était mélangé avec 0,45 mL de tampon Tris-HCl (pH 8,2; 50 mM). Ce mélange était incubé 20 minutes à 25 °C. Puis, 30 µL d'une solution de pyrogallol (5 mM dans l'eau distillée) ont été mélangés au milieu réactionnel. Après 5 minutes d'incubation, 0,1 mL d'acide ascorbique (5 % dans l'eau) ont été ajoutés pour arrêter la réaction avant de lire l'absorbance à 325 nm. La vitamine C a été utilisée comme témoin positif. Les dosages ont été réalisés en triplicata.

Le pourcentage d'activité anti-radical superoxyde anion est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du radical superoxyde anion (\%)} = ((A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}})/A_{\text{témoin}}) \times 100.$$

Avec :

$A_{\text{échantillon}}$ = Absorbance à 325 nm de la solution de polysaccharide à doser

$A_{\text{témoin}}$ = Absorbance à 325 nm du mélange où l'échantillon à doser est remplacé par 0,42 mL d'eau distillée.

2.3.5.4. Test anti-radicalaire par dosage du pouvoir réducteur

Le dosage du pouvoir réducteur des polysaccharides issus de *Cereus triangularis* a été réalisé selon un protocole adapté de Yan *et al.* (2005).

Les fractions ont été dissoutes à différentes concentrations (de 0 à 10 g/L) dans l'eau distillée. 0,1 mL d'échantillon a été mélangé avec 0,25 mL de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 0,25 mL de ferricyanide de potassium (1 %, m/v dans l'eau distillée). Ce mélange était incubé dans un bain marie à sec à 50 °C pendant 20 minutes. Après avoir été refroidi dans un bain de glace pendant 5 minutes, le milieu était additionné de 0,25 mL d'acide trichloro-acétique (10 %, m/v dans l'eau distillée), puis agité 1 minute au vortex. Le mélange a été centrifugé à température ambiante pendant 10 minutes à 5000 rpm. 0,25 mL de surnageant était mélangé avec 0,25 mL d'eau distillée et 0,05 mL de FeCl₃ (0,1%, m/v dans l'eau distillée). Après 5 minutes, l'absorbance était lue à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur. La vitamine C a été utilisée comme témoin positif du pouvoir réducteur. Les dosages étaient réalisés en triplicata.

2.4. ANALYSE DE LA COMPOSITION GLUCIDIQUE

2.4.1. Détermination des monosaccharides constitutifs par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/SM-EI

L'analyse par CG/SM-EI de l'hydrolysate acide d'un polysaccharide permet de déterminer sa composition monosaccharidique, mais requiert une dérivation des monosaccharides formés. En effet, la CG/SM-EI ne permet pas d'analyser directement les mono- ou polysaccharides en raison de leurs groupements hydroxyles qui les rendent peu volatiles. Les groupements choisis pour dériver les sucres permettent de casser les liaisons hydrogènes et de masquer les dipôles, ce qui entraîne une volatilisation à des températures inférieures à 300 °C (température maximale de stabilité des phases standards). Les dérivations les plus fréquemment utilisées sont l'acétylation, la méthylation et la silylation. Les substituants utilisés (acétyles et triméthylsilyles) rendent non seulement le composé plus volatile, mais améliorent aussi l'ionisation du sucre par impact électronique (EI). L'ionisation par EI consiste en un impact d'électrons sur les molécules en sortie de chromatographie. Les hétéroatomes constituant les molécules sont le plus souvent atteints par ces électrons et forment des radicaux vrais et/ou des cation-radicaux. L'énergie des électrons envoyés sur les molécules à analyser est de 70 eV, ce qui permet la fragmentation des liaisons C-C. La fragmentation et l'abondance des fragments donnent à chaque composé un spectre de masse caractéristique correspondant à une empreinte. De ce fait, les spectres de masses en EI⁺ présentent rarement le pic de l'ion moléculaire. Lorsque le sucre est dérivé, les groupements acétyle ou triméthylsilyle forment des zones de forte densité électronique, qui seront des cibles préférentielles pour les électrons issus de la source d'ionisation et induiront ainsi les fragmentations internes.

Dérivation par triméthylsilylation

Principe :

La silylation est la méthode de dérivation la plus utilisée pour l'analyse des monosaccharides en CPG. Lors de la silylation, un hydrogène réactif est remplacé par un groupement alkyl-silyle, le plus souvent le triméthylsilyle (TMS). Le remplacement d'hydrogène par un groupement alkyl-silyle réduit la polarité du composé (Pierce, 1968). Les dérivés silyles (ex : dérivés de triméthyle) sont plus volatils, moins polaires et plus thermostables comparativement aux autres composés volatiles générés (Kataoka, 2005). Le BSTFA (Bis (triméthylsilyle) trifluoroacétamide) et le TMCS (triméthylchlorosilane) sont les réactifs les plus utilisés pour la triméthylsilylation de plusieurs substances (alcools, alcaloïdes,

amines, acides carboxyliques, phénols, etc). L'agent de silylation (le BSTFA) agit comme donneur triméthylsilylique puissant alors que le TMCS joue le rôle d'un catalyseur et augmente la réactivité de BSTFA améliorant ainsi l'efficacité de la dérivation (Shareef *et al.*, 2004). La **Figure 29** présente la réaction de triméthysilylation.

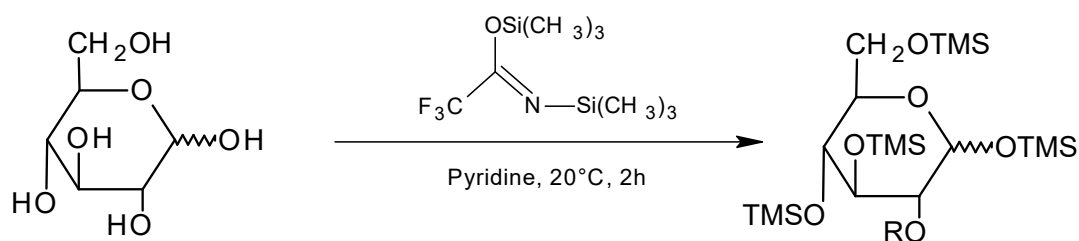


Figure 22 : Triméthysilylation des O-glycosides (Kamerling *et al.*, 1975)

Mode opératoire :

Cinq mg de polysaccharide sont dissous dans 1 mL d'acide trifluoroacétique (TFA) 2 M et chauffés à 120 °C pendant 90 min. La solution est ensuite évaporée sous un courant d'azote. Un mélange de N,O-bis(triméthylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) et triméthylchlorosilane (TMCS) (99:1) pour la dérivation est réalisée en adaptant les méthodes de Pierre *et al.* (2012, 2013). Les résidus triméthylsilyl-O-glycosides sont solubilisés en ajoutant du dichlorométhane. Les échantillons sont analysés sur un chromatographe (Agilent 6890 Series GC System) couplé à un spectromètre de masse (Agilent 5973 Network Mass Selective Detector). Les solutions sont injectées dans une colonne de 1 MS OPTIMA (de 30 m de longueur, de 0,32 mm de diamètre et dont l'épaisseur du film de la phase stationnaire est de 0,25 µM) de Macherey-Nagel. Le gaz vecteur utilisé est de l'hélium à un débit de 2,3 mL/min. La pression de l'hélium est de 8,8 psi. L'échantillon est injecté en mode split avec un ratio de 50:1. La montée en température est programmée pour une première étape à 100°C pendant 3 min, une augmentation de 8 °C/min jusqu'à 200°C, puis un incrément final de 5°C/min jusqu'à 250°C. Le mode d'ionisation utilisé est l'impact électronique (EI, 70 eV), la température à la trappe est fixée à 150°C et la plage de masse de 40-800 m/z. La **Figure 23** présente le schéma d'une source à ionisation par impact électronique.

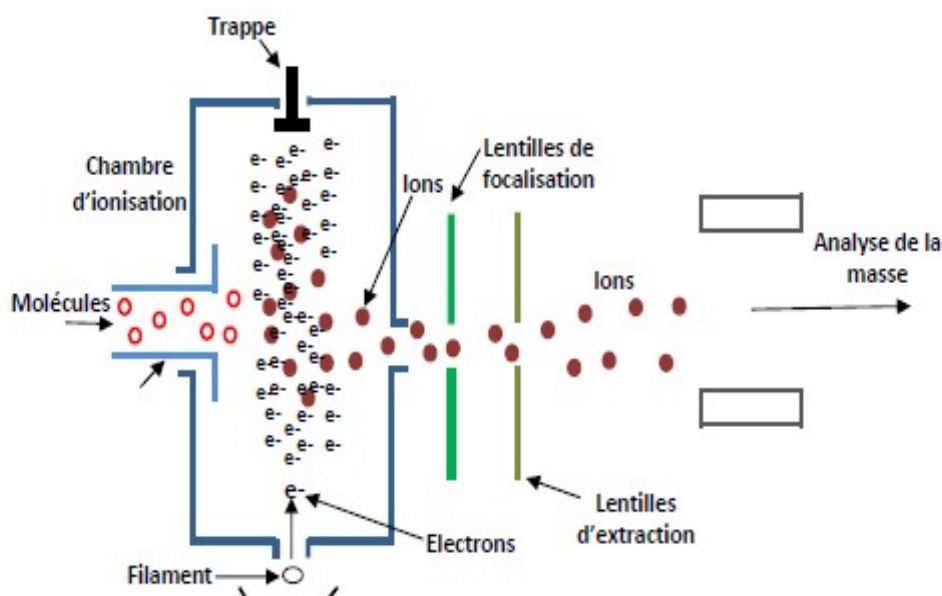


Figure 23 : Schéma d'une source à ionisation par impact électronique

2.4.2. Analyse des liaisons glycosidiques par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM-EI).

Une des étapes fondamentales à l'analyse et à la compréhension de la structure d'un polysaccharide passe par la détermination des liaisons glycosidiques reliant les monosaccharides entre eux. La position des liaisons glycosidiques constitutives du polysaccharide de *Cereus triangularis* a été déterminée par analyse CG/SM des monosaccharides après transformation en acétates d'alditols partiellement méthylés (AAPM) (Figure 24).

La méthode la plus connue passe par la méthylation des groupements hydroxyles libres du polysaccharide suivie d'une hydrolyse acide et/ou enzymatique des liaisons glycosidiques (Peña *et al.*, 2012). Les monosaccharides sont ensuite réduits en alditols via l'utilisation de borohydrure de sodium (ou de borodeuteride de sodium pour marquer le groupement engagé dans le pont osidique) puis acétylés au niveau des groupements hydroxyle libres (Figure 24).

Les molécules générées portent le nom d'acétates d'alditols partiellement *O*-méthylés (Figure 25) et permettent d'accéder, après fragmentation par impact électronique, à des informations structurales comme la position des groupements *O*-méthyle et *O*-acétyle et donc des groupements hydroxyles engagés ou non dans une liaison glycosidique (Carpita et Shea, 1989). Notons que la présence de groupements annexes, comme des sulfates, peuvent gêner

l'analyse des liaisons glycosidiques. Il est donc nécessaire de comparer les spectres CG/SM de polysaccharides natifs et désulfatés perméthylés (Garon-Lardièrre, 2004).

Préparation du réactif solide NaOH/DMSO :

La méthylation de polysaccharides via l'utilisation de NaOH solide dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) est une méthode de méthylation souvent privilégiée par rapport à celles impliquant l'utilisation du BuLi dans du DMSO. La méthode qui a été utilisée dans ce travail est adaptée de Ciucanu et Kerek (1984).

Cent μL d'une solution de NaOH à 50 % (m/v) sont ajoutés à 200 μL de méthanol anhydre dans un tube fermé. Après agitation forte et obtention d'une solution limpide, 1 mL de DMSO anhydre est ajouté. Le mélange est alors vortexé puis centrifugé pendant 5 min à 3600 g. Après centrifugation, le surnageant est évacué et le culot est additionné à nouveau de 1 mL de DMSO, mélangé et centrifugé comme précédemment. Cette étape doit être répétée deux fois, jusqu'à l'obtention d'un culot de NaOH opalescent (laiteux). Pour terminer, resuspendre le culot dans 200 à 300 μL de DMSO anhydre et utiliser directement le réactif pour l'étape de méthylation.

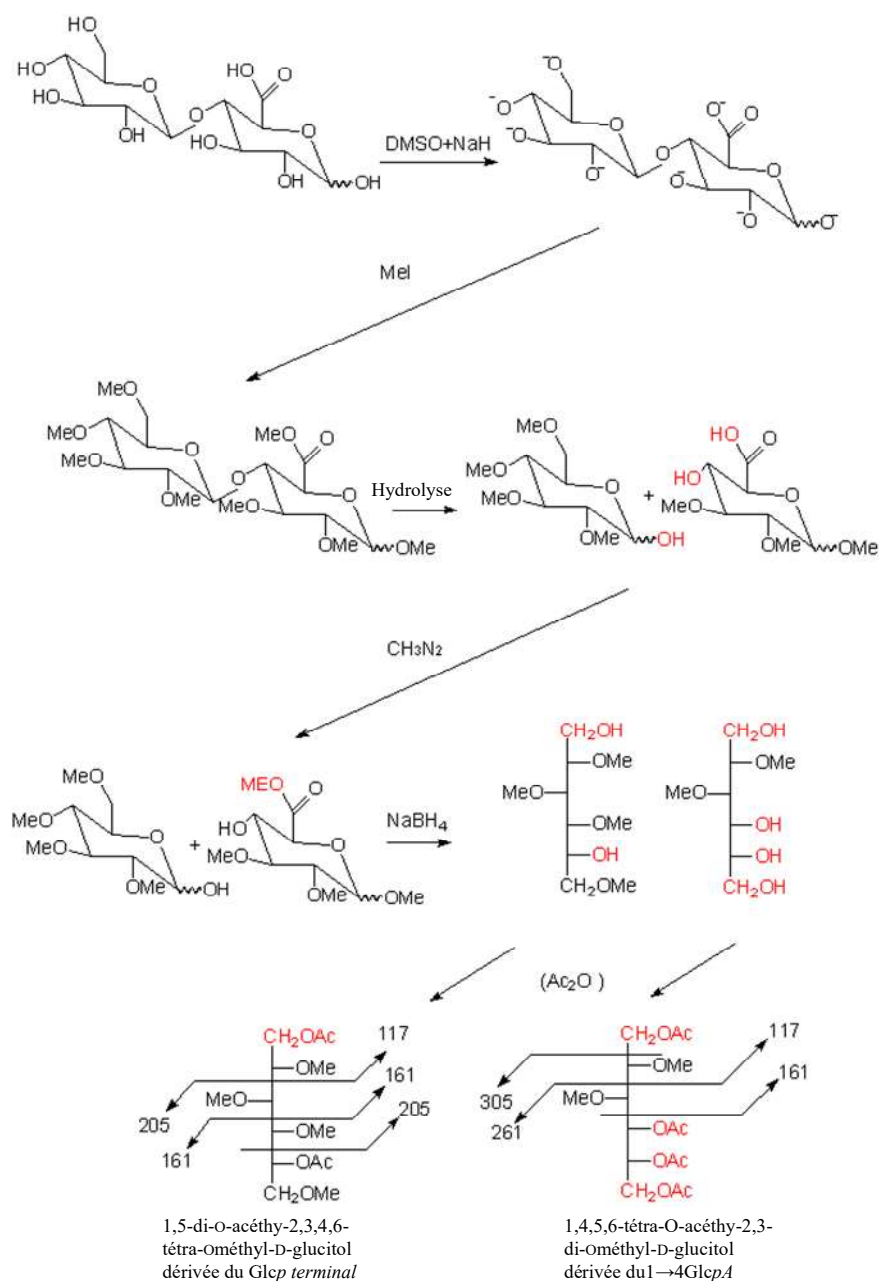


Figure 24 : Formation des AAPM (Garon-Lardière, 2004)

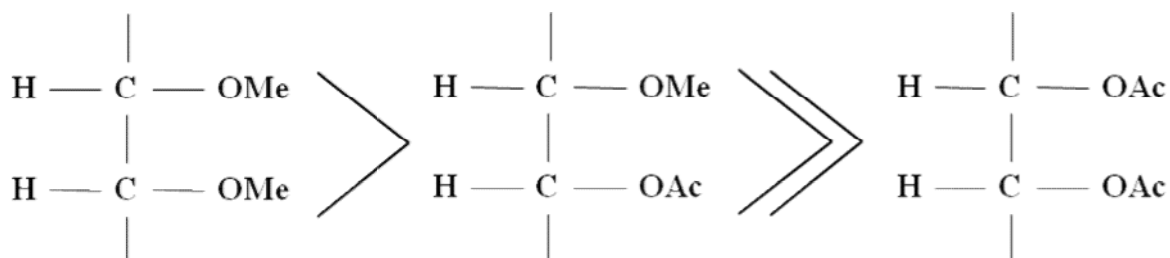


Figure 25 : Ordre de clivage préférentiel au sein des AAPM (Garon-Lardière, 2004)

Méthylation du polysaccharide :

Cent à 200 µg de polysaccharide lyophilisé sont ajoutés à 200-500 µL de DMSO anhydre dans un tube hermétique. Agiter doucement à 60 °C si nécessaire pour solubiliser le polysaccharide. Deux cents µL du réactif solide NaOH/DMSO sont ajoutés à l'échantillon ainsi que 10 µL d'eau ultra pure afin de limiter les dégradations oxydatives (Ciucanu et Costello, 2003). Le mélange est ensuite conservé après agitation pendant 15 min à température ambiante. Trois cent µL d'iodométhane sont ensuite ajoutés au mélange qui est conservé pendant 15 min à température ambiante puis refroidit dans la glace. Un mL d'eau ultra pure est alors ajouté avant mélange (vortex). L'excès d'iodométhane est éliminé sous un jet d'azote puis 1 mL de chloroforme est ajouté. Après mélange (vortex) et centrifugation pendant 5 min à 3000 g, la phase inférieure organique est collectée et transférée dans un nouveau tube. Cette phase organique est ensuite lavée trois fois avec de l'eau ultra pure puis le chloroforme est évaporé sous jet d'azote. Les résidus méthylés sont finalement repris dans un volume variable de méthanol. Les échantillons peuvent être stockés, si nécessaire, à -20°C.

Formation des AAPM :

Les échantillons méthylés et stockés dans du méthanol sont traités par un jet d'azote pour éliminer le méthanol. Un mL d'acide trifluoroacétique (ATF) 2 M est ajouté à 200-500 µg de matériel méthylé et 50 µL de *myo*-inositol à 20 mM sont additionnés à l'échantillon. Le matériel méthylé peut être remplacé à cette étape par des monosaccharides standards (L-Rha, L-Fuc, L-Ara, D-Xyl, D-Man, D-Gal, D-Glc, D-GalA, D-GlcA) préparés à partir de solutions à 20 mM lyophilisées (10 à 100 µL lyophilisés).

L'échantillon est ensuite chauffé pendant 90 min à 120 °C, puis refroidi jusqu'à atteindre la température ambiante. L'ATF est alors évaporé sous jet d'azote. Les traces résiduelles d'ATF sont éliminées par addition de 1 mL de méthanol ou d'acétone qui est ensuite également éliminé sous jet d'azote (bien mélanger le tube au préalable). Cette étape peut être renouvelée si nécessaire puisque le pH requis pour l'étape suivante doit être alcalin afin d'assurer une bonne réduction des monosaccharides. A cette étape, les échantillons peuvent être congelés à -20°C.

Une solution de borohydrure de sodium ou de borodeuteride de sodium (pour marquer les groupements engagés dans liaisons osidiques) à 100 mg/mL dans une solution d'hydroxyde d'ammonium à 1 M est diluée avec 5 volumes de DMSO. Six cents µL de cette solution diluée sont ajoutés à l'échantillon et la solution est incubée 90 min à 45°C. Il est important de mélanger toutes les 30 min. Cent µL d'acide acétique glacial sont ajoutés pour éliminer le

NaBH₄ (ou NaBD₄) en excès sous forte agitation. Le mélange est alors additionné de 100 µL de 1-méthylimidazole et de 75 µL d'anhydride acétique. Après mélange de l'ensemble, la solution est incubée pendant 30 min à 40-45 °C avant ajout de 2 mL d'eau ultra pure (agitation forte), refroidissement puis addition de 1 mL de dichlorométhane (agitation pendant 1 min). La solution est ensuite centrifugée pendant 5 min à 3000 g et la phase supérieure est éliminée. Cette étape est répétée 5 fois afin d'éliminer les traces résiduelles de sels et de DMSO. Pour finir, la phase organique est évaporée sous jet d'azote et les AAPM repris dans 100 à 200 µL de dichlorométhane. Les AAPM sont analysés sur une colonne OPTIMA-1MS (30 m, 0,32 mm, 0,25 µm) avec un débit d'hélium de 2,3 mL/min. La pression d'hélium est fixée à 8,8 psi et le split ratio de 1 : 1 à 50 : 1 en fonction de la concentration de l'échantillon. Fixer la température initiale du four à 80 °C, pendant 2 min. Programmer une montée en température de 30 °C/min jusqu'à 170 °C. Programmer une seconde montée en température de 4 °C/min jusqu'à 240 °C et maintenir la température 20 min. L'ionisation est réalisée par Impact Electronique (EI, 70 eV), la température de la trappe est fixée à 150 °C et le target ion à 40-800 m/z. La température de l'injecteur est fixée à 250 °C.

2.4.3. Analyses spectroscopiques

2.4.3.1. Analyses par spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse physique rapide, simple à mettre en œuvre et qui ne nécessite peu d'échantillon. Certains groupements, considérés comme marqueurs, peuvent révéler la présence de certaines catégories de polysaccharides ou d'autres molécules associées (acides féruliques, lignines, protéines). Les profils des spectres IR ainsi que les intensités relatives des bandes d'absorption obtenues lors de l'analyse des polysaccharides de même structure sont similaires.

Les analyses ont été réalisées avec un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) de type VERTEX 70 FT-IR. Le polysaccharide sec extrait des cladodes de *C. triangularis* est déposé sur un ATR A225 diamant. Les spectres IR (60 scans) ont été enregistrés à température ambiante avec une gamme de nombre d'onde allant de 500-4000 cm⁻¹. Les spectres ont été analysés avec le logiciel OPUS 7.2.

2.4.3.2. Analyses par Résonance Magnétique et Nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été enregistrés sur un appareil de type Brüker Avance III 600.

Vingt mg de polysaccharides de *C. triangularis* ont été préalablement solubilisés dans 500 µL de D₂O puis séchés. Cette étape a été répétée deux fois afin d'échanger les hydrogènes des groupes hydroxyles par du deutérium dans le but de faciliter l'analyse RMN.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm; les constantes de couplage sont exprimées en Hz. Les programmes de séquences impulsionsnelles standards fournies par Brüker ont permis de réaliser les expériences proton, carbone, DEPT et bidimensionnelles COSY, NOESY, HSQC et HMBC.

2.5. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES POLYSACCHARIDES

2.5.1. Détermination de la masse moléculaire par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de lumière (SEC/MALLS)

La détermination de la masse molaire des polysaccharides a été réalisée en chromatographie d'exclusion stérique (CES) couplée à un détecteur de diffusion de la lumière multiangles (SEC MALLS : Size Exclusion Chromatography-Multi-Angle Laser Light Scattering) et d'un réfractomètre différentiel.

Cette technique consiste à séparer les macromolécules par CES et à déterminer leur masse molaire par un détecteur à diffusion de lumière multi-angles et un réfractomètre différentiel positionnés en sortie de colonne. Les macromolécules vont diffuser la lumière d'une source laser. Cette diffusion est variable selon la conformation de la macromolécule.

Des photodiodes placées à des angles caractéristiques recueillent le signal qui permet d'accéder à la masse moléculaire de la molécule analysée.

Le logiciel Astra donne les variations de l'intensité de la lumière diffusée au niveau de chaque photorécepteur. La relation générale de la diffusion de la lumière est donnée par l'équation de Zimm (1948) :

$$\frac{Kc}{\Delta R_0} = \frac{1}{\overline{Mw}} + \frac{16\pi^2 n_0^2}{3\lambda_0^2} \times \frac{Rg^2}{\overline{Mw}} \times \sin^2 \frac{\theta}{2} + 2A_2c + 3A_3c^2 + \dots$$

$$\text{Où } K = \frac{2\pi^2}{\lambda_0^4 N_a} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2$$

ΔR_0 : rapport de Rayleigh ;

C : concentration de polymère (g/mL) ;

$\overline{Mw}$: masse molaire moyenne en poids du polymère ;

R_g : rayon de giration (nm) ;

n_0 : indice de réfraction du solvant ;

λ_0 : longueur d'onde du faisceau incident (nm) ;

N_a : nombre d'Avogadro ;

dn/dc : incrément d'indice de réfraction ;

θ : angle d'observation par rapport à la lumière incidente ;

A_2 : second coefficient du viriel.

Les mesures de diffusion de la lumière aux angles multiples (MALLS) ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre mini DAWN. Ce système, équipé d'une source laser et d'une cellule K5 de 50 μ L (Wyatt Technologie Corp, Santa Barabara, CA) permet de mesurer simultanément l'intensité diffusée à 3 angles différents, grâce à des photodiodes installées à des angles fixes (45°, 90°, 180°). Des colonnes Shodex OH-PAK SB-803-HQ, SB-804-HQ et SB-806-HQ (phase stationnaire ; gel de polyhydroxyméthyleméthacrylate, dimensions : 8 mm x 300 mm), précédées d'une précolonne OH-PAK SB-G (6 mm x 50 mm) ont été utilisées pour analyser les polysaccharides faisant l'objet de cette étude.

Les polysaccharides sont mis en solution dans les éluants de chromatographie utilisés pour leur analyse, à savoir du nitrate de sodium 0,1 M pH 4,5 (filtré préalablement sur 0,02 μ m).

Le dispositif expérimental comprend un réservoir de solvant, une pompe (Shimadzu LC-20AD), un préfiltre d'une porosité de 0,1 μ m destiné au solvant et un injecteur Rhéodyne (boucle d'injection 100 μ L). Le débit fixé par la pompe est de 0,5 mL/min. Les échantillons sont filtrés sur une membrane de 0,45 μ m de porosité puis sont injectés.

Le spectrophotomètre mini DAWN est placé en sortie du dispositif SEC. Il est suivi d'un détecteur réfractométrique (Shimadzu RID-10A). La double détection permet de déterminer en continu pour chaque volume d'élution, la masse molaire et la concentration des fractions de polymère séparées. L'ensemble des acquisitions est collecté et exploité par le logiciel Astra 4.50.

La masse molaire en poids d'une fraction isomoléculaire est obtenue à tout moment par la droite d'extrapolation à angle nul de la courbe du diagramme de Zimm, grâce aux photodiodes détectant simultanément l'intensité de la lumière diffusée à 3 angles différents.

Il est possible d'atteindre les masses molaires moyennes en nombre et en poids ainsi que l'indice de polymolécularité de l'échantillon en intégrant la totalité du signal obtenu.

Les mesures en SEC-MALLS durant cette thèse ont été réalisées au sein du Laboratoire BIOPI de l'Université de Picardie Jules Verne.

Dans le cas des mesures de masses moléculaires couplées à des évaluations de la viscosité intrinsèque réalisées au Laboratoire Polymères Biopolymères Membranes de l'Université de Rouen, un matériel analytique similaire au précédent a été utilisé avec une détection supplémentaire. La chaîne chromatographique utilisée était composée d'un dégazeur (DGU-20A3 Shimadzu, Japon), d'une pompe HPLC (LC10Ai Shimadzu, Japon) éluant à 0,5 mL/min, d'un injecteur automatique (SIL-20A Shimadzu, Japon), de 2 colonnes Shodex en série (OHpack SB806HQ et SB804HQ ou SB802.5HQ et SB804HQ en fonction de la taille des macromolécules à analyser), d'un détecteur de diffusion de lumière multiangles : MALS (Dawn HELEOS II, Wyatt Technology Corp., Ca, USA), équipé d'une cellule K5 de 50 μ L, et de 18 diodes de mesure, et enfin d'un viscosimètre (viscostar II, Wyatt Technology Corp., Ca, USA), détecteur réfractométrique différentiel (DRI) : RID 10A Shimadzu, Japon.

2.6. ETUDE RHEOLOGIQUE DES POLYSACCHARIDES DE *Cereus triangularis*

2.6.1. Rhéologie

La rhéologie est l'étude de l'écoulement ou de la déformation des produits sous l'effet des contraintes qui leur sont appliquées.

La force appliquée par unité de surface d'un fluide correspond à la contrainte de cisaillement τ (Pa ou N.m⁻²), grandeur définie en tout point du matériau. Elle est représentée au niveau de l'équation suivante :

$$\tau = \frac{F}{S} = \eta \frac{dv}{dz} = \eta \dot{\gamma}$$

Avec :

$\dot{\gamma}$: taux de cisaillement "shear rate" (s⁻¹) ;

η : viscosité dynamique (Pa.s) ;

F : force de frottement visqueux qui s'exerce à la surface de séparation de deux couches qui s'opposent au glissement d'une couche sur l'autre (N) ;

S : surface en contact avec le fluide (m²) ;

d_v : différence de vitesse entre les deux couches (m.s⁻¹) ;

d_z : distance séparant les deux couches de fluides contiguës (m).

La viscosité peut être définie comme la résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'une matière. La viscosité dynamique correspond à la contrainte

de cisaillement qui accompagne l'existence d'un gradient de vitesse d'écoulement dans la matière. Lorsque la viscosité augmente, la capacité du fluide à s'écouler diminue. L'unité de viscosité est le Pa.s.

La viscosité dynamique (ou viscosité apparente) peut être exprimée selon l'équation :

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Avec :

η : viscosité dynamique (Pa.s) ;

τ : contrainte de cisaillement (Pa) ;

$\dot{\gamma}$: taux de cisaillement "shear rate" (s⁻¹).

Alors que la viscosité dynamique d'un fluide ne dépend que de τ et $\dot{\gamma}$, on parle de viscosité apparente d'un liquide lorsque η varie avec le taux de cisaillement auquel il est soumis.

La manière dont la viscosité apparente change va permettre de définir le comportement rhéologique du liquide (**Figure 26**).

En effet, l'évolution de la viscosité apparente avec le taux de cisaillement peut être représentée par des comportements types qui permettent de distinguer 4 catégories de fluide :

- les fluides newtoniens : leur viscosité est indépendante du taux de cisaillement ;
- les fluides plastiques ou fluides à seuil : le seuil représente la limite d'énergie qu'il faut franchir afin que l'écoulement ait lieu ;
- les fluides pseudoplastiques ou rhéofluidifiants : ces fluides présentent une diminution de la viscosité avec l'augmentation du taux de cisaillement ;
- les fluides rhéoépaississants : ces fluides présentent une augmentation de la viscosité lorsque le taux de cisaillement augmente.

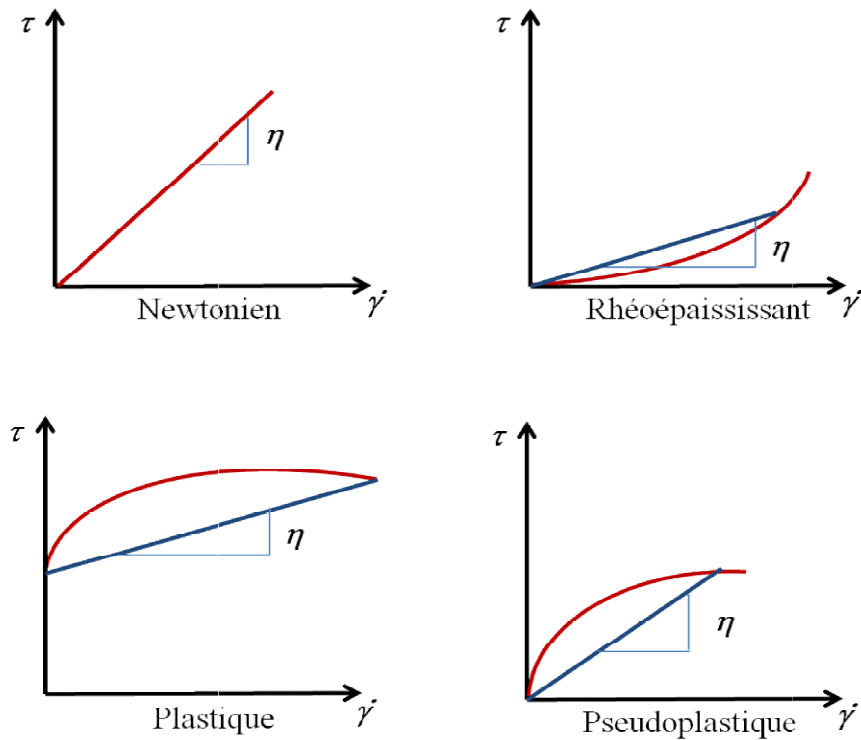


Figure 26 : Comportements rhéologiques de liquides aux propriétés physiques différentes

L'étude rhéologique des solutions de polysaccharides permet aussi de déterminer leur concentration critique de recouvrement C^* , c'est-à-dire la concentration de transition entre le régime dilué et semi-dilué (**Figure 27**). Quand C^* est atteint, des enchevêtrements de polysaccharides entrent en jeu et les polymères sont plus sensibles à un stress physique. Cela se traduit par une augmentation de la viscosité de la solution. La C^* d'un polysaccharide est obtenue en traçant la relation $\log \eta_{sp} = f(\log C)$, η_{sp} étant la viscosité spécifique mesurée à cisaillement nul et C étant la concentration du polymère.

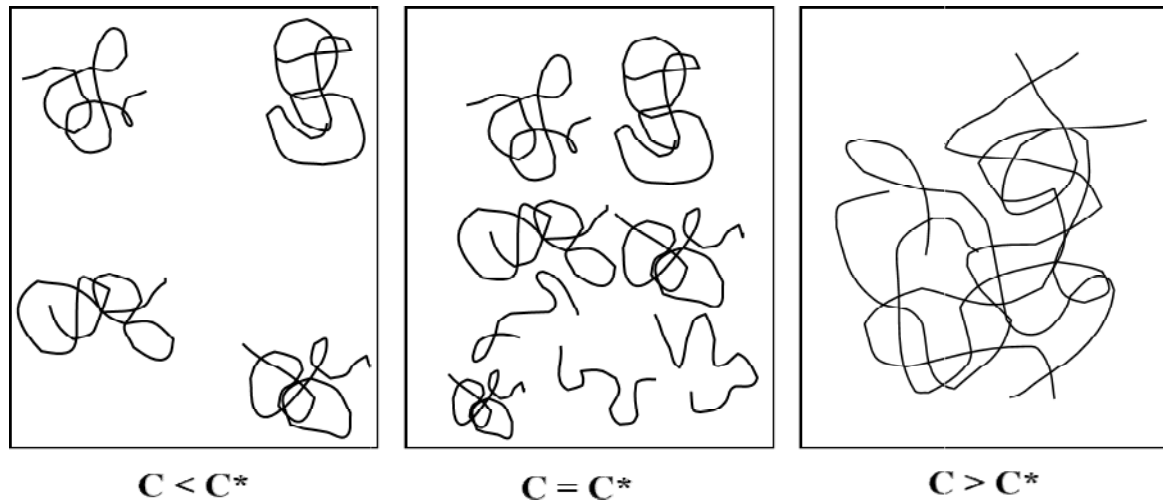


Figure 27 : Etats d'enchainement des polymères en fonction de la concentration

La viscosité intrinsèque d'un polymère notée $[\eta]$ représente la perturbation de l'écoulement de la solution due à une seule macromolécule isolée. C'est une grandeur microscopique. On définit $[\eta]$ de la façon suivante:

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{\text{red}} = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta - \eta_0}{C \eta_0}$$

$$\eta_{\text{red}} = \frac{\eta_{\text{sp}}}{C} = \frac{\eta - \eta_0}{C \eta_0}$$

$$\eta_{\text{sp}} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0}$$

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0}$$

Avec :

η_0 : Viscosité absolue du solvant pur (Pa.s), dans notre cas, la viscosité de l'eau ($\eta_0 = 10^{-3}$ Pa.s).

η_r : Viscosité relative (Pa.s)

η_{spe} : Viscosité spécifique (Pa.s)

η_{red} : Viscosité réduite (Pa.s)

$[\eta]$: Viscosité intrinsèque (mL/g)

La viscosité intrinsèque est obtenue par extrapolation à concentration nulle de la viscosité réduite. Elle rend compte du volume hydrodynamique occupé par une macromolécule dans le solvant considéré. Elle est exprimée en mL/g.

Cette variation linéaire $\eta_{sp}/C=f(C)$ est obtenue à partir de l'équation de Huggins:

$$\eta_{sp}/C= [\eta]+ k'[\eta]^2C+\dots$$

Avec k' = constante de Huggins.

Sur la représentation de Huggins ($\eta_{sp}/C= f(C)$), la viscosité intrinsèque est obtenue en prenant la valeur de l'ordonnée à l'origine. La pente est représentative du paramètre d'Huggins (k'). Par ailleurs, la viscosité intrinsèque est directement proportionnelle au volume hydrodynamique des macromolécules en solution. La constante de Huggins traduit les interactions polymère-polymère.

2.6.2. Mesure de la viscosité

Des mesures de viscosités apparentes de solutions de polysaccharides extraits de *C. triangularis* de concentrations comprises entre 1 et 10 % (m/v) ont été réalisées en utilisant un rhéomètre AR-2000 (TA Instrument) avec un module de géométrie plan/plan de diamètre 40 mm (**Figure 28**).

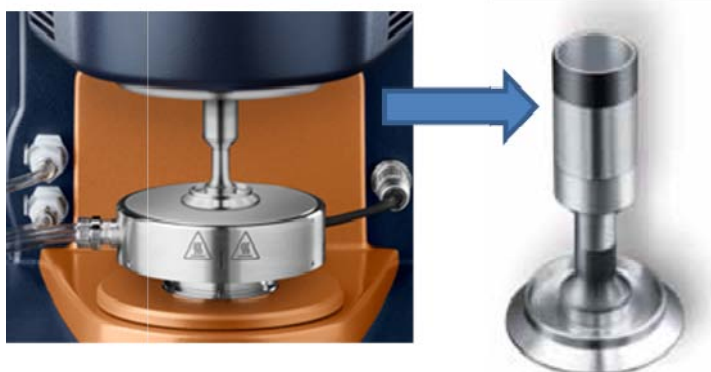


Figure 28 : Rhéomètre de géométrie plan/plan

La résistance du produit s'observe au niveau de l'entrefer (distance entre les deux plans). L'entrefer du système (ou gap) est de 5 mm. Une cartographie du système appelée "rotational mapping" est réalisée à chaque fois que le rhéomètre est mis en fonction. Dans le cas d'un rhéomètre à géométrie plan/plan, on considère deux plaques planes parallèles séparées par

une mince couche de liquide. La plaque inférieure est maintenue au repos et la plaque supérieure se déplace d'un mouvement de rotation uniforme de vitesse ω (s^{-1}). Les différentes couches de liquide sont entraînées par le mouvement de la plaque à des vitesses différentes selon leur position par rapport à la plaque mobile.

Des forces de résistance au déplacement apparaissent entre les différentes couches de liquide ; elles sont fonction de la nature du liquide et donc de sa viscosité. Le nombre d'itérations choisi est de 2 et le système est en mode " soft " pour une meilleure sensibilité.

Les données de viscosité sont recueillies et analysées en utilisant le logiciel de rhéologie "Rheology Advance software" et le modèle de Williamson (Williamson, 1929) :

$$\eta = \frac{\eta_0}{(1 + (\kappa\dot{\gamma})^n)}$$

Avec :

$\dot{\gamma}$: taux de cisaillement " shear rate " (s^{-1}) ;

η : viscosité apparente (Pa.s) ;

η_0 : viscosité à cisaillement nul (Pa.s) ;

k : constante de temps (s) ;

n : indice de fluidité.

C^* (g/L) est déduite du tracé en échelle logarithmique de la viscosité spécifique par rapport à la concentration du polymère. La rupture de la pente donne accès à C^* .

Le rhéomètre utilisé est équipé d'un système de contrôle de température à effet Peltier. La viscosité est mesurée dans la gamme de cisaillement 10^{-3} à $10^2 s^{-1}$ à plusieurs températures. Les mesures ont été réalisées en triplicat. Les données sont traitées à l'aide du logiciel "TA instrument Rheology Advantage Data Analysis software".

Mesure de la viscosité complexe

Les mesures en mode dynamique (ou oscillatoire) permettent d'appliquer des déformations faibles de sorte que la linéarité entre la contrainte et la déformation soit respectée. Le principe consiste à soumettre l'échantillon à une déformation sinusoïdale (γ) au cours du temps. La contrainte résultante (σ) est également sinusoïdale et de même fréquence (ω) mais présentant un déphasage ou angle de perte (δ) :

$$\gamma = \gamma_0 \sin \omega t$$

$$\sigma = \sigma_0 \sin(\gamma + \delta)$$

Avec :

γ : déformation (s^{-1})

γ_0 : amplitude de la déformation (s^{-1})

ω : fréquence ($rad.s^{-1}$)

σ : contrainte (Pa)

σ_0 : amplitude de la contrainte (Pa)

δ : déphasage ou angle de perte (rad)

Trois cas sont possibles :

$\delta=0$, le matériau se rapproche d'un solide de Hooke. En réponse à une contrainte et quelle que soit la vitesse appliquée, il se déforme de manière élastique instantanément et proportionnellement à la contrainte (phénomène indépendant du temps).

$\delta = \pi/2$, le matériau est un fluide visqueux. En réponse à une sollicitation, il s'écoule irréversiblement.

$0 < \delta < \pi/2$, alors le matériau possède à la fois un comportement élastique et visqueux, il est viscoélastique.

La présentation de la déformation et de la contrainte par des vecteurs tournants permet de représenter γ et σ pour des modules complexes (*):

$$\gamma^* = \gamma_0 e^{i\omega t}$$

$$\sigma^* = \sigma_0 e^{(i\omega t + \delta)}$$

On peut alors définir le module complexe de cisaillement :

$$G^* = \frac{\sigma^*}{\gamma^*} = G' + iG'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} (\cos \delta + i \sin \delta)$$

$$G' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cos \delta, \quad G'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \sin \delta$$

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

G' (Pa) est la composante élastique (appelée module de conservation, représentant l'énergie emmagasinée sous forme élastique) et G'' (Pa) la composante visqueuse (appelée module de perte, représentant l'énergie dispersée donc irrécupérable sous forme d'écoulement visqueux) de G^* . On définit $\tan \delta$ comme le facteur de perte.

Les mesures viscoélastiques dynamiques ont été réalisées en utilisant le rhéomètre AR-G2 (TA Instruments, France) à géométrie plan/plan sur des solutions de polysaccharide allant de 2,5 % et 5 % (m/v) dans l'eau et dans divers solutions salines (KCl 0,5 M ; NaCl 0,5 M). Elles ont permis de caractériser leur comportement viscoélastique en mesurant les modules de conservation (ou module élastique) G' (Pa) et de perte (ou module visqueux) G'' (Pa).

2.7. PRODUCTION D'OLIGOSACCHARIDES

2.7.1. Enzymes et substrats

2.7.1.1. Enzymes

Pour produire des oligosaccharides, deux enzymes commerciales ont été utilisées :

- une endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN) d'*Aspergillus niger* (Megazyme International Ireland) d'activité spécifique 400 U.mg⁻¹ (40°C, pH 4 sur le galactane de pomme de terre).
- une endo- β -(1,4)-galactanase (E-GALCT) de *Clostridium thermocellum* (Megazyme International Ireland) d'activité spécifique 15 U.mg⁻¹ (40°C, pH 4,5 sur le galactane de pomme de terre).

L'unité d'activité galactanase (U) est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer une μ mole de galactose par minute.

2.7.1.2. Substrats

Pour valider les activités enzymatiques des enzymes, deux substrats ont été utilisés :

- Un β -(1,4)-D-galactane de pomme de terre de (P-GALPOT) (Lot 120501b) (Megazyme International Ireland). Ce galactane était composé de Gal : Ara : Rha : GalUA avec le ratio 87 : 3 : 4 : 6.
- Un β -(1,4)-D-galactane (P-PGAPT) (Lot 80503c) (Megazyme International Ireland). Ce galactane était composé de Gal : Ara : Rha : GalUA avec le ratio 82 : 6 : 3 : 9.

2.7.2. Méthodologies

2.7.2.1. Hydrolyses enzymatiques avec l'endo- β -(1,4)-galactanase d'*A. niger*

0,2 g de substrat sont solubilisés à 40 °C dans 19,8 mL de tampon acétate de sodium tri hydraté (100 mM, pH4) sous agitation à 600 rpm à l'aide d'un Radley Tech pendant 1 heure. 200 μ L de solution d'enzyme (130 U) d'*A. niger* sont ajoutés à la solution de polysaccharide. Des prélèvements sont réalisés régulièrement entre 0 et 8 heures d'incubation du mélange à 40 °C. Chaque prélèvement est inactivé en l'incubant 5 min à 100 ° C avant congélation à -20 °C.

2.7.2.2. Hydrolyses enzymatiques avec l'endo- β -(1,4)-galactanase de *C. thermocellum*

0,2 g de substrat sont solubilisés à 40 °C dans 19,79 mL de tampon acétate de sodium tri hydraté (100 mM, pH4) sous agitation à 600 rpm à l'aide d'un Radley Tech pendant 1 heure. 210 μ L de solution d'enzyme (125 U) de *C. thermocellum* sont ajoutés à la solution de polysaccharide.

Des prélèvements sont réalisés régulièrement entre 0 et 8 heures d'incubation du mélange à 40 °C. Chaque prélèvement est inactivé en l'incubant 5 min à 100 ° C avant congélation à -20 °C.

Le suivi des hydrolyses enzymatiques (rendement d'hydrolyse) est réalisé par le dosage des sucres réducteurs et des sucres totaux. Par ailleurs, afin d'obtenir des informations plus précises (degré de polymérisation (DP) et masse moléculaire (Mw)), l'analyse des produits issus de l'hydrolyse enzymatique a été effectuée par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) et par chromatographie échangeuse d'anions (HPAEC).

2.7.3. Analyses chromatographiques par HPLC-SEC et HPAEC des produits issus de l'hydrolyse enzymatique

2.7.3.1. Analyse HPLC-SEC des hydrolysats enzymatiques

L'HPLC-SEC a été réalisée sur deux colonnes TSKgel G5000PWXL (10 μ m, 7,8 x 300 mm) et TSKgel G3000PWXL (10 μ m, 7,8 x 300 mm) (Tosoh Bioscience) couplées en série. Ces deux colonnes sont précédées d'une colonne de garde TSKgel PWXL (12 μ m, 6,0 x 40mm) et thermostatées à 30°C. La chaîne HPLC est de type Hewlett Packard series 1100 équipée des modules suivants : G1322A Degasser, G1311A QuatPump, G1315B DAD (lampes UV-Visible), G1316A Chauffe Colonne, G1329A Injecteur/Passeur et G1362A RID. Les colonnes étaient éluées avec une solution de NaNO₃ 0,1 M filtrée à 0,45 μ m en mode

isocratique avec un débit de 1 mL/min. Le détecteur utilisé était un refractomètre (DRI). Des solutions à 10 g/L de dextrans (6 kDa, 40 kDa, 70 kDa, 150 kDa, 200 kDa, et 500 kDa (Sigma)) et de raffinose (Sigma) ont été utilisées comme standards. Les échantillons et les standards filtrés sur 0,45 μ m ont été injectés dans une boucle de 20 μ L.

2.7.3.2. Analyse HPAEC (Dionex) des hydrolysats

Les groupements hydroxyles des oses (-OH) peuvent s'ioniser en oxyanions ou alcoolates ($-O^-$) à des pH supérieurs au pKa des monosaccharides. Sous cette forme ils peuvent être séparés selon leur affinité avec une phase stationnaire constituée d'ammoniums quaternaires qui jouent le rôle d'échangeurs d'anions. La détection par ampérométrie pulsée permet de détecter des composés contenant des groupements oxydables.

Le principe consiste à mesurer le courant électrique généré par les molécules oxydées à la surface d'une électrode en or. Pour cela, une séquence de trois potentiels (**Figure 29**) est appliquée à l'électrode : tout d'abord le potentiel E1 permet de mesurer le courant dû à l'oxydation du sucre (**Figure 30**). Ensuite, ce potentiel est augmenté au niveau E2 de manière à oxyder la surface de l'électrode et éliminer le sucre. Il est ensuite abaissé au niveau E3 afin de réduire la surface de l'électrode.

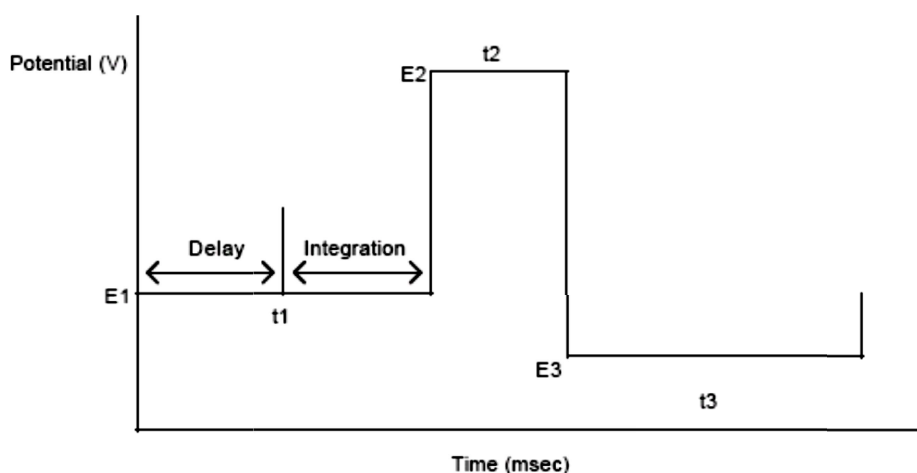


Figure 29 : Diagramme des potentiels appliqués à l'électrode d'or d'un détecteur ampérométrique pour la détection des sucres (WWW.dionex.com)

L'appareillage utilisé est une chaîne de chromatographie ionique ICS 3000 (Dionex Corporation, Sunnyvale (CA), USA) composée d'un module de pompe pouvant fonctionner en gradient et d'un détecteur ampérométrique pulsé (HPAE-PAD). La boucle d'injection fait

25 µL. L'acquisition des données et leur traitement sont réalisés par le logiciel Chromeleon (version 6.8).

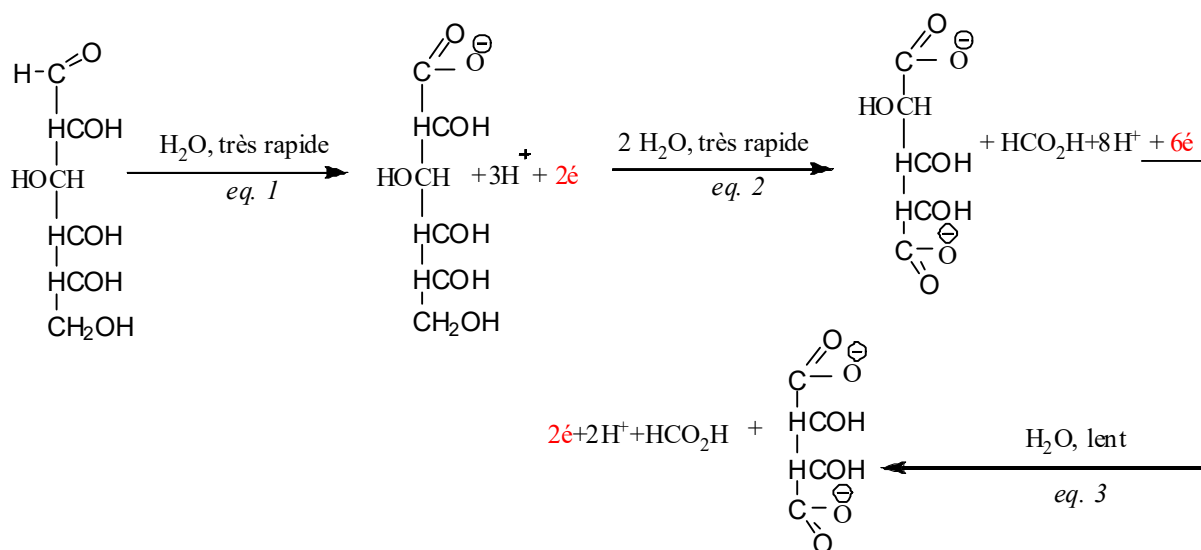


Figure 30 : Colonne CarboPac PA1 (Dionex 4 x 250 mm)

La phase stationnaire est constituée de billes de polystyrène et divinylbenzène de 10 µm de diamètre sur lesquelles sont agglomérées des particules fonctionnalisées par des groupements NR_4^+ . Cette composition constitue une phase stationnaire très résistante permettant d'atteindre des pressions stables de 4 000 psi (275 bars) dans une gamme de pH de 0 à 14.

L'analyse des oses neutres a été conduite sur des hydrolysats de polysaccharides. Tous les échantillons ont été filtrés à 0,22 µm avant injection.

L'élution des échantillons avait lieu en mode isocratique par une solution de NaOH décarbonatée à 16 mM pendant 20 min à un débit de 0,5 mL/min. Après chaque élution, une chasse de 30 min avec une solution de NaOH à 100 mM était réalisée pour éluer les éventuels contaminants encore en interaction avec la phase stationnaire. Avant chaque analyse la colonne était équilibrée pendant 10 min avec la solution de NaOH 16 mM. Des standards (galactose et galactobiose) ont été utilisés pour identifier les temps d'élution respectifs de ces composés.

2.7.3.3. Analyse des AU

L'analyse des acides uroniques a été réalisée sur des hydrolysats de polysaccharides en utilisant une précolonne CarboPac PA1 (Dionex 4 x 50 mm) et une colonne CarboPac PA1 (Dionex 4 x 250 mm). Tous les échantillons sont filtrés à 0,22 µm avant injection (25 µL). Les oses acides sont élués par un gradient binaire à 0,5 mL/min :

Eluant A : Solution d'hydroxyde de sodium à 100 mM ;

Eluant B : Solution d'acétate de sodium ($C_2H_3NaO_2$) 1 M dans l'éluant A (NaOH 100 mM).

Le programme d'analyse est : 100 % de A pendant 5 min, suivi d'un gradient linéaire de B dans A de 0 à 100 % pendant 60 min, puis 100 % de B maintenus pendant 10 min.

2.8. ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

2.8.1. Test de digestibilité *in vitro* des polysaccharides issus de *Cereus triangularis*

Le concept de prébiotique a été initialement présenté par Gibson et Roberfroid (1995). Il désigne un ingrédient alimentaire non digestible qui affecte avantageusement l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de bactéries dans le colon. Depuis, la définition a été affinée par Gibson *et al.*, (2004) et les prébiotiques sont maintenant définis en tant qu'ingrédients sélectivement fermentés qui permettent des changements spécifiques de la composition et/ou de l'activité du microbiote gastro-intestinal et qui confèrent un bien-être à l'hôte. Pour recevoir l'allégation prébiotique, un ingrédient alimentaire doit (i) résister à l'acidité gastrique, à l'hydrolyse par les enzymes des mammifères et à l'absorption gastro-intestinale, (ii) être fermenté par le microbiote intestinal, (iii) stimuler sélectivement la croissance et/ou l'activité des bactéries intestinales associées avec la santé et le bien-être. L'objectif est de réduire la quantité d'espèces potentiellement nocives ou pathogènes pour la santé de l'hôte (Gibson et Roberfroid, 1995).

La digestibilité des polysaccharides est étudiée en calculant le degré de leur hydrolyse après incubation avec le jus gastrique humain artificiel. L'inuline et les fructooligosaccharides (FOS) sont utilisés comme référence.

Chaque composé est dissous en solution à 1 % (m/v) dans l'eau distillée et leur digestibilité est testée selon la méthode décrite par Korakli *et al.* (2002). Un jus gastrique artificiel est préparé en utilisant un tampon HCl contenant des réactifs suivant : NaCl (8 g/L), KCl (0,2 g/L), $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (8,25 g/L), $NaHPO_4$ (14,35 g/L), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,1 g/L) et $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,18 g/L).

Le pH du tampon est ajusté à 1, 2, 3, 4 et 5 en utilisant une solution d'HCl (5 M). Un mL de l'échantillon est mélangé avec 5 mL du jus gastrique artificiel pour tous les pH et le mélange réactionnel est incubé dans un bain-marie à une température de 37 °C durant 6 h. Cinq cent μ L du mélange réactionnel sont prélevés périodiquement après 0, 0,5, 1, 2, 4 et 6 h d'incubation dans un système d'agitation thermostaté de type Radley (Type parallèle, carrousel 12 plus) et leur contenu en sucres réducteurs et en sucres totaux sont déterminés. Les analyses sont réalisées en triplicata.

Le pourcentage d'hydrolyse de l'échantillon est calculé en se basant sur le contenu en sucres réducteurs libérés et le contenu en sucres totaux de l'échantillon :

$$\% \text{ Hydrolyse} = \frac{[\text{Sucres réducteurs libérés}]}{[\text{Sucres totaux}] - [\text{Sucres réducteurs initiaux}]} \times 100$$

2.8.2. Etudes des propriétés prébiotiques des polysaccharidiques et oligosaccharidiques issus de *C. Triangularis*

Lactobacillus rhamnosus GG ATCC 53103 a été utilisé pour étudier les propriétés prébiotiques potentielles des extraits polysaccharidiques et oligosaccharidiques issus de *C. triangularis*. Cette bactérie est un microorganisme anaérobie facultatif, appartenant à un genre commensal du tractus intestinal. La température de croissance a été fixée à 37°C.

Conditions de culture de la souche microbienne

Milieux de culture

Le milieu de culture utilisé est le milieu de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) à pH 6,3 dont la composition est donnée dans le **Tableau 13**. Le milieu est stérilisé par autoclavage durant 20 min à 120 °C. Les substrats carbonés étaient soit les extraits à tester (oligofructoses (FOS F97), inuline, ou polysaccharides et oligosaccharides de *Cereus triangularis*), soit du glucose à la concentration de 2 % (m/v). Les différents substrats carbonés ont été testés en présence et en absence d'acide ascorbique utilisé comme agent réducteur à 0,2 % (m/v).

Tableau 10 : Composition du milieu MRS

Milieu	Constituant	Quantité
MRS	Peptone animale (Fluka)	10 g
	Extrait de viande (Fluka)	8 g
	Extrait de levure (Fluka)	4 g
	K ₂ HPO ₄	2 g
	CH ₃ COONa, 3H ₂ O	5 g
	Citrate de triammonium	2 g
	MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,2 g
	MnSO ₄ , H ₂ O	0,05 g
	TWEEN 80	1 mL

Le milieu MRS et le polysaccharide de *Cereus triangularis* ont été autoclavés tandis que les solutions de glucose, d'inuline, de FOS et d'oligosaccharides de *Cereus triangularis* et de vitamine C ont été filtrées à 0,22 µm.

Mode opératoire

La culture de *Lactobacillus rhamnosus* a été préparée à partir de 1 mL de culture en phase exponentielle sur milieu MRS (*Lactobacillus rhamnosus*) utilisé pour inoculer 10 mL de milieu MRS. Ces 10 mL de culture ont été incubés pendant 48 à 72 heures à 37 °C. La croissance microbienne a été suivie en mesurant son absorbance à 600 nm.

Cette culture est utilisée pour les tests prébiotiques après dilution dans le milieu MRS sans sucre à une DO égale à 0,1. Vingt µL de cette culture sont utilisés pour inoculer 180 µL de milieu MRS contenant des sucres à tester dans des puits de microplaques. Le mélange est ensuite additionné de 55 µL d'huile minérale (Silicone) pour empêcher l'évaporation du milieu. La croissance bactérienne est suivie par mesure d'absorbance à 600 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques de type bioscreen (PerklinElmer) sur une période de 32 h. Les tests sont réalisés en triplicat.

2.8.3. Tests antibactériens

2.8.3.1. Milieux de cultures

2.8.3.1.1. Milieux pour le test antibiogramme

Le milieu gélosé (PCA, BK144HA BIOKAR diagnostics – **Annexe 1**) a été utilisé pour mettre en évidence l'activité des extraits vis-à-vis de germes pathogènes. Le milieu est stérilisé à 120 °C pendant 20 min.

2.8.3.1.2. Milieu d'enrichissement

Le milieu qualifié de « Bouillon nutritif » (Buffered Peptone Water, AEB140302) dont la composition est détaillée en **Annexe 1** est un milieu liquide utilisé pour revivifier les souches microbiennes. Le milieu est stérilisé à 120°C pendant 20 min.

2.8.4. Tests des activités antimicrobiennes

2.8.4.1. Principe

La méthode de diffusion sur gélose est une méthode préliminaire permettant de repérer les produits qui sont actifs sur les souches indicatrices et d'évaluer la sensibilité de ces souches. Elle consiste à déposer, sur une culture de germes indicateurs préalablement ensemencés, des

disques imbibés d'extrait de polysaccharide. La diffusion de l'extrait sur le milieu peut inhiber la croissance des souches à tester. Pour les bactéries et les levures, une zone claire ou zone d'inhibition est observée lorsque l'extrait est actif, la mesure du diamètre de la zone d'inhibition permet d'évaluer la sensibilité de ces germes qui peut varier en fonction de la souche testée (Duval et Soussy, 1990; Ferron, 1994).

2.8.4.2. Mode opératoire

2.8.4.2.1. Caractéristiques des souches

Le polysaccharide extrait de *C. triangularis* a été testé sur 7 souches bactériennes et une levure disponibles au Laboratoire de Microbiologie de l'Université d'Antananarivo Saint Joseph Antsirabe (ASJA) à Madagascar (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Caractéristiques des souches testées pour les activités antimicrobiennes

Souches	Coloration de Gram
BACTERIES	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> -
	<i>Escherichia coli</i> -
	<i>Salmonella typhimurium</i> -
	<i>Staphylococcus aureus</i> +
	<i>Shigella dysenteriae</i> -
	<i>Streptococcus thermophilus</i> +
	<i>Vibrio cholerae</i> -
LEVURE	<i>Candida albicans</i>

2.8.4.2.2. Revivification des souches

Les souches microbiennes étaient revivifiées dans 10 mL de bouillon nutritif puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. La turbidité du bouillon nutritif (mesurée à 600 nm) indique le développement des souches cultivées.

2.8.4.2.3. Ensemencement et dépôt des disques

La technique par inondation ou culture en nappe est appliquée pour l'ensemencement. La surface entière du milieu solide (PCA, BK144HA, BIOKAR diagnostics) est inondée de l'inoculum à tester (Bousseboua, 2002). La culture est incubée dans une étuve à 37 °C pendant 15 min afin que les germes puissent adhérer et se développer sur le milieu.

Des disques stériles de 6 mm de diamètre sont imprégnés de 20 μ L de solution de polysaccharides à une concentration de 20 mg/mL. Les disques sont déposés sur la culture à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 heures (Nacer, 2012). Après 24 heures d'incubation, la présence de zones d'inhibition était observée et le diamètre d'inhibition était mesuré à l'aide d'une règle graduée millimétrée. Les résultats sont exprimés comme indiqué dans le **Tableau 12**.

Tableau 12: Caractérisation de la sensibilité des germes (Leipzig, 1996)

Diamètres de la zone d'inhibition (X)	Sensibilités du germe	Résultats
X < 7mm	Insensible	-
7 mm < X < 8 mm	Assez sensible	+
8 mm < X < 9 mm	Sensible	++
X > 9mm	Très sensible	+++

CHAPITRE 3 :

RESULTATS ET DISCUSSION

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. EXTRACTION ET COMPOSITION GENERALE DES POLYSACCHARIDES

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles des cladodes de *C. triangularis* a été suivie de leur purification par précipitation à l'éthanol et lavage à l'acétone. Le produit obtenu est qualifié de dépigmenté (**Figure 31**).

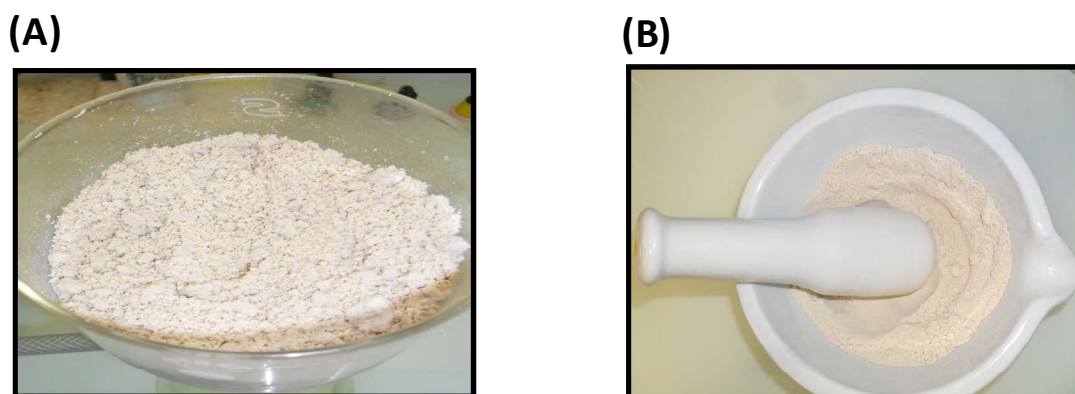


Figure 31 : Polysaccharides hydrosolubles extraits des cladodes de *C. triangularis* (A) après purification par l'éthanol et l'acétone et (B) après séchage 24 heures à 50 °C

Comme indiqué en **Figure 28** (cf. **Matériel et méthodes ; paragraphe 2.2**) nous avons réalisé une extraction aqueuse sur les cladodes de *C. triangularis* pour obtenir une première fraction de polysaccharides hydrosolubles nommée **FP1**. Elle a été suivie d'une seconde extraction à partir du culot 1 issu de la matière première végétale pour obtenir une seconde fraction de polysaccharides hydrosolubles nommée **FP2**. La **Figure 32** résume les résultats des différentes étapes du processus d'extraction.

Après avoir réalisé des extractions en triplicat, les rendements massiques moyens d'extraction ont été estimés à 12,1 % et 12,5 % pour **FP1** et **FP2** respectivement. Ces résultats permettent de conclure à un rendement final de l'ordre de 24 % après une extraction par épuisement des cladodes de *C. triangularis*. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus lors des extractions des mucilages des cladodes sèches d'autres espèces de Cactacées telles que *Opuntia* sp. et *Opuntia joconostle* où les rendements décrits étaient de 18 % et 30 % respectivement (Sepulveda *et al.*, 2007; Paiz *et al.*, 2010). Notons, que les rendements d'extraction des polysaccharides des cladodes de *C. triangularis* sont supérieurs à ceux obtenus pour les cladodes d'*Opuntia ficus-indica* avec un rendement massique de 6 % (Cardenas *et al.*, 1997), même si de manière générale, les rendements massiques en

polysaccharides hydrosolubles extraits des genres *Opuntia* sp. sont compris entre 18 et 20 % (m/m) (Sepulveda *et al.*, 2007).

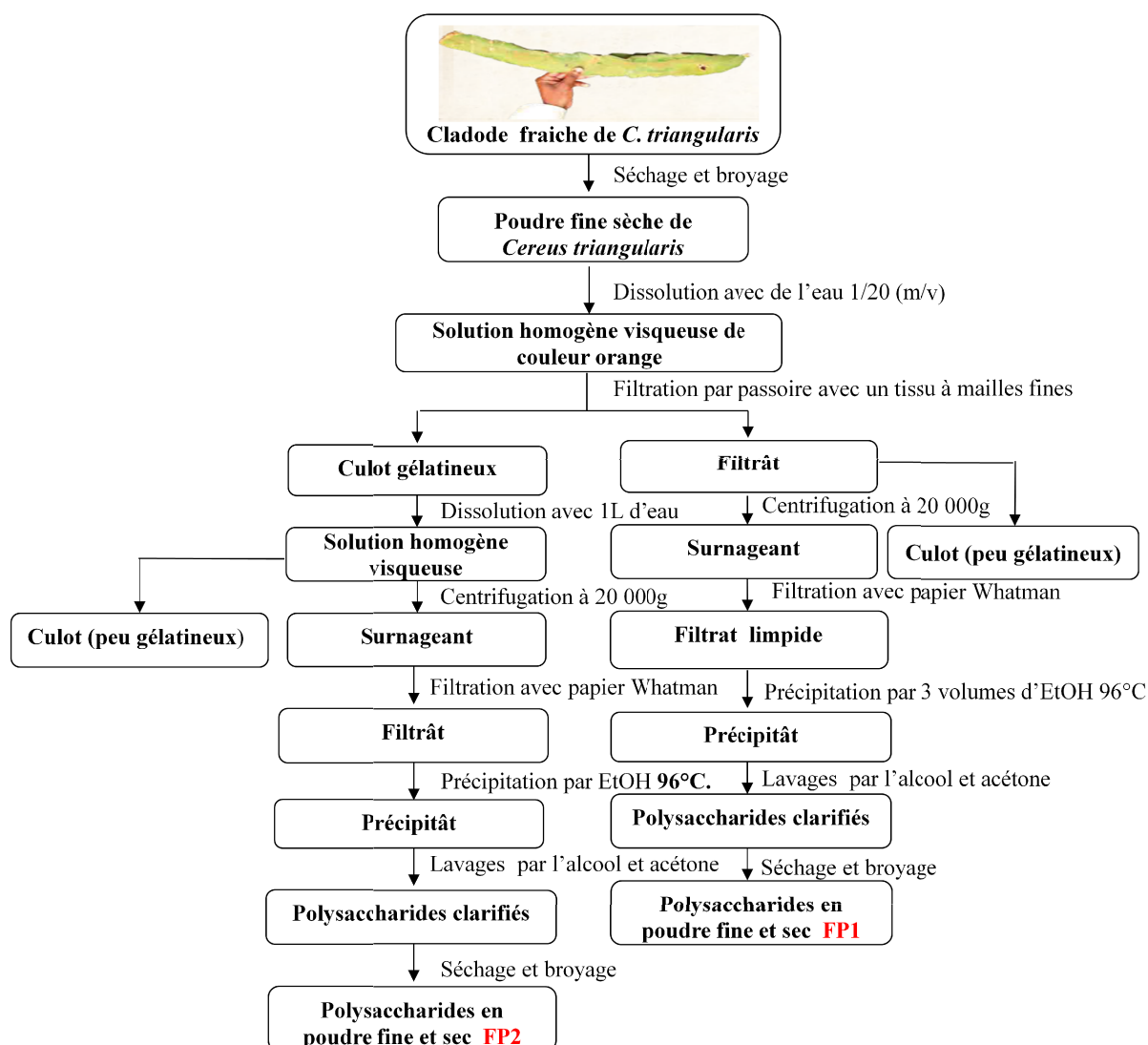


Figure 32 : Schéma général du processus d'extraction des polysaccharides des cladodes de *Cereus triangularis*

L'analyse biochimique des polysaccharides hydrosolubles extraits des cladodes de *C. triangularis* a montré que les sucres (oses neutres et oses acides) sont les principaux constituants, même si une faible teneur en protéines a été détectée. Cette première approche a permis de montrer que ce polysaccharide est composé de 85 % d'oses neutres, 2-3,5 % d'acides uroniques et 3 % de protéines (Tableau 13). Comme largement décrit dans la littérature, la composition chimique et le rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles issus des cladodes des Cactacées varient suivant diverses conditions telles que

l'environnement climatique, la localisation, l'origine géographique et la période de récolte (Svoboda et Hampson, 1999 ; Sáenz *et al.*, 2004).

Tableau 13 : Rendement et composition globale du polysaccharide hydrosoluble extrait des cladodes de *Cereus triangularis*

Rendement massique (m/m %)	Composition du polysaccharide (%)		
	Oses neutres ¹	Acides uroniques ²	Protéines ³
24,6	85	2–3,5	3

¹ Quantifiés par la méthode de Monsigny *et al.* (1988)

² Quantifiés par la méthode de Blumenkrantz et Asboe-Hansen (1973)

³ Quantifiées par la méthode de Gornall *et al.* (1949)

3.2. COMPOSITION OSIDIQUE

Ces dernières décennies, de nombreuses études ont été réalisées sur l'analyse des mucilages de plantes terrestres (Warrand *et al.*, 2005a, 2005b) et notamment ceux issus de cactus (Sáenz *et al.*, 2004; Habibi *et al.*, 2004; Nobel *et al.*, 1992). Néanmoins, jusqu'à présent, aucune d'entre elles n'a traité du mucilage de cladodes de *C. triangularis* en dépit de l'abondance de cette espèce dans les zones tropicales et notamment dans le nord de Madagascar. L'identification de la composition en monosaccharide du polysaccharide extrait de cladodes de *C. triangularis* a été étudiée par CG/SM-EI après hydrolyse acide au TFA et triméthylsilylation. La **Figure 33** présente le chromatogramme obtenu et le **Tableau 14** donne la composition en monosaccharides constitutifs du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis*.

Le polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis* est composée principalement de galactose ($55,4 \pm 4,3$ % molaire) et d'arabinose ($37,0 \pm 3,7$ % molaire) ce qui suggère la présence d'un arabinogalactanes (AG) avec un rapport Ara/Gal de 0,67.

Les traces de rhamnose ($3,8 \pm 1,2$ % molaire) et d'acide galacturonique ($1,6 \pm 0,98$ % molaire) sont attribuées à la présence d'une très faible quantité de dérivés pectiques comme souvent observé lors de la caractérisation structurale des mucilages de cladodes de Cactacées (Habibi *et al.*, 2004) mais reste caractéristique des compositions monosaccharides de ce type de mucilage généralement composés de galactose, arabinose, rhamnose et d'acide galacturonique (Sáenz *et al.*, 2004).

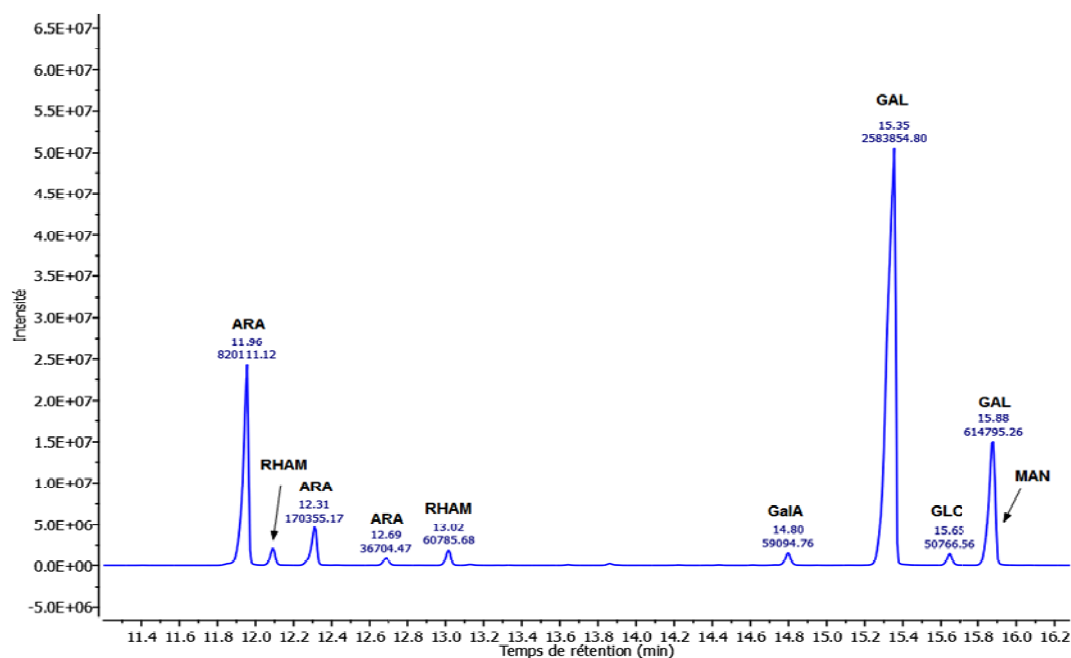


Figure 33 : Chromatogramme du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis* hydrolysé au TFA, triméthylsilylé et analysé par CG/SM-EI. Avec: ARA : arabinose ; RHAM : rhamnose ; GalA : acide galacturonique ; GAL : galactose ; GLC : glucose et, MAN : mannose

Tableau 14 : Composition en monosaccharide (% molaire) du polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis* après analyse par CG/SM-EI

Monosaccharides (% molaire)					
Gal	Ara	Rha	Glc	GalA	Man
55,40± 4,3	37,00± 3,7	3,81±1,2	1,69±0,45	1,63±0,98	0,47±0,22

Gal: Galactose; Ara: Arabinose; Glc: Glucose, Rha: Rhamnose, GalA: Acide galacturonique, Man: Mannose.

Comme décrit dans la littérature, la proportion des monosaccharides constitutifs des mucilages est fortement influencée non seulement par les procédés d'extraction et de purification, mais aussi par les zones géographiques de récolte, l'irrigation, la pluie, la température, la nature du sol et le taux d'humidité (Sáenz *et al.*, 2004). Par rapport à la composition des monosaccharides du mucilage d'autres cladodes de cactus, *C. triangularis* contient une quantité plus importante de galactose que les cladodes d'*Opuntia ficus indica* (21 % en ratio molaire) et des quantités plus faibles d'arabinose, de rhamnose et d'acide galacturonique que celles quantifiées dans le mucilage des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* avec respectivement 42 %, 7 % et 8 % en ratios molaires (Nobel *et al.*, 1992). Notons

finalement que le mucilage extrait des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* présente un rapport Ara/Gal de 2 contre 0,67 pour celui extrait des cladodes de *C. triangularis* alors que pour le mucilage des cladodes de *C. peruvianus* un ratio Ara/Gal de 0,23 est observé (Tanaka *et al.*, 2010).

3.3. METHODES SPECTROSCOPIQUES

3.3.1. Spectroscopie Infra-Rouge

L'analyse Infra-Rouge à transformée de Fourier (IR-TF) du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis* a permis de révéler de manière qualitative, la présence de groupes fonctionnels caractéristiques (**Figure 34** et **Tableau 15**).

La présence d'une large bande intense entre 3200-3500 cm^{-1} est attribuée à la vibration d'élongation des groupements hydroxyles (-OH) caractéristique des polysaccharides ainsi qu'à l'absorption de l'eau (Adel *et al.*, 2010). De faibles bandes de vibrations asymétriques des liaisons C-H sont observées entre 2800 et 3000 cm^{-1} (Brian-Jaisson, 2014). De plus, les signaux à 1730,46 et 1241-1243 cm^{-1} mettent en évidence la présence de groupes acétyles issus des résidus pectiques comme indiqué dans la littérature (Brito *et al.*, 2004).

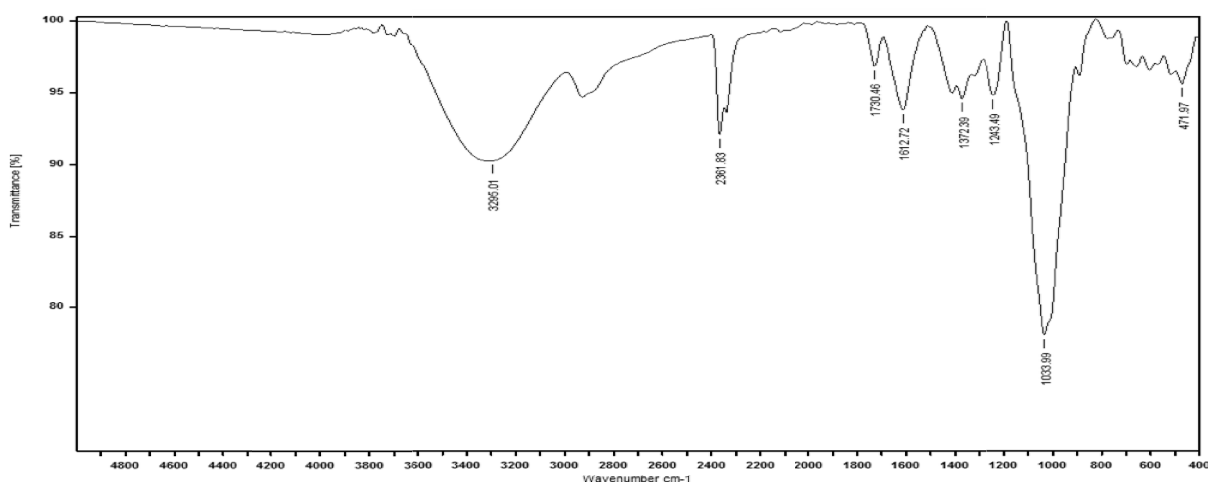


Figure 34 : Spectre IR-TF du polysaccharide extrait de cladodes de *Cereus triangularis*

De même, les absorptions observées aux alentours des 1613 cm^{-1} et 1418 cm^{-1} , sont attribuées aux groupements carboxylates ($-\text{COO}^-$) (Brito *et al.*, 2004). Dans cette zone, la large bande située à 1613 cm^{-1} correspond plus spécifiquement à la vibration d'élongation de la fonction C=O du groupement carboxylique (COOH) de l'acide galacturonique (Barka *et al.*, 2013). Le signal observé à 1372,39 cm^{-1} peut être considéré comme spécifique de la vibration d'élongation du groupement carboxylate. Finalement, les bandes observées entre 900 et 1200

cm⁻¹ et plus précisément celles obtenues à 1033,99 cm⁻¹, sont spécifiques des vibrations des liaisons C-O-C et C-O-H des structures polysaccharidiques (Schmitt et Flemming, 1998; Edwards *et al.*, 1998).

Tableau 15 : Principales bandes caractéristiques des groupes fonctionnels des polysaccharides extraits des cladodes de *Cereus triangularis* analysés par spectroscopie Infra-Rouge

Longueur d'onde (cm ⁻¹)	Types de liaison (ν = vibration d'élongation)
3295,01	ν (O-H)
2900,00	ν (C-H) aliphatique
1612,72	ν (C=O) fonction carboxylate
1372,39	ν (-COO-) des acides uroniques
1033,99	ν (C-O) fonctions d'hydrates de carbone

3.3.2. Spectroscopie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire)

Le polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis* a été analysé par spectroscopie RMN ¹H et ¹³C. Les spectres RMN-1D et 2D montrent les signaux caractéristiques des polysaccharides (**Figures 35 et 36**).

Le spectre RMN ¹³C (**Figure 35.A**) révèle la présence des 6 signaux caractéristiques à 104,35 ppm (C-1), 71,80 ppm (C-2), 73,30 ppm (C-3), 77,64 ppm (C-4), 74,50 ppm (C-5) et 60,72 ppm (C-6). Par comparaison avec la littérature concernant les mucilages de cactus (Habibi *et al.*, 2004 ; Do Nascimento *et al.*, 2015), ces signaux ¹³C spécifiques ont été attribués à des pics de résonances caractéristiques d'une chaîne principale de galactane constituée de résidus D-Galp liés en β-(1,4) (chaîne de type β-(1,4)-D-Galp). Comme observé en **Figure 35.A**, d'autres signaux ¹³C moins intenses ont été identifiés à 107,46 ppm, 81,26 ppm, 76,57 ppm, 84,07 ppm et 61,19 ppm, correspondant respectivement aux C-1, C-2, C-3, C-4 et C-5 de résidus arabinoses terminaux (type T-α-D-Araf-(1,3)) liés aux résidus galactoses de la chaîne principale de galactane (Habibi *et al.*, 2004; Vignon *et al.*, 2004). Par ailleurs, des signaux moins intenses ont été observés à 103,74 ppm, 82,22 ppm, 78,14 ppm et 72,82 ppm,

correspondant respectivement aux C-1, C-3, C-4 et C-2 de résidus 3-*O*-D-Galp substitués (Habibi *et al.*, 2004; Do Nascimento *et al.*, 2015). Comme observé dans la **Figure 36**, par une corrélation hétéronucléaire 2D $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ (HSQC), nous pouvons identifier les protons correspondants au polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis* (**Figure 35.B**).

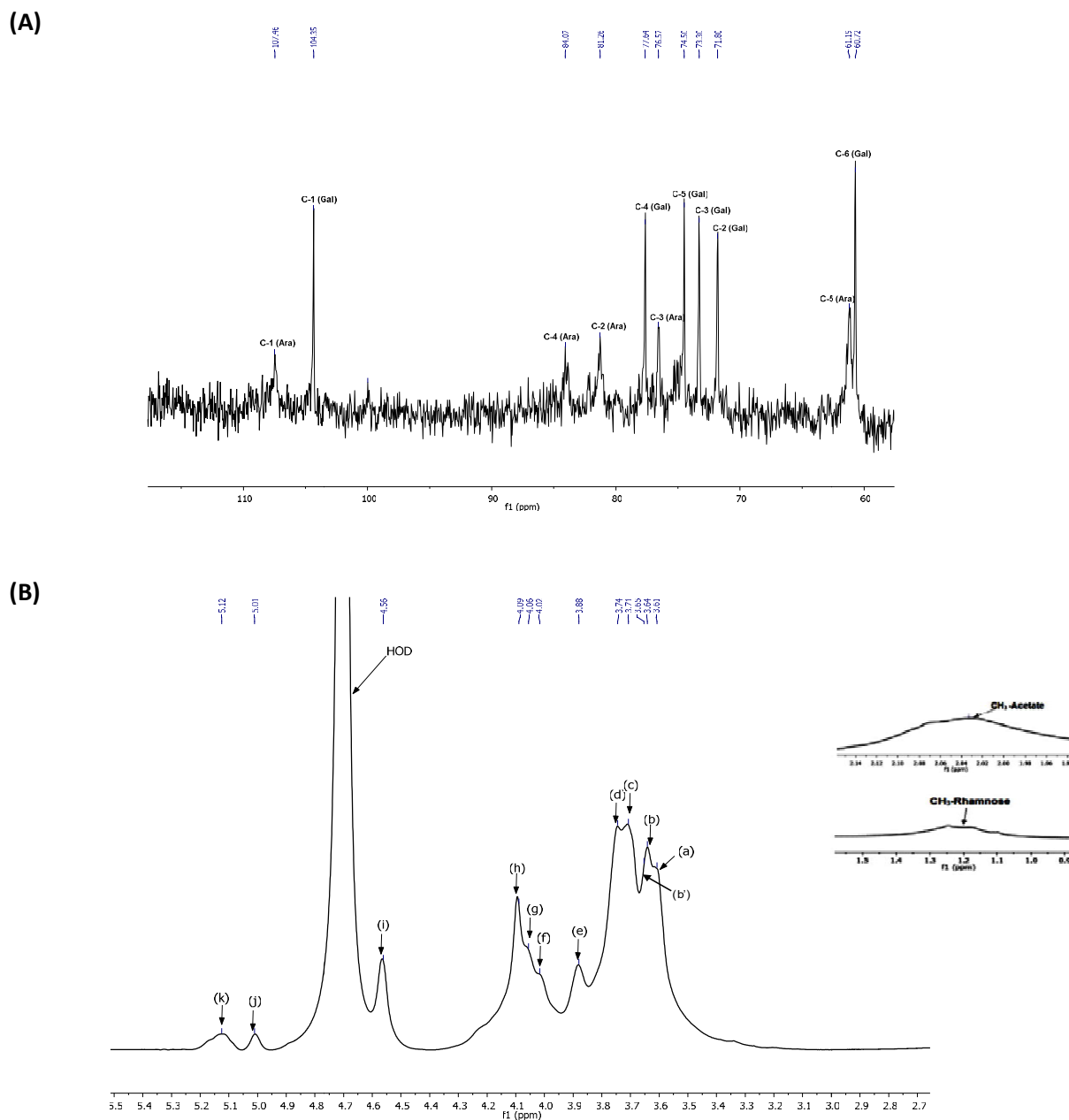


Figure 35 : (A) Spectres RMN ^{13}C et (B) spectre RMN ^1H du polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis* (40g/L dans le D_2O à 60 °C)

(a)=H-2 (Gal), (b) = H-5 (Gal) , (b') = H-5(Ara T), (c) = H-3(Gal), (d) = H-6 (Gal), (e) = H-3 (Ara T), (f) = H-4 (Ara T), (g) =H-2 (Ara T) , (h) = H-4 (Gal), (i) = H-1 (Gal), (j) = H-1 de (1,5)- α -L-Araf., (k) = H-1(Ara T),

Ainsi, les principaux signaux des protons identifiés à 4,56 ppm, 3,61 ppm, 3,71 ppm, 4,09 ppm, 3,64 ppm et 3,74 ppm ont été attribués respectivement aux protons H-1, H-2, H-3, H-4, H-5 et H 6, des résidus D-Galp liés en β -(1,4) (chaîne de type β -(1,4)-D-Galp) présents dans chaîne linéaire principale de galactane. En outre, d'autres signaux observés à 5,12 ppm, 4,06 ppm, 3,88 ppm, 4,02 ppm et 3,65 ppm, ont été attribués respectivement aux protons H-1, H-2, H-3, H-4 et H-5, du résidu arabinose terminal T- α -L-Araf-(1,3) lié aux résidus galactose de la chaîne principale de galactane (Habibi *et al.*, 2004; Vignon *et al.*, 2004).

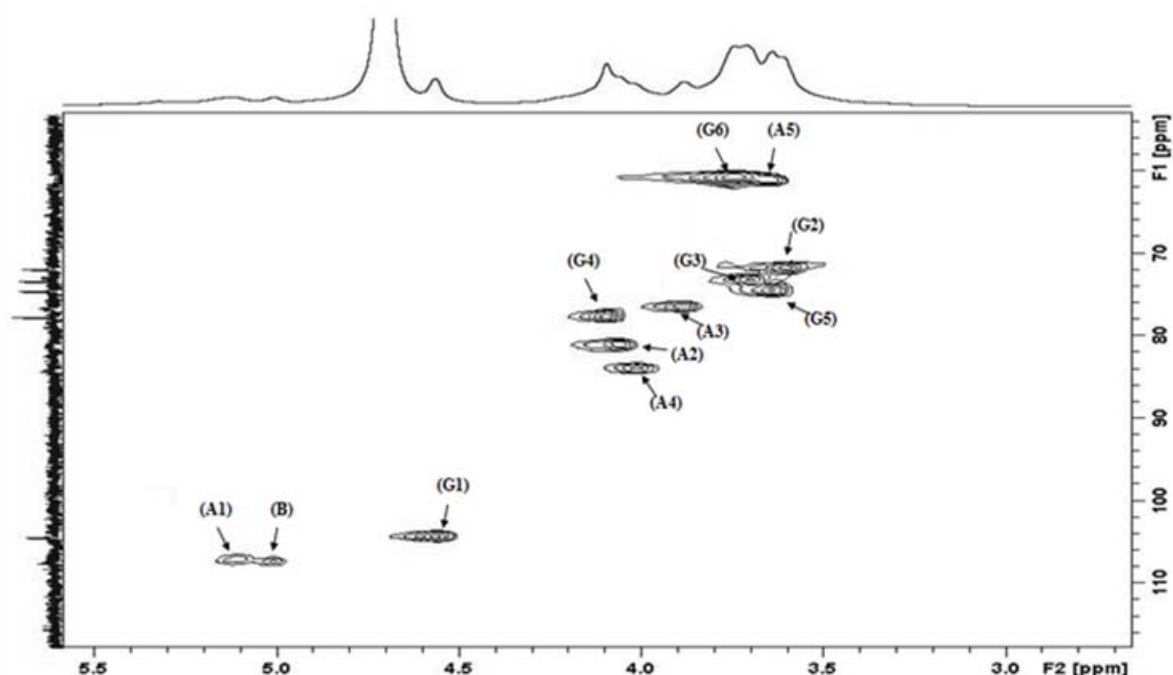


Figure 36 : Spectre de corrélation hétéronucléaire 2D $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ (HSQC) du polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis* (40 g.L $^{-1}$ dans le D $_2$ O à 60°C)

(A1) = H $_1$ /C $_1$: T- α -L-Araf-(1,3)-Gal $_p$, (A2) = H $_2$ /C $_2$: T- α -L-Araf-(1,3)-Gal $_p$; (A3) = H $_3$ /C $_3$: T- α -L-Araf-(1,3)-Gal $_p$; (A4) = H $_4$ /C $_4$: T- α -L-Araf-(1,3)-Gal $_p$; (A5) = H $_5$ /C $_5$: T- α -L-Araf-(1,3)-Gal $_p$; (G1) = H $_1$ /C $_1$: (1,4)- β -D-Galp; (G2) = H $_2$ /C $_2$: (1,4)- β -D-Galp; (G3) = H $_3$ /C $_3$: (1,4)- β -D-Galp; (G4) = H $_4$ /C $_4$: (1,4)- β -D-Galp; (G5) = H $_5$ /C $_5$: (1,4)- β -D-Galp; (G6) = H $_6$ /C $_6$: (1,4)- β -D-Galp; (B) = trace de H $_1$ /C $_1$ de (1,5)- α -L-Araf.

Notons que la faible quantité de pectine présente dans la fraction mucilagineuse globale est confirmée par la présence de faibles signaux observés à 1,2 ppm et 2,03 ppm qui sont facilement assignés aux protons du groupe méthyle (-CH $_3$) du rhamnose et au proton du groupement acétyle respectivement (**Figure 35**). Il est important de mentionner que les analyses RMN 2D (**Figure 36**) permettent d'identifier de faibles signaux, à 5,01 ppm et autour de 108 ppm, pouvant être attribués respectivement au proton H-1 et au carbone C-1 de

résidus de type α -L-Araf liés en position (1,5) comme décrit dans la littérature concernant certains mucilages de cladodes de cactus (Habibi *et al.*, 2004). Les attributions des signaux RMN (^1H et ^{13}C) sont résumées dans le **Tableau 16**.

Tableau 16 : Déplacements chimiques des protons ^1H et des carbones ^{13}C (δ ppm) des résidus glycosidiques du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis*

Résidus glycosidiques	Déplacements chimiques (δ) en ppm						
β -(1,4)-D-Galp	^1H	4,56	3,61	3,71	4,09	3,64	3,74
	^{13}C	104,35	71,80	73,30	77,64	74,50	60,72
T- α -L-Araf-(1,3)	^1H	5,12	4,06	3,88	4,02	3,65	-
	^{13}C	107,46	81,26	76,57	84,07	61,19	-
3-O-D-Galp substitué	^1H	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
	^{13}C	103,74	72,82	82,22	78,14	nd	nd
(1,5)- α -L-Araf	^1H	5,01	nd	Nd	nd	nd	-
	^{13}C	108	nd	Nd	nd	nd	-
Rhap	^1H	nd	nd	Nd	nd	nd	1,2
	^{13}C	nd	nd	Nd	nd	nd	nd

nd : non déterminé

Comme déjà décrit par Habibi *et al.* (2004) lors de la caractérisation de polysaccharides extraits de la peau du fruit d'*Opuntia ficus-indica* et par Do Nascimento *et al.* (2015) dans la caractérisation des polysaccharides extraits du fruit de *Solanum betaceum*, notre étude RMN comparative et qualitative révèle que le polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis* est une fraction riche en arabinogalactane correspondant à une chaîne linéaire principale de type β -(1,4)-D-Galp substituée en position 3 par des groupements T- α -L-Araf-(1, telle que le ratio Araf: Galp soit de 0,67 (selon les estimations de l'analyse CG/SM-EI).

3.4. IDENTIFICATION DES LIAISONS GLYCOSIDIQUES DU POLYSACCHARIDE EXTRAIT DES CLADODES DE *CEREUS TRIANGULARIS*

Afin de confirmer et de quantifier la présence d'un polysaccharide de type arabinogalactane extrait des cladodes de *C. triangularis*, une analyse des liaisons glycosidiques a été réalisée par CG/SM-EI.

Le chromatogramme obtenu par l'analyse des acétates d'alditol partiellement méthylés est présenté dans la **Figure 37**.

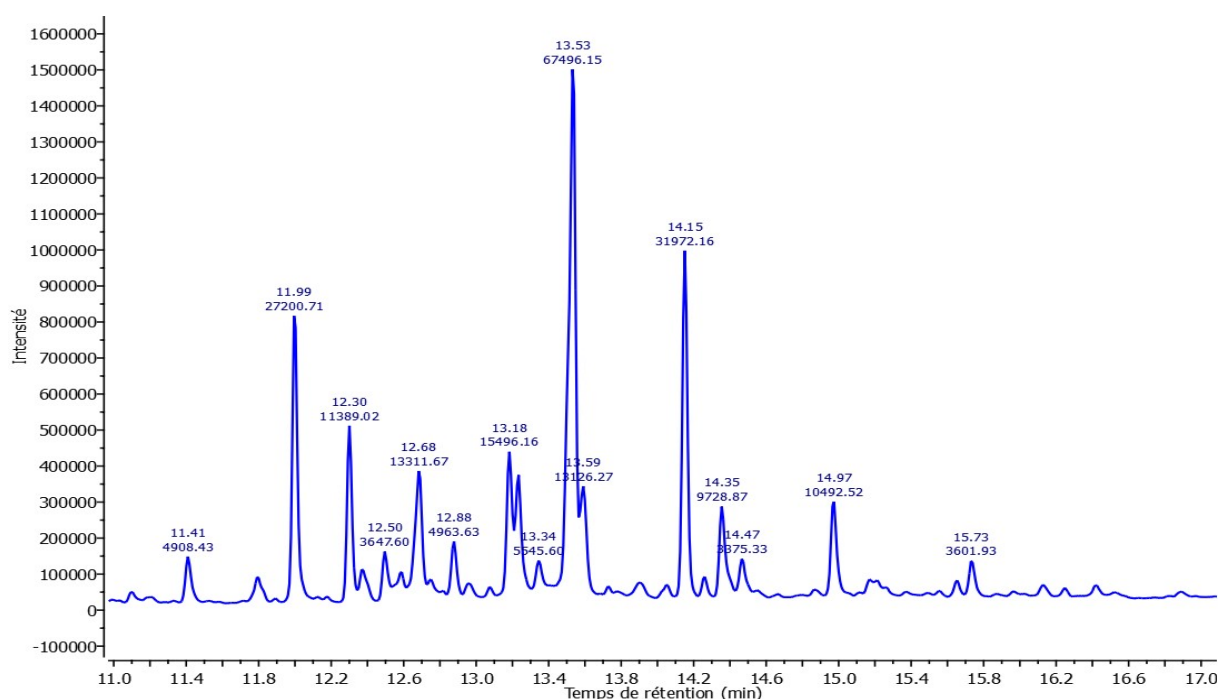


Figure 37: Chromatogramme CG/SM des différents dérivés d'acétate d'alditols partiellement *O*-méthylés issus du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis*

L'analyse du chromatogramme permet d'identifier différents dérivés d'acétate d'alditols partiellement *O*-méthylés (**Tableau 17**) et indiquent que les unités galactopyranosyles sont présentes sous la forme de : T-Galp-(1,4)-Galp-(1, et (3,4)-Galp-(1, puisque les composés 2,3,4,6-Me₄-Galp (3,0 %), 2,3,6-Me₃-Galp (51,9 %) et 2,6-Me₂-Galp (16,9 %) ont été formés. Ces résultats confirment la présence d'une chaîne principale de galactane (chaîne de type β -(1,4)-Galp) portant des substituants glycosyls en position *O*-3. Ils indiquent également qu'environ 24 % des résidus galactose de la chaîne principale de galactane sont substitués et que les unités T-Galp-(1, peuvent être liées directement sur la chaîne principale de galactane ou *via* des résidus Araf. La présence des composés de type 2,3,5-Me₃-Araf (17,1 %) et 2,3-Me₂-Araf (11,1 %) révèle que dans le polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus*

triangularis, les unités arabinosyles sont présentes sous la forme de : T-Araf-(1, et ,5)-Araf-(1,.

Ces résultats sont en accord avec les analyses RMN et confirment donc la présence majoritaire d'une chaîne principale de galactane de type β -(1,4)-D-Galp substituée en position 3 par des groupements T- α -L-Araf-(1, ou des chaînes latérales d'arabinane de type T- α -L-Araf-(1,[,5)- α -L-Araf-(1,[_n,5)- α -L-Araf-(1,.

Tableau 17 : Acétates d'alditols partiellement O-méthylés issus du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis*

Acétates d'alditols O-méthylés ^(a)	%	Type de liaison ^(b)
3-Me ₁ -Rha	traces	(2,4)-Rha _p -(1,
Me ₃ -Hex ^(c)	traces	nd. ^(d)
2,3,5-Me ₃ -Ara	17,1	Ara _f -(1,
2,3-Me ₂ -Ara	11,1	,5)-Ara _f -(1,
2,3,4,6-Me ₄ -Gal	3,0	Gal _p -(1,
2,3,6-Me ₃ -Gal	51,9	,4)-Gal _p -(1,
2,6-Me ₂ -Gal	16,9	,3,4)-Gal _p -(1,

(a) 2,3,5-Me₃-Ara = 2,3,5-tri-O-methylarabinitolacetate, etc.

(b) Basé sur les dérivés O-methylalditol acetates.

(c) Traces de tri-O-acetyl-tri-O-methyl-hexitol-1-d.

(d) Non déterminé.

Notons que la formation de composés de type tri-O-acetyl-tri-O-methyl-hexitol-1-d pourrait correspondre à la présence de glucose (Glc_p) et de mannose (Man_p) mais d'autres études devront être effectuées pour vérifier si ces résidus appartiennent ou non à la structure principale du polysaccharide. Finalement, des traces de 3-Me₁-Rha_p ont été observées, ce qui indique la présence d'unités rhamnosyle 2,4-di-O-substituées correspondant aux traces de pectine observées lors des analyses RMN.

En conclusion, cette caractérisation nous permet de proposer la structure suivante (**Figure 38**) pour ce polysaccharide de type arabinogalactane extrait des cladodes de *C. triangularis*:

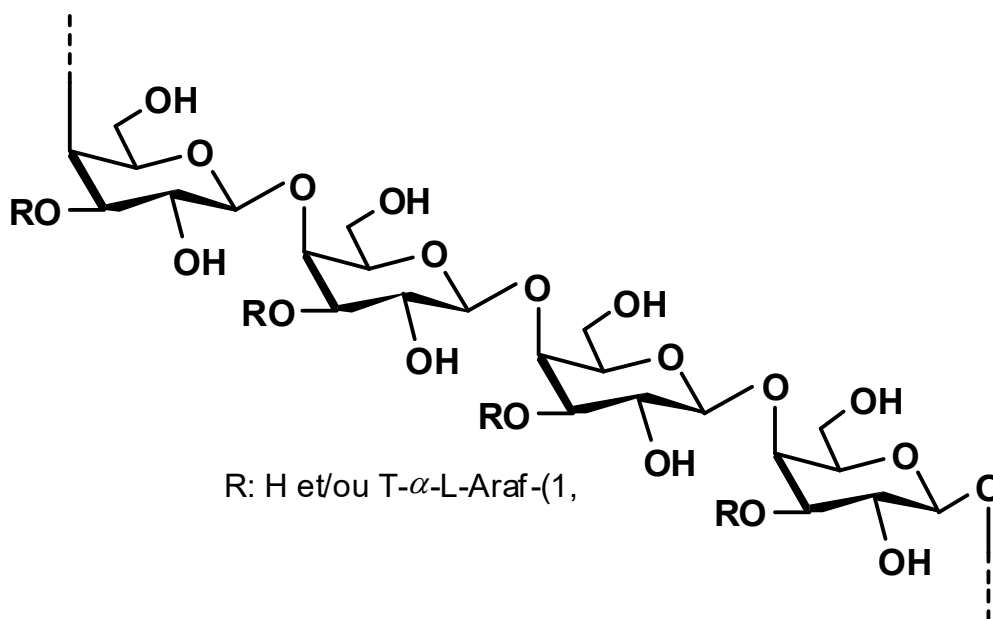


Figure 38 : Structure proposée pour le polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis*

Avec R pouvant être l'un des groupements suivants : H ou T- α -L-Araf-(1, ou T- α -L-Araf-(1,[5)- α -L-Araf-(1,[n,5)- α -L-Araf-(1,.

3.5. MASSE MOLECULAIRE ET VISCOSITE INTRINSEQUE DU POLYSACCHARIDE

Les masses moléculaires en poids (M_w), les masses moléculaires moyennes en nombres (M_n) et la viscosité intrinsèque ont été déterminées par chromatographie d'exclusion stérique haute performance couplée à la diffusion de la lumière laser multi-angles (SEC/MALLS) et à la détection viscosimétrique en ligne. Notons que les analyses ont été réalisées sur deux chaînes analytiques (avec et sans filtration de la solution polysaccharidique) de façon à rendre compte de la disparité possible dans les estimations des M_w . La séparation des différentes chaînes de polysaccharides est effectuée selon leur taille par exclusion stérique (les chaînes de poids moléculaires les plus élevés étant éluées en premier). Les indices de réfraction et la diffusion de la lumière des chaînes sont mesurés, permettant ainsi le calcul de M_n et M_w .

Dans un premier temps, l'analyse sans filtration (100% de fraction analysée) est présentée en **Figure 39**.

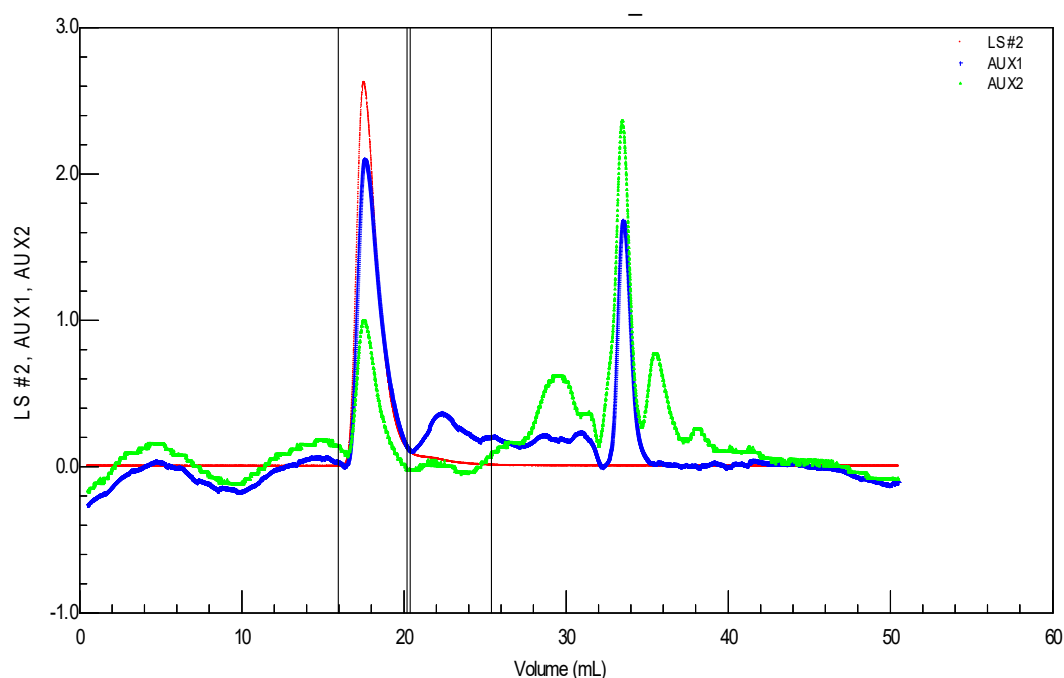


Figure 39 : Analyse HPSEC-MALLS du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis* (solution non filtrée). Avec LS : détection laser, AUX1 : détection réfractométrique et AUX2 : détection UV

Les résultats obtenus sont résumés dans le **Tableau 18**. La valeur de la M_w du mucilage de *C. triangularis* est estimée à $8,43 \times 10^6$ g/mol. Cet hydrocolloïde possède un faible indice de polydispersité (1,21) confirmant ainsi la présence d'une structure polysaccharidique homogène de haute masse moléculaire. Comme décrit dans la littérature (Warrand *et al.*, 2005a), l'absence d'hétérogénéité dans les mesures de M_w (**Figure 39**) confirme la très faible présence de polysaccharides de nature pectique dans le mucilage extrait des cladodes de *C. triangularis*.

Tableau 18 : Analyses HPSEC-MALLS réalisées sur la solution non filtrée du polysaccharide extrait des cladodes de *C. triangularis*

M_w (g/mol)*	M_n (g/mol)**	I_p ***
$8,43 \times 10^6$	$6,96 \times 10^6$	1,21

* M_w : Masse moléculaire moyenne estimée par analyse SEC-MALLS.

* M_n : Masse moléculaire moyenne en nombre estimée par analyse SEC-MALLS.

*** I_p : Indice de polydispersité estimé par analyse SEC-MALLS.

Dans un second temps, l'analyse est réalisée après une filtration de la solution polysaccharidique sur un filtre de $0,45 \mu\text{m}$ afin d'éliminer les éventuels agrégats et réaliser une mesure de viscosité intrinsèque (**Figure 40**). L'intégration du signal réfractométrique entre 22,5 min et 43,5 min permet de calculer la quantité d'échantillon séparée par application

de la valeur d'incrément d'indice de réfraction $dn/dc = 0,150 \text{ mL/g}$ (valeur moyenne usuelle pour un polysaccharide en solution aqueuse). Le taux de récupération de l'échantillon est alors estimé à 85 %. Comme observé en **Figure 40**, la détection réfractométrique présente un signal sur l'ensemble de l'élution montrant une forte polydispersité de l'échantillon.

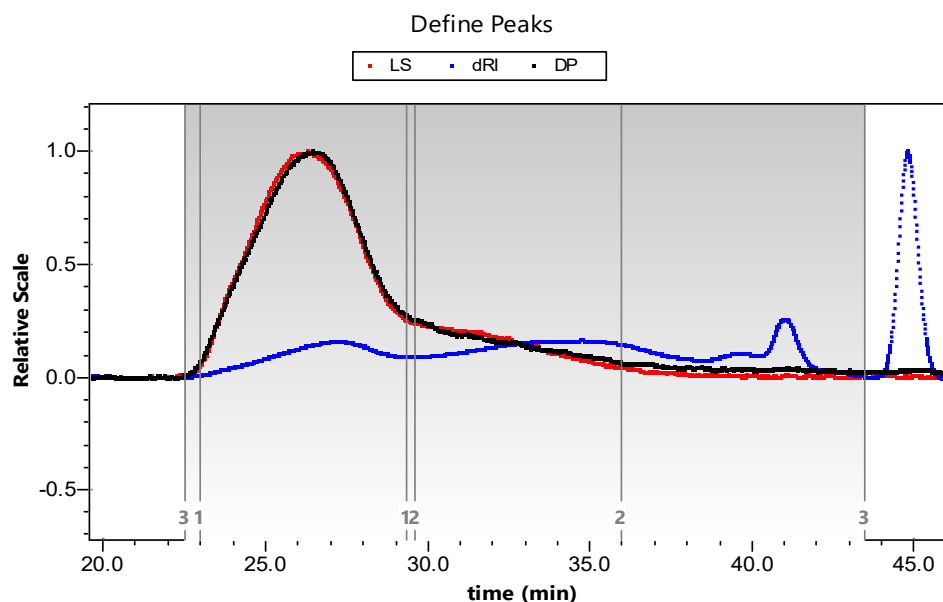


Figure 40 : Chromatogramme obtenu par analyse HPSEC-MALLS réalisée sur le polysaccharide extrait de cladodes de *C. triangularis* (solution filtrée sur $0,45 \mu\text{m}$). Avec LS : diffusion de la lumière et dRI : détection réfractométrique

Les signaux des différents détecteurs sont suffisants pour avoir une bonne précision de mesure et les déterminations de la masse moléculaire (M_w) et de la viscosité intrinsèque ($[\eta]$) peuvent ainsi être réalisés sur : (i) l'ensemble du volume d'élution (**Zone 1** : 22,5 min- 43,5 min) et, (ii) la première fraction éluée de forte masse molaire représentant uniquement 20 % en masse de l'échantillon injecté (**Zone 2** : 23 à 36 min) (**Figure 40**).

Si l'on s'intéresse dans un premier temps à la **Zone 1**, l'évolution de la masse moléculaire et de la viscosité intrinsèque du polysaccharide sont présentées dans la **Figure 41 (A et B)**.

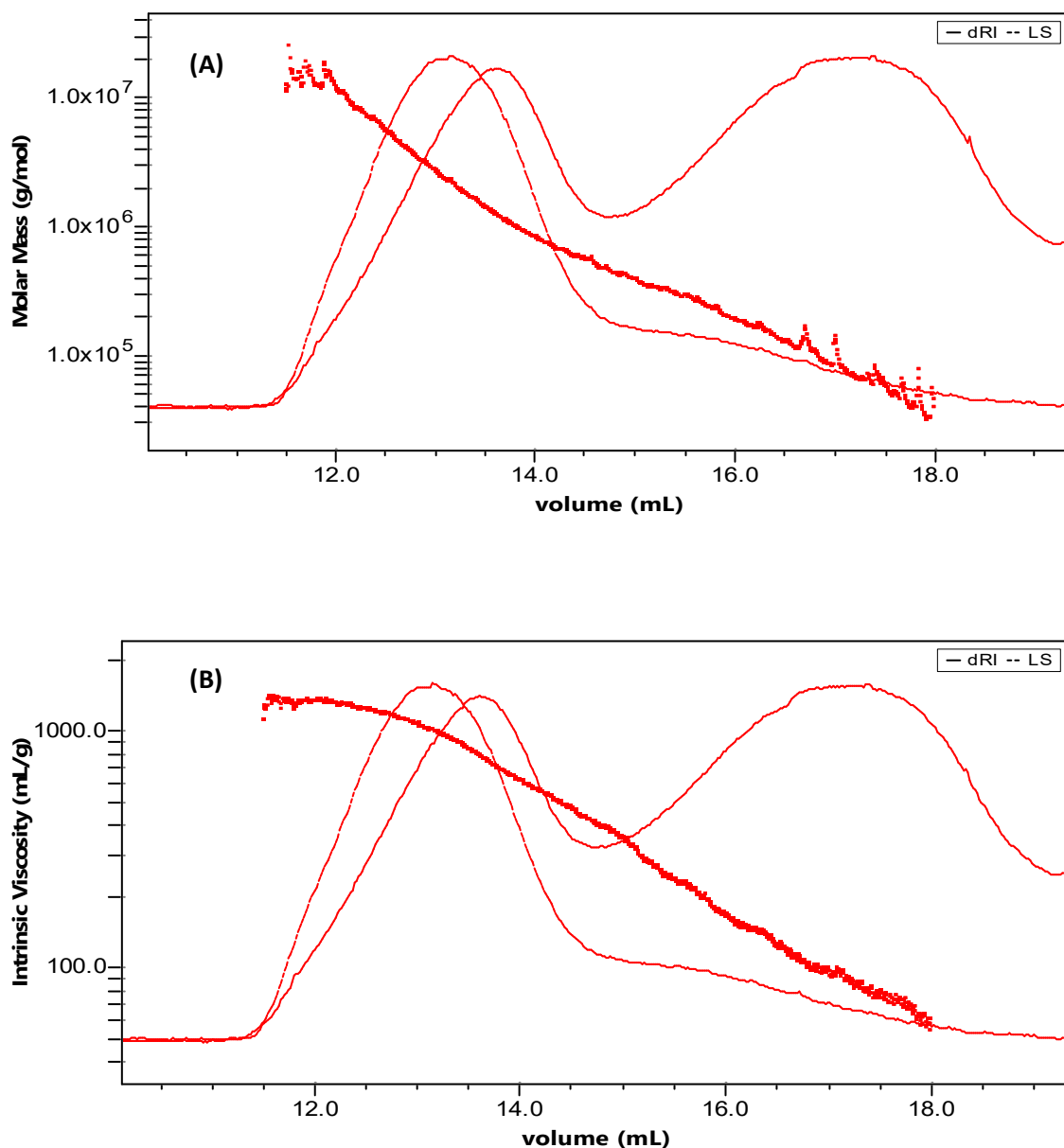


Figure 41 : Evolution de (A) la masse molaire et (B) la viscosité intrinsèque du polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis*. Les analyses sont effectuées sur l'ensemble du volume d'élution (Zone 1 : 11,5 mL à 18 mL). Avec dRI : détection réfractométrique, LS : détection laser

Les résultats obtenus concernant l'ensemble du volume d'élution traité (**Zone 1**) sont résumés dans le **Tableau 19**. Ainsi, sur l'ensemble du volume d'élution, le polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis* possède une masse molaire moyenne de 1270000 g/mol et une viscosité intrinsèque de 455 ± 15 mL/g. Notons la forte polydispersité observée ($I_p = 7,8$).

Tableau 19 : Propriétés physico-chimiques du polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis*. Les analyses sont effectuées sur l'ensemble du volume d'élution (Zone 1 : 11,5 mL à 18 mL)

Limites fraction (mL)	fraction étudiée *	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Ip	Rh** (nm)	Viscosité intrinsèque $[\eta]$ (mL/g)
11,5-18	68 %	162 000 ($\pm 9\%$)	1 270 000 ($\pm 9\%$)	7,8	37 $\pm$ 9	455 $\pm$ 15

*Par rapport à l'ensemble du pic ; **Rayon hydrodynamique

L'analyse de la **Zone 2** du chromatogramme (11,5 à 14,8 mL) représentant 20 % de l'échantillon injecté montre que cette population est constituée d'objets suffisamment grands et abondants pour calculer leurs rayons de giration (Rg) (**Figure 42**). Les représentations permettant d'accéder aux paramètres conformationnels (Mark-Houwink-Sakurada) ne montrent pas de linéarité en raison de la forte polydispersité de l'échantillon.

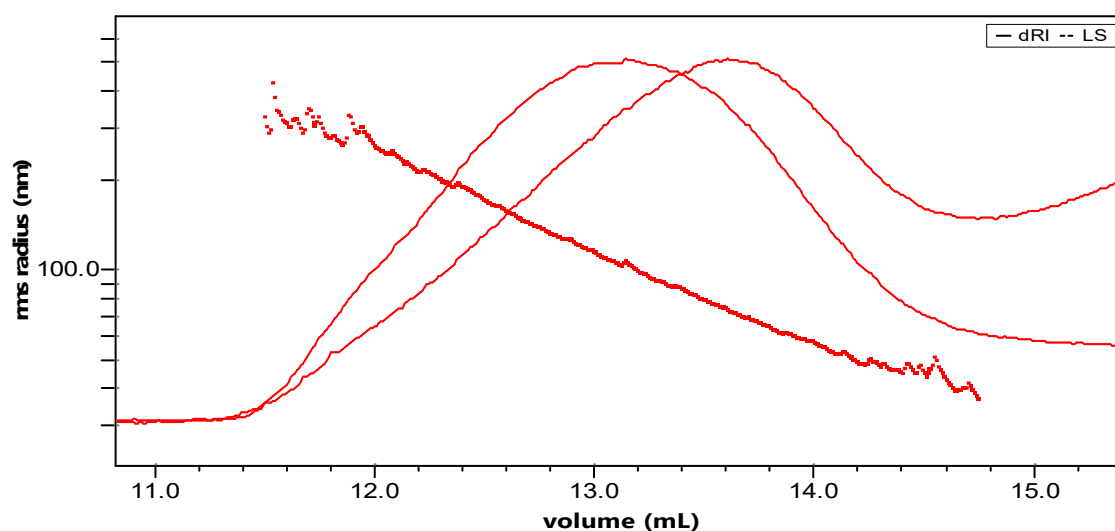


Figure 42 : Evolution des rayons de giration du polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis*. Les analyses sont effectuées sur la fraction de forte masse molaire (Zone 2 : 11,5-14,8 mL) correspondant à 20 % de l'échantillon injecté

L'ensemble des résultats obtenus concernant la fraction de forte masse molaire (**Zone 2** : correspondant à 20 % de l'échantillon injecté) sont présentés dans le **Tableau 20**.

Les caractéristiques principales de cette fraction sont une M_w de 2 810 000 g/mol, un M_n de 1 260 000 g/mol, un I_p de 2,2, un rayon de giration moyen (Rg) de 120 ± 3 nm et, une viscosité intrinsèque de 876 ± 18 mL/g.

Tableau 20 : Propriétés physico-chimiques de la fraction de forte masse molaire représentant 20 % de l'échantillon (Zone 2 : 11,5 mL-14,8 mL)

Limites fraction (mL)	Fraction étudiée*	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Ip	Rg** (nm)	Rh*** (nm)	Viscosité intrinsèque [η] (mL/g)
11,5-14,8	20 %	1 260 000 (± 3 %)	2 810 000 (±9%)	2,2	120 ± 3	67 ± 2	876 ± 18

*Par rapport à l'ensemble du pic ; **Rayon de gyration ; ***Rayon hydrodynamique.

En résumé, il est possible d'observer après filtration de la solution d'AG de *C. triangularis*, une M_w de $1,27 \times 10^6$ g/mol, et une viscosité intrinsèque de 455 ± 15 mL/g pour la fraction correspondant au volume total de l'élution (**Zone 1**). Par contre, si on s'intéresse uniquement à la fraction de haute masse molaire (**Zone 2**) nous obtenons une M_w de $2,81 \times 10^6$ g/mol et une viscosité intrinsèque de 876 ± 18 mL/g. Les valeurs de M_w et $[\eta]$ sont d'environ deux fois supérieures à celles observées pour la fraction correspondant au volume total d'élution (**Zone 1**). Par ailleurs, si on considère la fraction non filtrée représentant l'ensemble du polysaccharide injecté (**Figure 39**) la valeur moyenne de M_w a été estimée à $8,43 \times 10^6$ g/mol soit, une valeur environ 3 fois supérieure à la valeur observée pour la fraction de haute masse molaire (**Zone 2**) correspondant à 85% de polysaccharide injecté après filtration de l'échantillon. Ainsi, cette différence de valeur estimée pour M_w est sans doute due au fait qu'après filtration, 15 % du polysaccharide de haute masse molaire ($> 3 \times 10^6$ g/mol) est retenu sur le filtre de $0,45 \mu\text{m}$.

Par comparaison avec la littérature, la viscosité intrinsèque des AG extraits de cladodes de *Cereus triangularis* est supérieure à celles décrites chez d'autres AG. Elle a été estimée à 10,8 mL/g pour les AG extraits de l'endosperme du blé (Fincher *et al.*, 1974), à 10 mL/g pour les AG extraits de l'écorce du bois de mélèze (McKie, 2008) et à 10,1 mL/g pour les AG extraits de vin rouge (Doco et Williams, 2013). Notons également que les AG extraits de l'écorce du bois de mélèze avaient une masse moléculaire moyenne et un indice de polydispersité de $4,72 \times 10^4$ g/mol et 1,12 respectivement (McKie, 2008) alors que dans le cas des AGs de vin rouge la masse molaire moyenne était de $1,1 \times 10^5$ g/mol et l'indice de polydispersité de 1,1 (Doco et Williams, 2013). La masse molaire élevée du mucilage extrait des cladodes de *Cereus triangularis* est par ailleurs en accord avec celles des mucilages extraits du genre *Opuntia* et estimées entre $2,3 \times 10^4$ et 13×10^6 g/mol (Majdoub *et al.*, 2001; Medina-Torres *et al.*, 2000; Cardenas *et al.*, 1997; Trachtenberg et Mayer, 1981). Dans la plupart des cas, la différence observée au niveau de ces masses molaires pourrait être due à : l'âge des cladodes ;

les méthodes d'extraction/purification ; et aux contaminations possibles de ces hydrocolloïdes avec d'autres composés naturels (protéines, fibres,...). En règle générale, une M_w élevée homogène est observée pour les polysaccharides purs, sans aucune contamination par des protéines (Saenz *et al.*, 2004). Le **Tableau 21** résume les propriétés physico-chimiques de différents AG (bois de mélèze, gomme Arabique, grains de café et endosperme de blé).

Tableau 21 : Caractéristiques physico-chimiques d'AG d'origines diverses

Source	<i>C. triangularis</i>	<i>C. triangularis</i>	Bois de mélèze ^b	Gomme ^{c,d} Arabique	café ^e	Endosperme
d'AG	Zone 1 ^a	Zone 2 ^a				de Blé ^f
[η] (mL/g)	455	876	10	23	96	10,8
M _w (g/mol)	1,27×10 ⁶	2,81×10 ⁶	4,72×10 ⁴	5,34×10 ⁵	3,78×10 ⁶	22×10 ⁶
M _n (g/mol)	1,62×10 ⁵	1,26×10 ⁶	4,23×10 ⁴	2,35×10 ⁵	2,83×10 ⁶	nd
Ip	7,8	2,2	1,1	2,3	1,3	nd
Rh (nm)	37	67	nd	11,9	21,9	nd
Rg (nm)	Nd	120	nd	15	28,7	nd
Rg/Rh	Nd	1,79	nd	1,26	1,31	nd

^a cette étude ; ^{b,c} Sanchez *et al.*, (2002) ; ^d Servant-Duvall *et al.* (1994) ; ^e Redwell *et al.* (2005) ; ^f Fincher *et al.* (1974)
nd : non déterminé.

3.6. ETUDE DES PROPRIETES RHEOLOGIQUES DU POLYSACCHARIDE EXTRAIT DES CLADODES DE *CEREUS TRIANGULARIS*

Ce chapitre a pour but d'étudier les propriétés physico-chimiques en milieux dilué et semi-dilué du polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis* afin d'une part d'évaluer ses potentialités comme agent texturant et d'autre part de le comparer à d'autres arabinogalactanes (AG). Afin d'appréhender les propriétés d'écoulement des solutions d'AG extraits des cladodes de *C. triangularis* et dans le but de définir leurs conditions futures de mises en œuvre dans des procédés industriels, les propriétés rhéologiques du polysaccharide en solution ont donc été analysées.

D'une manière générale, il est décrit que les AG sont peu chargés et que les chaînes macromoléculaires sont sous formes de pelotes statistiques caractérisées par une faible viscosité (phénomène d'interactions entre les chaînes) (Crini *et al.*, 2009). En revanche, lorsque les polysaccharides possèdent une densité de charge élevée, la conformation des macromolécules est alors très étendue en raison des phénomènes de répulsion des charges et la viscosité des solutions est importante.

3.6.1. Mesure en écoulement

Les caractéristiques rhéologiques non-linéaires des solutions de polymères en régime semi-dilué sont mises en évidence par des représentations de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement. En règle générale, la diminution de la viscosité avec une augmentation de la vitesse de cisaillement peut être attribuée à l'alignement des chaînes de hautes masses moléculaires disposées au hasard dans la structure du polymère. Ces chaînes interagissent les unes avec les autres dans le milieu aqueux. En plus de la concentration, d'autres facteurs influent sur les propriétés mécaniques de l'écoulement des biopolymères, tels que la masse moléculaire, le degré de ramification, les charges électrostatiques et la température (Barnes, 2000 ; Li *et al.*, 2009).

Le comportement rhéologique de solutions d'AG à différentes concentrations (1% (m/v), 2,5% (m/v), 5% (m/v) et, 10 % (m/v)) a été mesuré pour des taux de cisaillement allant de 0,001 à 100 s⁻¹ et comparé avec des solutions de xanthane (**Figure 43**). Comme observé, dans toutes les solutions de polysaccharides, le comportement rhéologique présente à peu près le même profil (non newtonien) et ne diffère que par les valeurs des paramètres du modèle rhéologique utilisé. En général, toutes les solutions de polysaccharides reconstituées à différents niveaux de concentration (de 1 à 10 % (m/v)) présentent un comportement non-newtonien de "fluidification par cisaillement". Ce comportement rhéofluidifiant est attribué à

la présence d'une forte quantité de polysaccharides de masses moléculaires élevées (Barnes, 2000; Morris *et al.*, 1981).

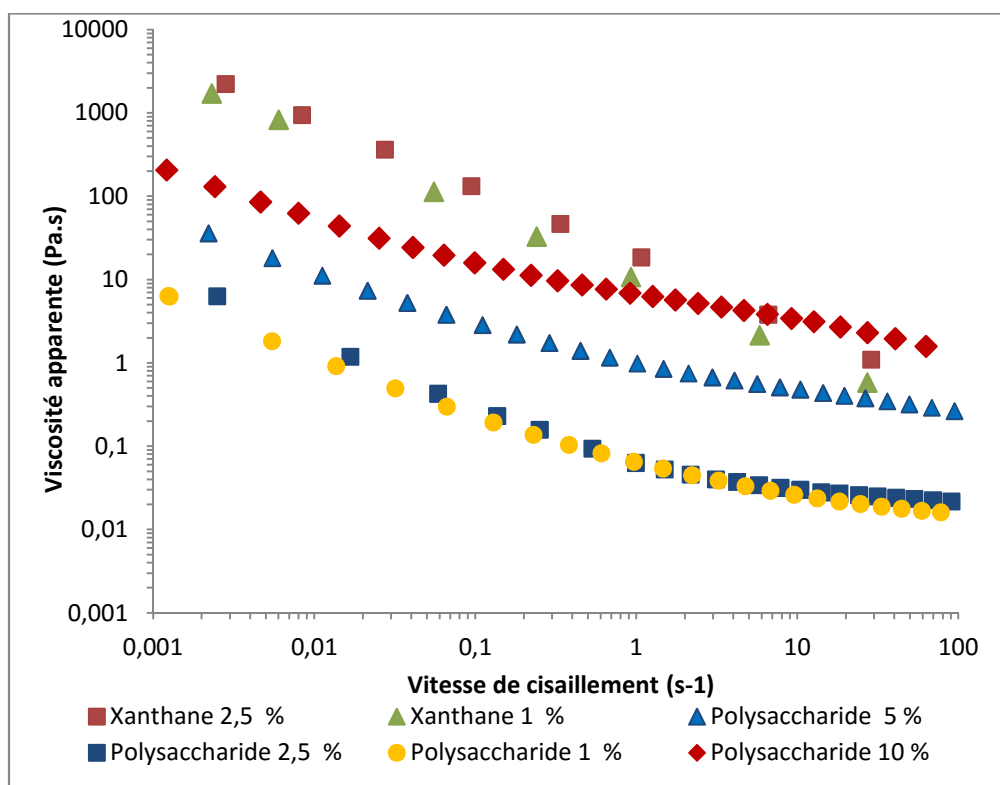


Figure 43: Variation de la viscosité apparente (Pa.s) de solutions de polysaccharides (1 à 10% (m/v)) extraits des cladodes de *Cereus triangularis* et de solutions de xanthane en fonction du taux de cisaillement (s⁻¹)

Dans toutes les régions, la viscosité apparente diminue lorsque le taux de cisaillement augmente. Ce genre de comportement reflète l'influence du cisaillement sur l'enchevêtrement des chaînes de polysaccharides. Au-dessus d'un certain seuil, le cisaillement tend à séparer les chaînes de polymère et, par conséquent, la viscosité diminue jusqu'à ce qu'une valeur minimale soit atteinte. Ce comportement est qualifié de rhéofluidifiant mais avec un plateau newtonien à cisaillement élevé (Calero *et al.*, 2010). La viscosité augmente également avec la concentration et elle est fonction de la masse moléculaire (M_w) des chaînes macromoléculaires (Crini *et al.*, 2009). Notre étude comparative est réalisée avec le xanthane, un polysaccharide microbien produit par *Xanthomonas campestris* connu pour son comportement non newtonien et sa qualité de fluide rhéofluidifiant (Morris, 1987; Esmael *et al.*, 2009). Comme observé en **Figure 50**, les solutions de xanthane (1% et 2,5 % (m/v)) présentent des propriétés rhéofluidifiantes supérieures à celles des solutions d'AG de *C. triangularis* qui sont moins visqueuses quelles que soient les concentrations utilisées.

Comme largement décrit dans la littérature, en solution aqueuse, le xanthane a des propriétés épaississantes dès les basses concentrations (0,1 % (m/v)) et est efficace à 0,5 % comme agent stabilisant, contre au moins 1 % pour d'autres polysaccharides (Baeza *et al.*, 2005). De plus, les propriétés rhéologiques du xanthane en solution montrent un seuil d'écoulement et une viscosité élevée à de faibles taux de cisaillement. En ce qui concerne les AG, la gomme Arabique (AGP) est couramment utilisée comme agent texturant dans l'industrie agroalimentaire (Mahfoudhi *et al.*, 2015). Ses propriétés fonctionnelles en solution ont fait l'objet d'un nombre important de travaux (Mahfoudhi *et al.*, 2015). La présence de résidus d'acides uroniques dans la structure de cette gomme lui confère un caractère anionique marqué. Ceci a pour conséquence d'induire des répulsions électrostatiques entre les chaînes polysaccharidiques chargées tendant à augmenter légèrement le rayon hydrodynamique de la gomme à des pH élevés (Burgess et Carless, 1985). Ainsi, la présence de charges et la structure compacte de la gomme Arabique sont à l'origine de sa grande solubilité à froid. La faible viscosité des solutions de cette arabique, comparée à celle d'autres polysaccharides de masse molaire similaire, et ce même pour des concentrations élevées, est due à sa structure compacte. Son écoulement est considéré comme Newtonien puis rhéofluidifiant à partir de concentrations de l'ordre de 20-30 % (m/v) (Sanchez *et al.*, 2002). Ces dernières années de nombreuses études ont été menées pour utiliser des gommes de type AG comme substitut de la gomme Arabique (Mahfoudhi *et al.*, 2015). Compte tenu de son comportement rhéofluidifiant et peu visqueux même à forte concentration (10% ((m/v))), l'AG extrait des cladodes de *Cereus triangularis* pourrait donc être un bon candidat.

3.6.2. Concentration critique de recouvrement C^*

Dans une seconde étape, la viscosité spécifique de solutions d'AG (entre 1 et 5 % (m/v)) a été mesurée pour évaluer la concentration critique de recouvrement (C^* en g/L). C^* est déduite du tracé en échelle logarithmique de la viscosité spécifique par rapport à la concentration en polymère. La rupture de la pente donne accès à C^* qui est la signature du début de l'enchevêtrement des macromolécules (**Figure 44**). Cette concentration seuil permet de définir la limite entre le régime dilué et le régime semi dilué, c'est-à-dire la limite de concentration à partir de laquelle les macromolécules interagissent les unes avec les autres dans la solution et s'enchevêtrent. C'est en fait une plage de concentrations de transition entre les deux régimes. A partir de cette valeur de concentration critique il est possible de déterminer le moment où les polysaccharides commencent à entrer en contact. Dans ces

conditions, l'ensemble de l'espace est occupé par les volumes hydrodynamiques des polysaccharides.

Comme observé en **Figure 44**, C^* a été évaluée à 22 g/L à 25°C. Cette valeur est similaire à celle de l'AGP extrait des grains de café (Redgwell *et al.*, 2005) possédant une masse molaire de $3,78 \times 10^6$ g/mol. Cette valeur de C^* est 4 fois plus faible par rapport à celle de la gomme Arabique pour laquelle la C^* est estimée à 88 g/L pour une masse molaire de $5,34 \times 10^5$ g/mol (Servant-Duvallet, 1994; Sanchez *et al.*, 2002). Ces résultats peuvent être expliqués par les masses molaires élevées des AG extraits des cladodes de *Cereus triangularis* et des graines de café (Redgwell *et al.*, 2005). En effet, comme mentionné dans la littérature, plus la masse moléculaire des polysaccharides est élevée plus la concentration critique de recouvrement est faible (Redgwell *et al.*, 2005).

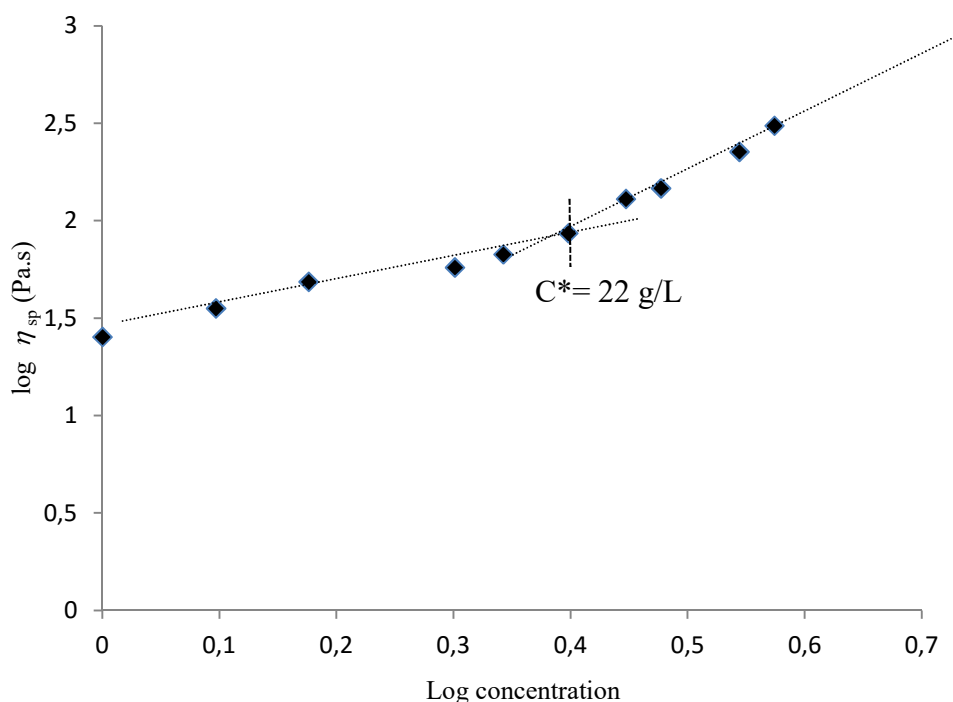


Figure 44 : Détermination de la concentration critique de recouvrement C^* des polysaccharides des cladodes de *Cereus triangularis* en solution

3.6.3. Evaluation de la viscosité du polysaccharide en fonction des sels

L'effet des ions sur la viscosité des polysaccharides est important, non seulement pour déterminer si le polysaccharide se comporte comme un polyélectrolyte mais aussi pour estimer ses propriétés rhéologiques. De manière générale, les molécules chargées subissent une forte variation de viscosité par l'intervention des forces ioniques engendrées par l'ajout de sels (Smidsrod et Haug, 1971).

La **Figure 45** présente l'effet de l'ajout de sels (KCl 0,5M ; NaCl 0,5M) sur la viscosité des solutions d'AG de *C. triangularis* préparées à des concentrations de 2,5% et 5% (m/v). Quelles que soient les concentrations en sels utilisées, il n'y a pas d'influence significative sur la viscosité de l'AG. Ces résultats sont cohérents avec la structure de cet AG compte tenu de sa faible teneur en acide galacturonique ($1,63 \pm 0,98$ % en ratio molaire).

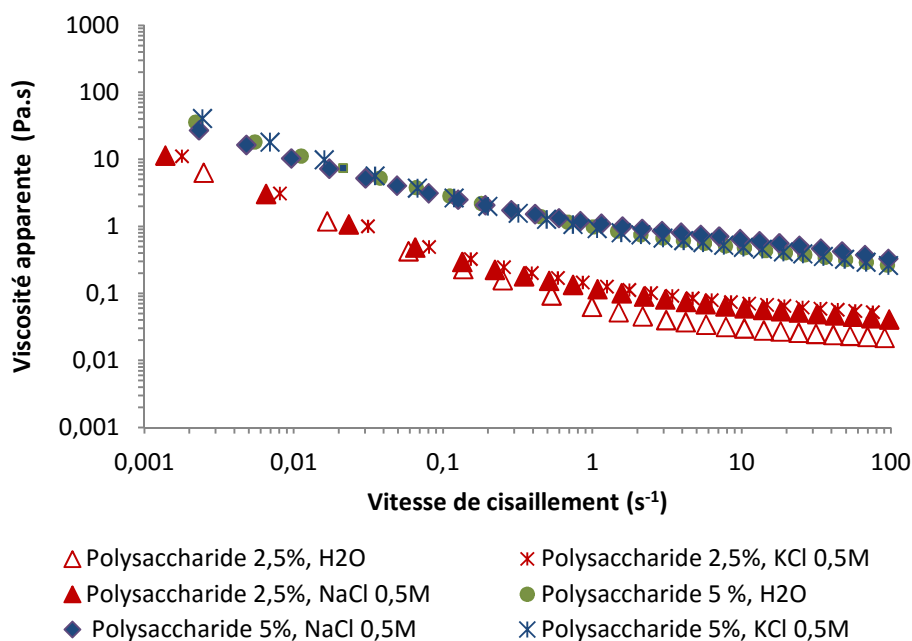


Figure 45: Effet de l'ajout de sels (KCl 0,5M ; NaCl 0,5M) sur la viscosité des solutions d'arabinogalactanes préparées à des concentrations de 2,5% et 5% (m/v)

3.6.4. Evaluation de la viscosité de solutions de polysaccharide en fonction de la température

L'écoulement d'un liquide visqueux est décrit comme le franchissement d'une barrière énergétique par une unité moléculaire de ce liquide. Cette transition est accélérée par l'élévation de la température de la solution; raison pour laquelle Andrade (1930), Eyring (1935) et Lewis, (1987) expriment la viscosité comme une fonction de la température de la forme:

$$\eta = A \exp \left[Ea/R \times \left(\frac{1}{T} \right) \right]$$

Ea : Energie d'activation,

R : Constante des gaz,

A : une constante pré-exponentielle d'Arrhenius.

T : Température absolue.

Eac et A peuvent être obtenus à partir de la représentation de la courbe de $\ln \eta = f(1/T)$.

On note une corrélation parfaite et négative entre la température et l'énergie d'activation d'écoulement (Saidou, 2012). Pour une concentration en polysaccharides donnée, une faible énergie d'activation d'écoulement indique de faibles interactions intra et interchaînes. Les polysaccharides linéaires sont fortement liés par des liaisons inter ou intrachaînes et ont, par conséquent, une forte énergie d'activation par rapport aux polymères ramifiés. En général, la viscosité des solutions de polysaccharides diminue avec l'augmentation de la température. Cette diminution peut être liée à la transition de la solution d'un équilibre à un autre, à la dégradation des polysaccharides ou au changement de conformation des polysaccharides en solution (De Paula et Rodrigues, 1995).

La **Figure 46** présente l'effet de la température sur la viscosité d'une solution (5 % (m/v)) de l'AG de *Cereus triangularis*. Pour cette solution, les données à la vitesse de cisaillement de $0,1\text{s}^{-1}$, 1s^{-1} et 10s^{-1} sont respectivement de :

♦ : $A = 5.10^{-4} \text{ Pa s}$; $E_a = 10,26 \text{ kcal/mol}$; $R^2 = 0,98$

● : $A = 2.10^{-6} \text{ Pa s}$; $E_a = 8,04 \text{ kcal/mol}$; $R^2 = 0,99$

■ : $A = 2.10^{-8} \text{ Pa s}$; $E_a = 5,56 \text{ kcal/mol}$; $R^2 = 0,99$

L'allure linéaire des courbes obtenues en appliquant l'équation d'Arrhénius-Frenkel-Eyring (Vinogradov et Melkin, 1980) citée par De Paula *et al.* (2001) confirme l'absence de transition conformationnelle des polysaccharides sous l'effet de la température (**Figure 46**).

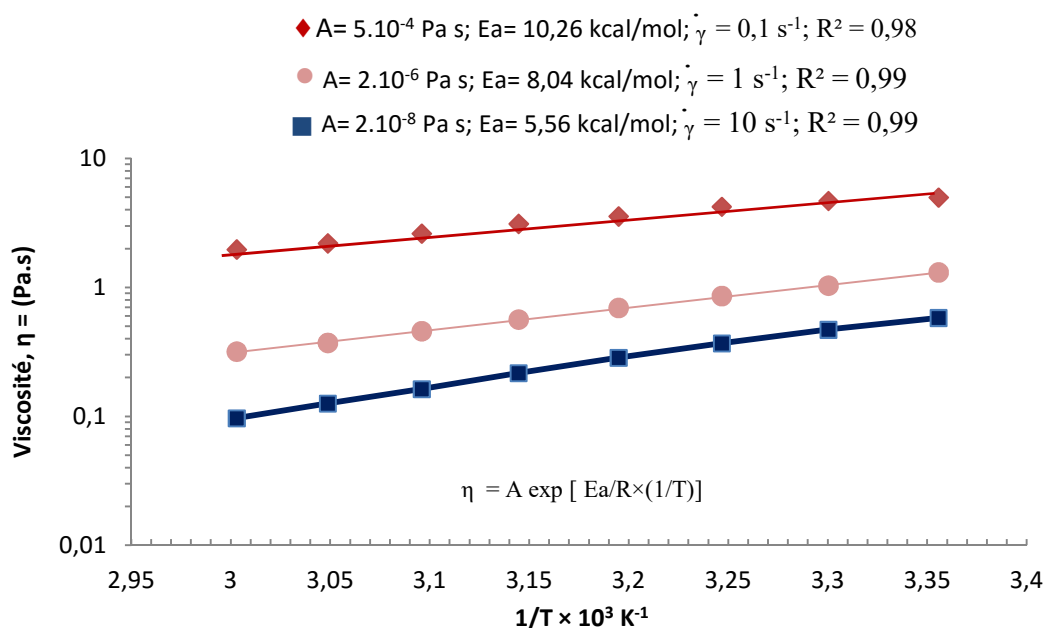


Figure 46 : Effet de la température sur la viscosité de solutions de polysaccharides à 5% (m/v). Les mesures sont réalisées à 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C et 60°C.

Selon Chen et Chen (2001), la baisse de la viscosité des solutions résulterait de l'élévation de la température qui augmente les mouvements de dissipation d'énergie des molécules, entraînant une diminution des interactions intermoléculaires et par conséquent de l'énergie d'activation d'écoulement (Saidou, 2012). De manière générale, une valeur plus élevée d'énergie d'activation (E_a) signifie un changement plus rapide de la viscosité avec la température. Ainsi, comme observé dans la **Figure 46**, plus la température est élevée plus la viscosité de la solution de polysaccharides à 5 % (m/v) diminue. Ces résultats sont conformes aux données concernant les polysaccharides d'*Opuntia ficus-indica* mais également à la majorité des polysaccharides en solution (Crini *et al.*, 2009 ; Medina-Torres, 2000). La dépendance viscosité/température peut être décrite par une équation dite d'Arrhenius ($\eta = A \exp [E_a/R \times (1/T)]$), comme représentée sur la **Figure 46**. Par comparaison avec la littérature, nous observons pour les AGs de *C. triangularis*, des E_a supérieures à celles décrites pour une solution de mucilage d'*Opuntia ficus-indica* à 5% (m/v) ($E_a = 1,16$ kcal/mol et constante $A = 0,063$ Pa.s) (Medina-Torres 2000).

3.6.5. Comportement viscoélastique des polysaccharides de *Cereus triangularis*

Dans le but de compléter cette étude rhéologique, des analyses en mode oscillatoire ont été réalisées sur des solutions de polysaccharides à 2,5 % et 5 % (m/v) dans l'eau et dans des solutions salines (KCl 0,5M et NaCl 0,5M) afin d'étudier leur viscoélasticité. Les mesures en mode dynamique (ou oscillatoire) permettent d'appliquer des déformations faibles de sorte que la linéarité entre la contrainte et la déformation soit respectée. Le principe consiste à soumettre l'échantillon à une déformation sinusoïdale au cours du temps. Les mesures viscoélastiques dynamiques ont été réalisées en utilisant le rhéomètre AR-2000 (TA Instrument) à géométrie plan/plan. Elles ont permis de caractériser le comportement viscoélastique des solutions de polysaccharides de *C. triangularis* à différentes concentrations (2,5 % et 5 % (m/v)) avec ou sans sels, en mesurant les modules de conservation (ou module élastique) G' (Pa) et de perte (ou module visqueux) G'' (Pa). Les courbes de variation des modules viscoélastiques G' et G'' en fonction de la déformation pour des fréquences angulaire de 0,1 à 100 rad.s⁻¹ (ou de la pulsation) sont présentées en **Figure 47**. Rappelons que toutes ces mesures G' et G'' ont été effectuées à 25°C. Comme observé en **Figure 47**, ces comportements sont typiques d'un polysaccharide à caractère épaississant. En effet, ils sont similaires au comportement de la gomme de caroube (Doublier, 1994) pour laquelle Les valeurs de G' et G'' augmentent avec la concentration en polysaccharide. Le module élastique semble réduit, à faible fréquences, en présence des sels (**Figure 47. (B et C)**). Aux 2

concentrations testées, nous pouvons observer des modules qui varient selon la loi de puissance avec $G'' > G'$ mais avec des valeurs proches, ce qui est caractéristique d'un fluide viscoélastique (fluide visqueux à caractère épaississant) possédant des propriétés de gel faible. Ce comportement rhéologique suggère donc que le polysaccharide extrait des cladodes de *Cereus triangularis* n'est pas un gélifiant mais un agent viscosifiant et épaississant. De manière générale, ce comportement rhéologique est similaire avec les résultats obtenus pour l'ensemble des polysaccharides extraits des cladodes de cactus (Goycoolea et Cardenas (2003 ; Garcia-Cruz *et al.*, 2013).

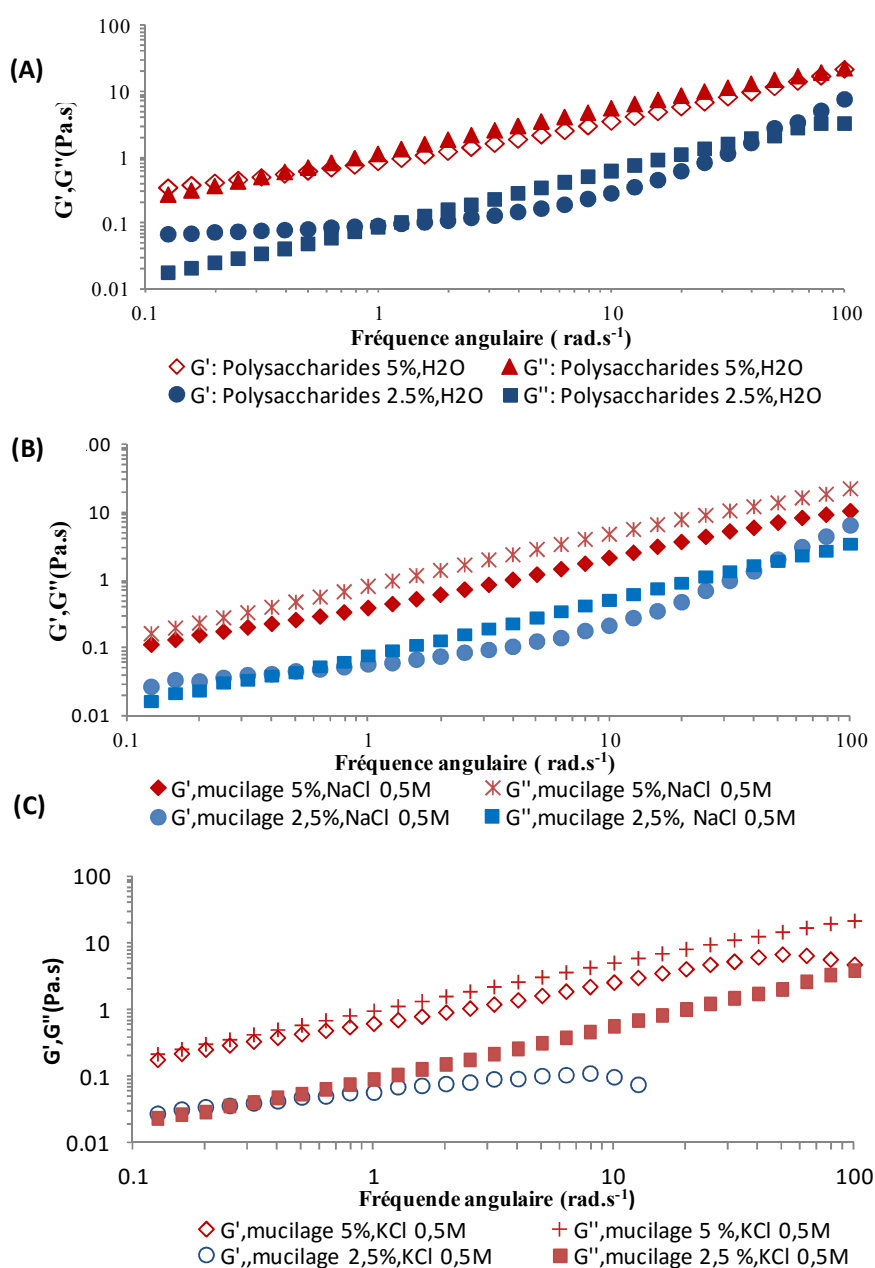


Figure 47 : Représentation des modules complexes G' et G'' (Pa) en fonction de la fréquence angulaire (rad.s⁻¹) des solutions aqueuses de polysaccharide à 2,5 % et 5 % (m/v). (A): dans l'eau ; (B) dans NaCl 0,5 M et (C) : dans KCl 0,5 M

3.7. ETUDE DE LA DEGRADATION ENZYMATIQUE DU POLYSACCHARIDE EXTRAIT DES CLADODES DE *CEREUS TRIANGULARIS*

Les prébiotiques sont généralement des oligosaccharides ou des polysaccharides à courtes chaînes. Les plus décrits dans la littérature sont les fructooligosaccharides (FOS), les galactooligosaccharides (GOS) et les xylooligosaccharides (XOS) (Nadour, 2015). Ces composés sont peu répandus dans les biomasses végétales ou microbiennes. Il est généralement nécessaire de dégrader des polysaccharides pour les obtenir. Même si de nombreux procédés thermochimiques ont été décrits et ont permis l'obtention d'oligosaccharides à partir de polysaccharides végétaux, l'utilisation d'enzymes de dégradation des polysaccharides telles que les hydrolases et les lyases reste une méthode de choix pour générer ces oligomères à partir de biopolymères naturels. En effet ces enzymes sont hautement spécifiques et facilement mises en œuvre dans des réacteurs.

3.7.1. Choix et validation de l'enzyme

L'AG extrait des cladodes de *C. triangularis*, un galactane pectique de type β -(1,4)-galactane (P-PGAPT) et un β -(1,4)-galactane extrait de pomme de terre (P-GALPOT) ont été incubés avec une endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN) d'*Aspergillus niger*. L'objectif était de valider la dégradabilité enzymatique de ce polymère par ces enzymes en la comparant à celle obtenue avec des galactanes commerciaux. La **Figure 48** présente la cinétique d'hydrolyse enzymatique réalisée pendant 8 h sur les différents substrats utilisés.

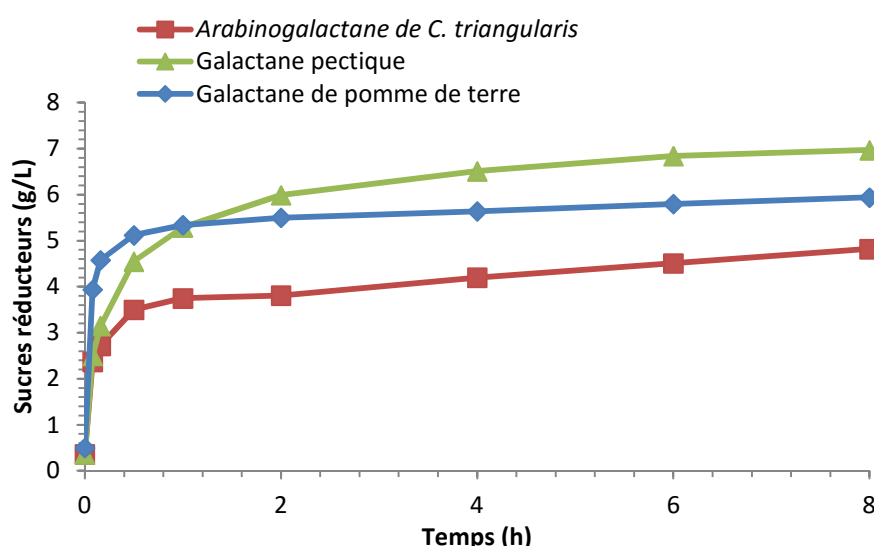


Figure 48 : Cinétique d'hydrolyse enzymatique de l'AG extrait des cladodes de *C. triangularis*, d'un galactane pectique (P-PGAPT) et d'un galactane de pomme de terre

(P-GALPOT) à une concentration de 10 g/L dans un tampon acétate de sodium tri-hydraté (100 mM, pH4) par une *endo-β*-(1,4)-galactanase (E-EGALN, 130 U)

Les cinétiques de dégradation enzymatique suivies par dosage des extrémités réductrices montrent clairement que les 3 substrats sont dégradés par l'endogalactanase utilisée. Dans les conditions testées, la cinétique est terminée au bout de 8 heures d'incubation. A ce moment, la concentration en sucres réducteurs pour l'essai avec l'AG de *C. triangularis* était de 4,8 g/L. Si on tient compte du fait que ce polysaccharide contient 55,4 % de résidus Galp, on peut considérer que 86 % des liaisons glycosidiques entre ces résidus ont été hydrolysées. Les taux d'hydrolyse obtenus avec les galactanes modèles plus riches en Galp (P-PGAPT (82 %) et P-GALPOT (87 %)) sont comparables avec des pourcentages de dégradation à 8 heures compris entre 69 % (P-GALPOT) et 85 % (P-PGAPT).

L'hydrolyse de l'AG de *C. triangularis* par une *endo-β*-(1,4)-galactanase permet de confirmer les résultats de l'analyse structurale qui avaient conclus à la présence d'une chaîne principale de β -(1,4)-D-galactane. A noter que les résidus galactose ramifiés en position C-3 par des résidus L-arabinofuranosyles semblent également être hydrolysés puisqu'ils représentent 32 % de l'ensemble des résidus Galp. L'évolution de la distribution des masses moléculaires de l'AG lors de la dégradation enzymatique a été évaluée par chromatographie d'exclusion stérique haute performance.

3.7.2. Analyse des hydrolysats enzymatiques par HPLC et HPAEC

3.7.2.1. Evaluation de la masse moléculaire de l'AG au cours de l'hydrolyse

Afin d'étudier l'évolution des masses moléculaires des chaînes d'AG au cours de l'hydrolyse enzymatique (E-EGALN), des prélèvements réguliers issus de la cinétique enzymatique ont été analysés par chromatographie d'exclusion stérique (colonnes Gel 5000PW-XL et Gel 3000 PW-XL) avec une détection réfractométrique. Les différents temps d'élution ont été comparés avec ceux de dextrans standards de masses moléculaires comprises entre 0,5 et 500 kDa qui ont permis de calibrer les colonnes de chromatographie (**Tableau 22** et **Figures 49** et **50**).

L'analyse des chromatogrammes (**Figure 49**), notamment pour le polysaccharide natif (T0min) montre l'existence de plusieurs familles d'AG dont les tailles ont été estimées entre $4,15 \times 10^3$ et 3,21 kDa (**Tableau 22**). Cette hétérogénéité non détectée lors des analyses réalisées en SEC MALLS ne remet pas en cause la purification du polysaccharide. En effet, les deux familles de plus hautes masses molaires sont dégradées lors de la cinétique enzymatique.

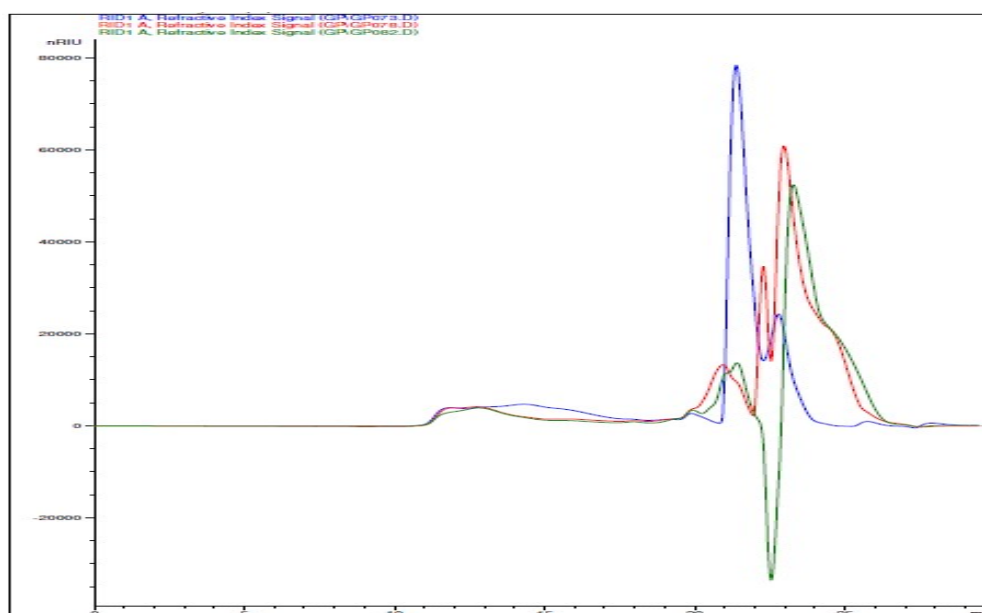


Figure 49 : Suivi cinétique de l'hydrolyse enzymatique de l'AG (10g/L) de *C. triangularis* par chromatographie d'exclusion stérique haute performance sur colonnes Gel 5000PW-XL et Gel 3000 PW-XL

Tableau 22 : Estimation des masses moléculaires des hydrolysats par chromatographie d'exclusion stérique haute performance sur colonnes Gel 5000PW-XL et Gel 3000 PW-XL)

Temps d'hydrolyse (min)		Masse moléculaire (Da)			
0	$4,15 \times 10^6$	$3,03 \times 10^5$	$5,04 \times 10^3$	$3,21 \times 10^3$	
0+E	$4,04 \times 10^6$	$1,59 \times 10^6$	$8,27 \times 10^4$	$3,15 \times 10^3$	
5	$3,90 \times 10^6$	$1,60 \times 10^6$	$8,78 \times 10^4$	$1,30 \times 10^4$	
10	$3,90 \times 10^6$	1×10^6	$7,37 \times 10^4$	$1,33 \times 10^4$	
30	$3,37 \times 10^6$	$1,55 \times 10^6$	$8,84 \times 10^4$	$1,26 \times 10^4$	
60	$3,44 \times 10^6$	$1,49 \times 10^6$	$8,84 \times 10^4$	$1,28 \times 10^4$	
120	$1,48 \times 10^6$	$7,79 \times 10^4$	$1,28 \times 10^4$	$3,05 \times 10^3$	
240	$1,40 \times 10^6$	$1,26 \times 10^4$	$3,07 \times 10^3$	0,00	
360	$1,38 \times 10^6$	$1,30 \times 10^4$	$3,11 \times 10^3$	0,00	
480	$1,38 \times 10^6$	$1,30 \times 10^4$	$3,11 \times 10^3$	0,00	

0+E : Début de dégradation enzymatique à t=0 min (substrat en contact avec l'enzyme (E))

L'analyse des chromatogrammes (**Figure 49**) aux temps tardifs d'incubation (à partir de 240 minutes) montre que la dégradation complète du polymère n'est pas atteinte et que l'enzyme

génère la formation de polysaccharides de faible masse moléculaire et d'oligosaccharides de masse moléculaire moyenne de l'ordre de $3,11 \times 10^3$ Da (**Tableau 22**). La **Figure 50** résume l'évolution des masses moléculaires des différentes familles constitutives de l'arabinogalactane de *C. triangularis* lors de son hydrolyse enzymatique par l'endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN) pendant 8h.

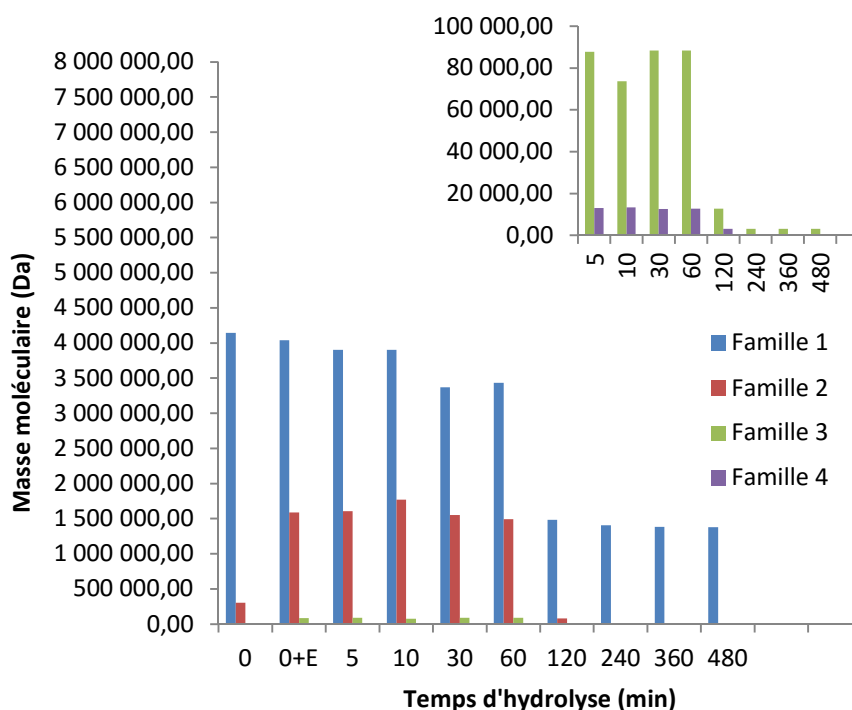


Figure 50 : Evolution des masses moléculaires des différentes familles constitutives de l'AG de *C. triangularis* lors de son hydrolyse enzymatique par E-EGALN. Avec 0+E : début de la dégradation enzymatique à t=0 min (substrat en contact avec l'enzyme (E))

3.7.2.2. Suivi de la dégradation enzymatique de l'AG de *C. triangularis* et d'un galactane pectique par HPAEC

Afin d'obtenir des informations plus précises sur les degrés des polymérisation (DP) des oligosaccharides issus de la dégradation enzymatique de l'AG de *C. triangularis* par l'endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN), une analyse par chromatographie échangeuse d'anions haute performance (HPAEC) a été réalisée. Le galactose et le 4- β -Galactobiose (disaccharide : β -D-Gal-(1,4)-D-Gal) ont été utilisés pour calibrer une colonne de type PA 200 en termes de DPs et l'évolution de ces deux sucres a été suivie tout au long de l'hydrolyse. Les résultats présentés dans le **Tableau 23** confirment sans ambiguïté l'hydrolyse de l'arabinogalactane de *C. Triangularis* avec apparition de galactose et de 4- β -Galactobiose.

Tableau 23 : Quantification du galactose et du 4- β -Galactobiose au cours de l'hydrolyse enzymatique de l'arabinogalactane de *C. triangularis* par l'endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN)

Temps	Produits identifiés	Concentrations (g/L)
T0 min	Galactose	0,011
	4- β -Galactobiose	-
T5 min	Galactose	0,078
	4- β -Galactobiose	-
T10 min	Galactose	0,146
	4- β -Galactobiose	0,337
T30 min	Galactose	0,337
	4- β -Galactobiose	0,561
T1 h	Galactose	0,654
	4- β -Galactobiose	0,886
T2 h	Galactose	1,010
	4- β -Galactobiose	1,095
T4 h	Galactose	1,040
	4- β -Galactobiose	0,959
T6 h	Galactose	0,787
	4- β -Galactobiose	0,720
T8 h	Galactose	0,940
	4- β -Galactobiose	0,940

Les chromatogrammes correspondants aux différents temps d'hydrolyse sont donnés par la **Figure 51**. Les résultats révèlent une hydrolyse rapide conduisant à une distribution en degrés de polymérisation estimée entre 2 et 15 pour des temps de dégradation courts (entre 5 à 10 minutes) puis à une dégradation totale des oligosaccharides produits pour des temps d'incubation supérieurs à 1 heure. A noter que les concentrations obtenues en galactose et 4- β -Galactobiose confirment une hydrolyse non totale du polysaccharide dont la concentration de départ était de 10 g/L.

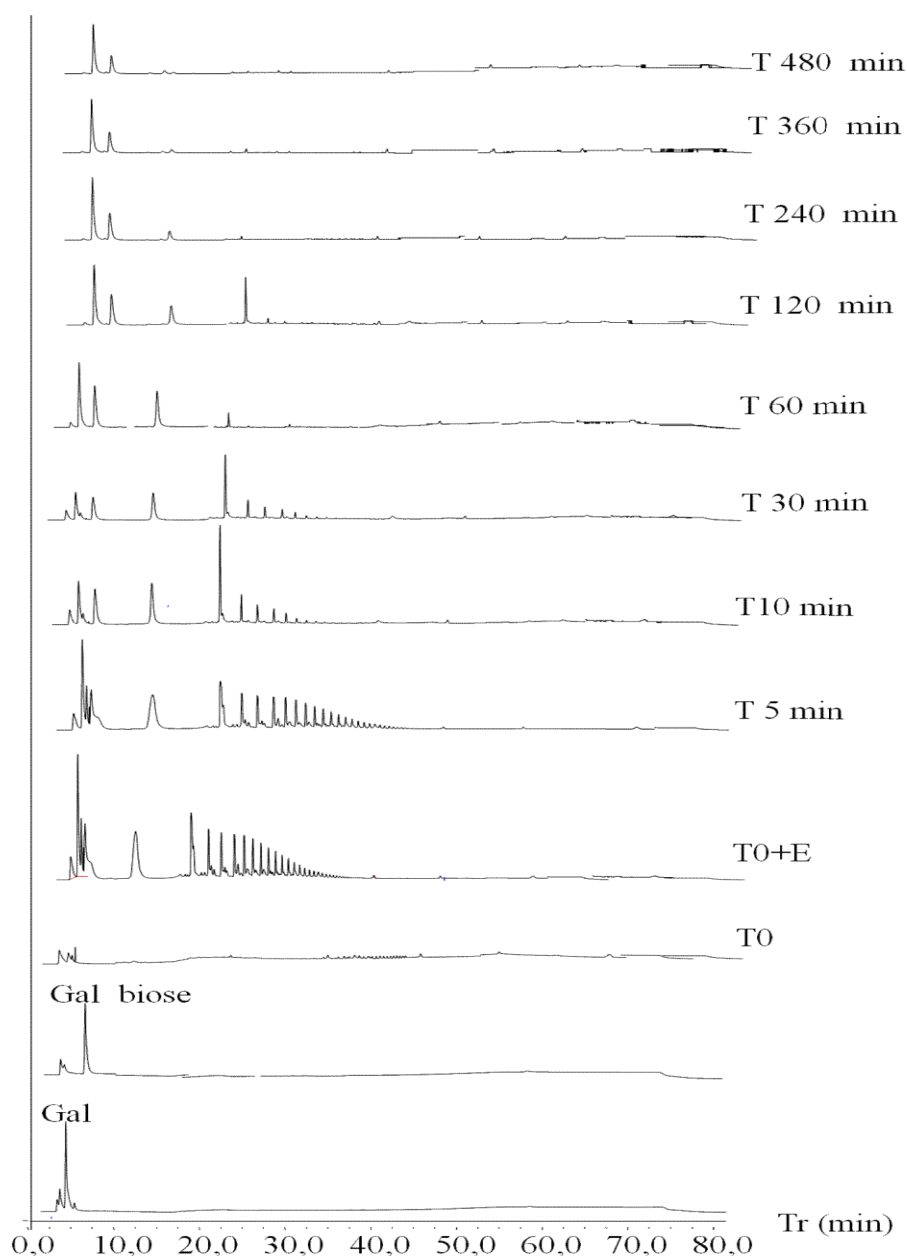


Figure 51 : Chromatogrammes des hydrolyses enzymatiques de l'arabinogalactane de *Cereus triangularis* (10g/L) obtenus par chromatographie échangeuse d'anions haute performance (HPAEC) sur colonne Carbopac PA200. Avec Gal : Galactose et Gal Biose : 4- β -Galactobiose

Notons que des résultats sensiblement identiques ont été obtenus lors des cinétiques d'hydrolyse du galactane pectique modèle (P-PGAPT) à 10 g/L en présence de l'endo- β -(1,4)-galactanase (E-EGALN). En effet, comme observé en **Figure 52**, les profils chromatographiques sont comparables aux résultats obtenus lors de l'hydrolyse enzymatique de l'arabinogalactane issus des cladodes de *C. triangularis* (**Figure 51**).

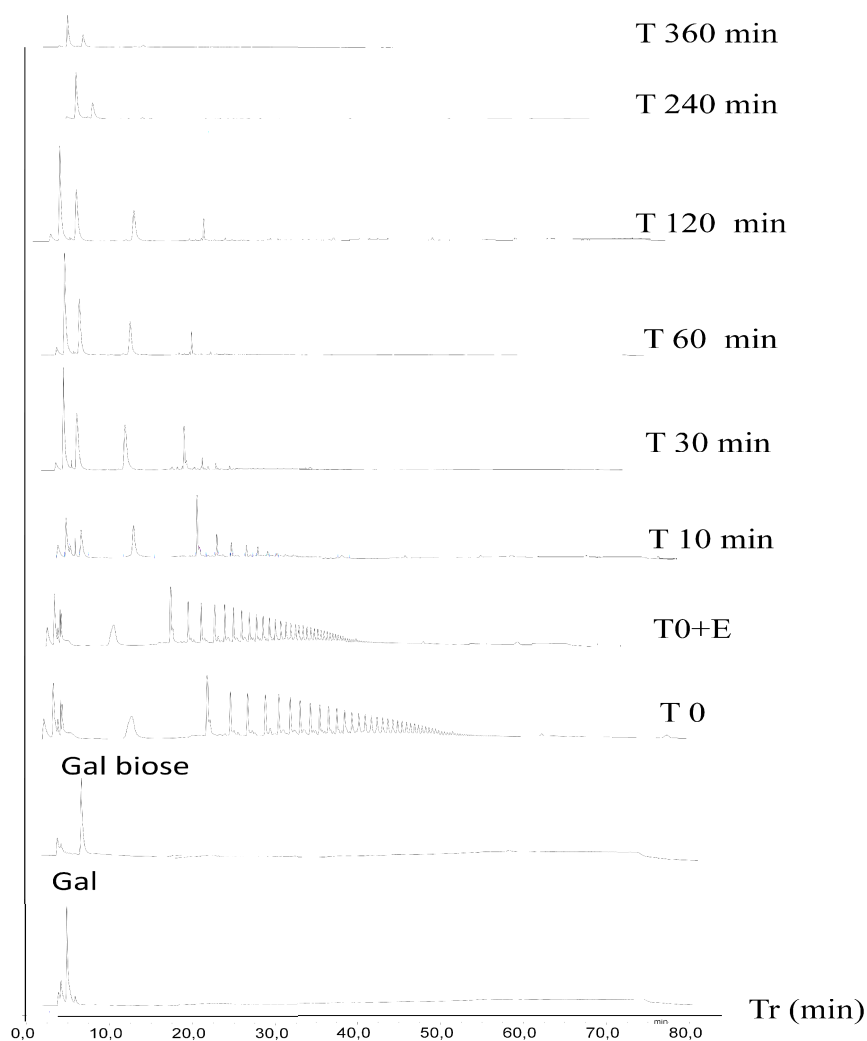


Figure 52 : Chromatogrammes des hydrolyses enzymatiques du galactane pectique commercial P-PGAPT (10g/L) obtenus par chromatographie échangeuse d'anions haute performance (HPAEC) sur colonne Carbopac PA200. Avec Gal : Galactose et Gal Biose : 4- β -Galactobiose

3.8. ACTIVITES BIOLOGIQUES DE L'ARABINO GALACTANE DE *CEREUS TRIANGULARIS*

3.8.1. Tests de digestibilité

Un des critères définissant un prébiotique est sa résistance, souvent qualifiée de non-digestibilité, au suc gastrique. De ce fait, cette caractéristique lui permet d'atteindre le gros intestin où il exerce ses effets bénéfiques. L'AG de *C. triangularis* et des prébiotiques commerciaux (FOS et inuline) ont été soumis à une hydrolyse par un suc gastrique artificiel afin de comparer leur résistance à la dégradation dans cet environnement. Le pourcentage de

digestibilité a été calculé en se basant sur le contenu en sucres réducteurs libérés et le contenu en sucre totaux de l'échantillon (Tableau 24).

Tableau 24 : Digestibilité des sucres testés (Inuline, FOS, AG de *Cereus triangularis*) exprimée en pourcentage d'hydrolyse

Echantillons testés	Temps (h)	pH				
		1	2	3	4	5
FOS	0,5	31,22±0,057	13,36±0,004	3,92±0,0007	5,42±0,009	2,43±0,014
	1	51,48±0,016	20,24±0,037	6,59±0,112	7,43±0,000	3,75±0,004
	2	73,92±0,007	26,56±0,005	10,66±0,116	7,95±0,002	4,93±0,0007
	3	79,42±0,014	35,12±0,041	11,48±0,010	8,32±0,000	6,11±0,010
	4	82,24±0,019	41,6±0,014	13,55±0,002	9,88±0,009	6,92±0,0028
	5	91,82±0,098	46,16±0,026	14,81±0,008	11,003±0,00	7,57±0,0014
	6	99,51±0,019	51,2±0,000	15,33±0,004	14,34±0,023	9,64±0,0063
INULINE	0,5	9,27±0,0140	9,30±0,070	1,35±0,0007	1,49±0,0007	1,23±0,00
	1	23,91±0,016	20,29±0,15	1,50±0,0001	1,52±0,0007	1,41±0,0002
	2	52,17±0,013	37,38±0,30	2,06±0,0001	1,62±0,000	1,47±0,0004
	3	75,26±0,016	51,2±0,400	2,25±0,0008	1,65±0,0002	1,51±0,0005
	4	87,76±0,006	60,29±0,46	2,93±0,0002	1,73±0,0004	1,55±0,001
	5	93,43±0,026	66,10±0,50	3,90±0,0014	1,99±0,001	1,56±0,002
	6	100±0,0440	73,23±0,56	4,26±0,0007	2,035±0,001	1,74±0,0007
AG	0,5	2,85±0,0007	2,86±0,0002	2,54±0,000	2,92±0,0007	2,20±0,0007
	1	2,91±0,0005	3,01±0,0004	2,60±0,0002	3,02±0,0005	2,34±0,0007
	2	2,97±0,0004	3,06±0,0005	2,81±0,0007	3,15±0,0004	2,50±0,001
	3	3,09±0,0003	3,23±0,0007	2,93±0,0009	3,31±0,0003	2,63±0,0003
	4	3,34±0,0004	3,28±0,0005	3,00±0,0005	3,63±0,0004	3,23±0,0007
	5	3,41±0,0001	3,40±0,0007	3,82±0,005	3,68±0,0001	3,47±0,000
	6	4,08±0,0012	3,58±0,0001	3,98±0038	3,94±0,0012	3,63±0,0004

Une différence significative de digestibilité est retrouvée en fonction du pH et du temps. Logiquement, les résultats montrent que le taux d'hydrolyse augmente avec la diminution du pH du suc gastrique artificiel qui favorise le phénomène d'hydrolyse. Les pourcentages maximaux de digestibilité de l'AG de *C. triangularis* (4,08%), des fructooligosaccharides (FOS) (99,51 %) et de l'inuline (100%) sont identifiés pour 6h d'hydrolyse à pH 1.

Les aliments sont généralement libérés de l'estomac humain, où le pH est d'environ 2-3, après 2h (Wang, 2003; Wichienhot *et al.*, 2010). Il est donc possible de conclure que l'AG répond au premier critère, de non digestibilité définissant un prébiotique.

Les cinétiques d'hydrolyse de l'AG de *Cereus triangularis*, des FOS et de l'inuline par un suc gastrique artificiel sont présentées dans la **Figure 53**.

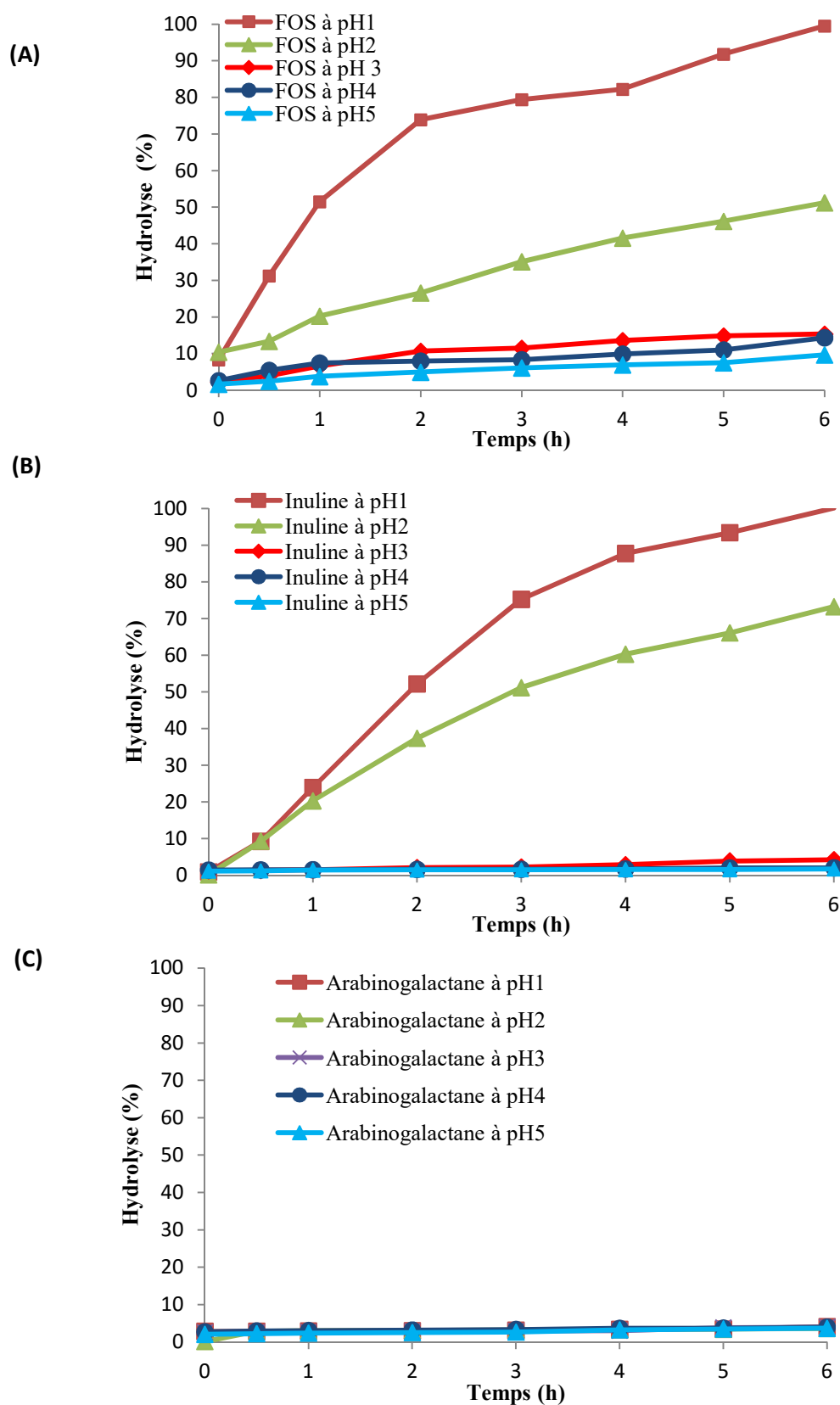


Figure 53 : Etude de la digestibilité à 37°C de pH 1 à 5 pour (A) les FOS, (B) l'inuline et (C) l'AG de *C. triangularis*

3.8.2. Tests prébiotiques

Dans le but d'évaluer l'utilisation des arabinogalactanes de *Cereus triangularis* et de ses dérivés oligosaccharidiques comme sources de carbone par la souche probiotique *L. rhamnosus*, les cinétiques de croissance ont été réalisées (avec une concentration en AG et oligosaccharides de 2%) et comparées à des cultures témoins sur milieux MRS supplémentés ou non avec de la vitamine C (2%), du glucose (2%), ou des prébiotiques commerciaux (2%) tels que les FOS et l'inuline. Le suivi de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* se fait par mesure de la densité optique à 600 nm par un lecteur de microplaques de type bioscreen (PerklinElmer).

La **Figure 54** présente les courbes de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS en présence des substrats : le glucose (témoins de croissance), l'inuline et les FOS (prébiotiques commerciaux), l'arabinogalactane de *Cereus triangularis* et les oligosaccharides issus d'une hydrolyse enzymatique de l'AG par une endo- β -(1,4)-galactanase. Notons que dans cette étude, nous avons choisi la fraction oligosaccharidique issue d'une hydrolyse de 5 minutes afin de générer peu de galactose et d'avoir une distribution en degrés de polymérisation estimée entre 2 et 15 (cf. **Figure 58** et **Tableau 23**). Par ailleurs, cette fraction a été préalablement dessalée par dialyse (membrane de 1kDa) afin d'éliminer les sels présents dans le tampon d'hydrolyse.

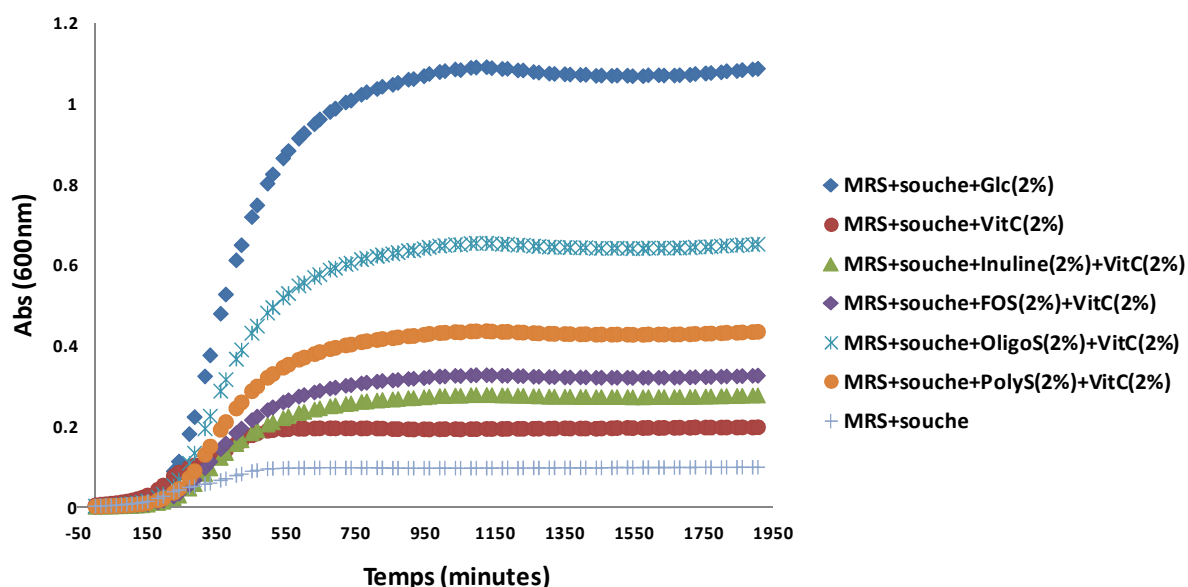


Figure 54 : Courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS supplémenté ou non par de la vitamine C (2%), du glucose (2% m/v), de l'inuline (2%

m/v), des FOS (2% m/v), de l'AG de *Cereus triangularis* (PolyS, 2% m/v) et, de l'oligosaccharide issu d'hydrolyse enzymatique de l'AG de *Cereus triangularis* (OligoS, 2% m/v)

Par comparaison avec le témoin négatif (milieu MRS sans substrat), on remarque que la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* est stimulée en présence des substrats carbonés (glucose, FOS et inuline). En effet, la croissance de la souche est plus élevée en présence d'une source de carbone que dans le cas du témoin négatif ou nous observons une faible croissance bactérienne après plus de 24 h d'incubation. Dans tous les milieux de culture en présence des sources carbonées (glucose, inuline et FOS) la souche probiotique *Lactobacillus rhamnosus* atteint la phase stationnaire aux alentours des 500 min d'incubation. Notons qu'en présence de glucose la croissance de la souche probiotique est supérieure aux autres conditions de substrats carbonés (FOS et inuline). Par ailleurs, bien que l'effet observé sur la croissance du probiotique soit inférieur à celui produit par le glucose, l'amélioration de la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* constatée en présence de l'inuline et des FOS est considérée comme significative et traduit bien un caractère prébiotique. En effet, un caractère prébiotique est attribué à une substance testée dès lors que celle-ci engendre un accroissement de croissance de probiotiques de l'ordre de 0,1 en absorbance (densité optique) après 16 h de culture (Genesite, 2006 ; Saad *et al.*, 2013 ; Donkor *et al.*, 2007; Olivera, 2011). De plus, même si la croissance de la souche en présence du glucose (témoin de croissance) est importante, le glucose ne peut être considéré comme un prébiotique du fait de son absorption précoce au niveau intestinal (Genesite, 2006 ; Saad *et al.*, 2013).

A ce stade de l'étude nous avons donc validé nos témoins prébiotiques commerciaux (Inuline et FOS) et notre souche probiotique modèle (*Lactobacillus rhamnosus*). Dès lors, le potentiel prébiotique de l'AG de *Cereus triangularis* et de son dérivé oligosaccharidique (OligoS) peut être comparé avec les croissances des prébiotiques commerciaux (inuline et FOS). Ainsi, comme observé sur la **Figure 54**, la souche de *L. rhamnosus* testée montrent une croissance importante dans les milieux de culture MRS supplémentés avec les fractions AG (PolyS) et oligosaccharides d'AG (OligoS). Ces résultats ont démontré la capacité de ces fractions (PolyS et OligoS) à être métabolisées par les lactobacilles, témoignant de leur potentiel prébiotique. La souche utilisée dans cette étude métabolise plus rapidement les polysaccharides que les oligosaccharides. Des comportements similaires ont été signalés précédemment en utilisant FOS et inuline comme sources de carbone pour certaines espèces de bifidobactéries (Vernazza *et al.*, 2006). Cependant, un certain nombre d'autres études sur les polysaccharides ont rapporté que des oligosaccharides de faible masse moléculaire ou des oligosaccharides hydrolysés ont une meilleure persistance dans le côlon ce qui augmente leur

fermentabilité par les communautés microbiennes intestinales (Ramnani *et al.*, 2012). Nos résultats sont comparables à ceux décrit par Gavligi *et al.* (2013). En effet, ces auteurs ont démontré que des arabinogalactanes issus des gommes végétales ainsi que leurs oligosaccharides obtenus par dépolymérisation enzymatique présentaient des propriétés prébiotiques. Il a particulièrement été démontré que les AG de faibles masses moléculaires augmentaient significativement la croissance de souches probiotiques. De plus, certaines de ces fractions oligosaccharidiques ont montré un effet inhibiteur sur la croissance de pathogènes tels que *Clostridium perfringens*.

Nos résultats mettent donc en avant l'utilisation potentielle des AG de *Cereus triangularis* ainsi que leurs dérivés oligosaccharidiques dans le domaine alimentaire en apportant de nouvelles sources de composés naturels aux propriétés prébiotiques.

3.8.3. Tests antimicrobiens

Des tests antimicrobiens ont été réalisés à l'aide de disques imbibés d'une solution à 20 mg/mL de l'AG de *C. triangularis* déposés sur des cultures en milieux solides de microorganismes pathogènes (*Streptococcus thermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae* et *Candida albicans*). Deux raisons justifient le choix des germes utilisés durant cette étude. La première est liée au fait que ces germes ont été isolés localement sur des patients puis conservés au Laboratoire de Microbiologie de l'Université d'Anthénée Saint Joseph Antsirabe (ASJA) à Madagascar. Par ailleurs, ces microorganismes sont responsables de très nombreuses pathologies telles que la candidose (Achkar *et al.*, 2010) ou des infections d'origine alimentaire. Après 24 heures d'incubation l'extrait apparaît actif sur les 5 germes testés.

Cette activité est mise en évidence par la présence d'une zone d'inhibition autour des disques imbibés d'extrait et pour laquelle il est possible de mesurer un diamètre d'inhibition (**Tableau 25** et **Figure 55**).

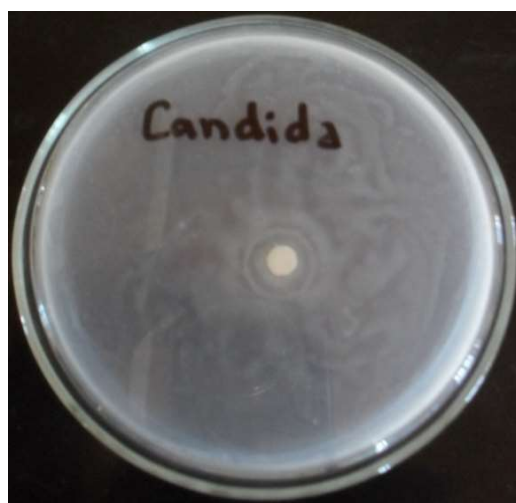
Tableau 25 : Diamètres d'inhibition (mm) des souches testées sur milieux solides en présence d'un disque imbibé d'une solution d'AG de *C. triangularis* à 20 mg/mL

Bactéries à Gram +			Bactéries à Gram -				Levure
<i>S.aureus</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S.typhimurium</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>C. albicans</i>
6	12	8	6	6	12	13	12

L'extrait d'AG s'est révélé particulièrement actif sur *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus thermophilus* et *Candida albicans*.



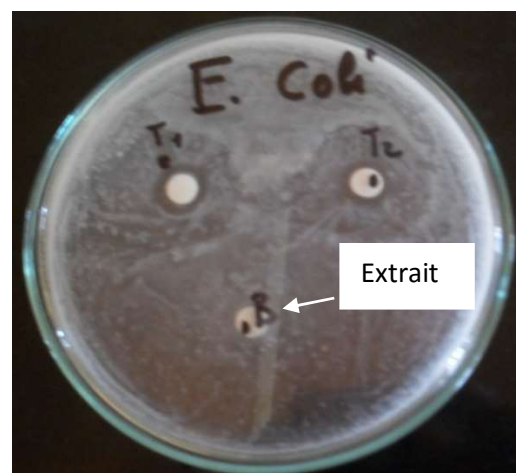
Vibrio cholerae



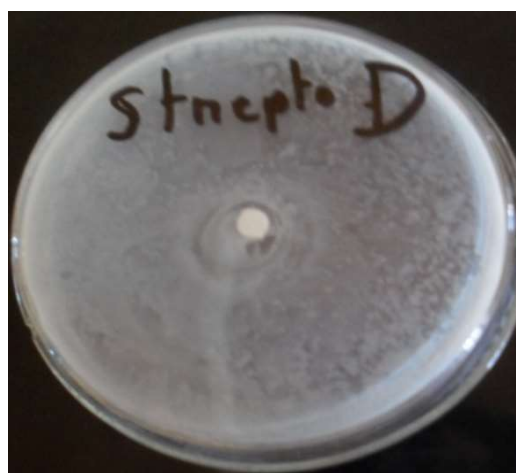
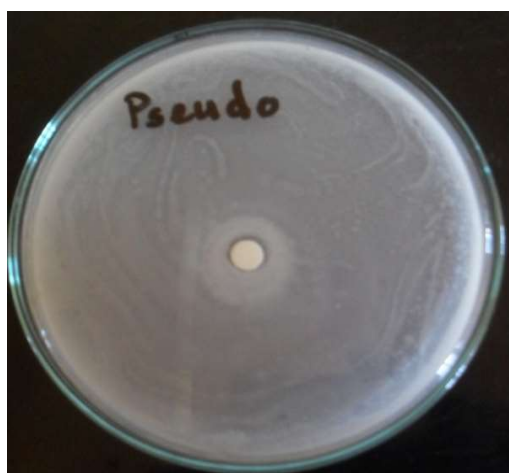
Candida albicans



Shigella dysenteriae



Escherichia coli



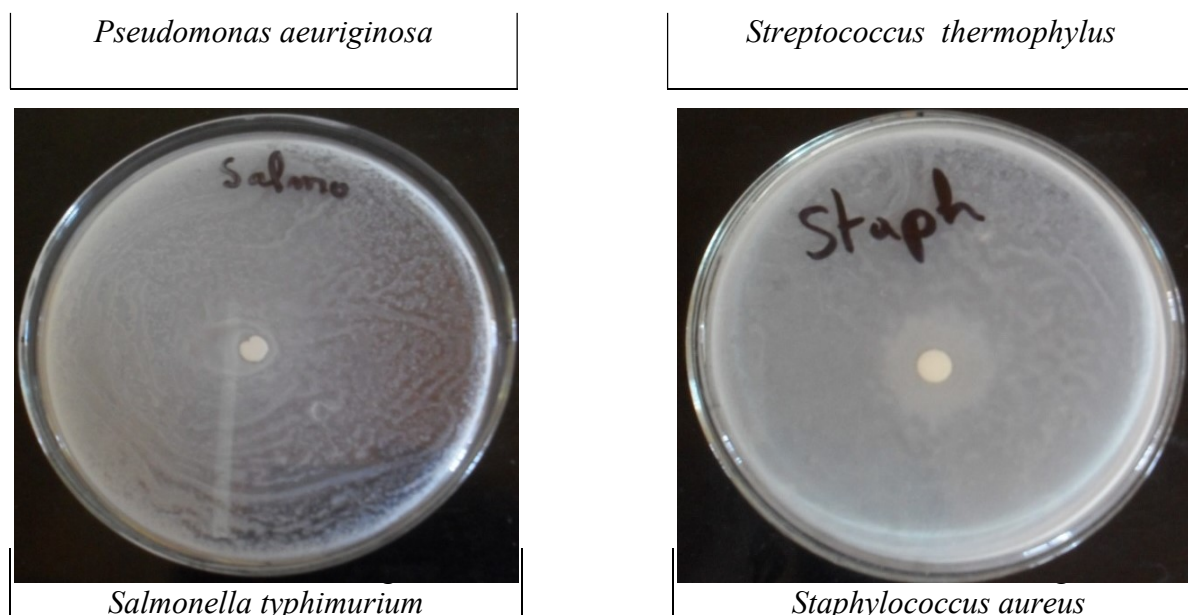


Figure 55 : Inhibition de la croissance de microorganismes pathogènes par une solution à 20 mg/mL d'un AG extrait de *Cereus triangularis*

Nous avons montré dans cette étude que l'AG de *Cereus triangularis* a des activités inhibitrices sur la croissance de microorganismes pathogènes comme *Shigella dysenteriae* et *Vibrio cholerae*. Ce type d'inhibition a déjà été détecté sur les mêmes microorganismes avec des polysaccharides végétaux tels que ceux issus d'*Astragalus gombo* pour des concentrations de 1 mg/mL (Hadjer, 2014).

3.8.4. Etude des propriétés antioxydantes des polysaccharides des cladodes de *Cereus triangularis*

Durant un stress oxydatif au sein d'un organisme, il y a génération de nombreuses espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que les radicaux hydroxyles et anions superoxydes qui vont endommager les tissus en réagissant avec les macromolécules biologiques telles que les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Halliwell et Auroma, 1991 ; Cuzzocrea *et al.*, 2001). De ce fait, des molécules antioxydantes (AO) sont généralement utilisées pour lutter contre les dommages liés aux phénomènes oxydatifs en régulant la quantité de ROS générés au niveau cellulaire. Leur rôle dans les préparations industrielles alimentaires est plus de protéger l'aliment de phénomènes oxydatifs néfastes (rancissement, altération de la couleur,...) que d'apporter une protection contre les oxydations cellulaires chez le consommateur. Afin de substituer les AO de synthèse couramment utilisés comme le butylhydroxytoluène (BHT), le tert-butylhydroquinone (TBHQ), le propyl gallate (PG) ou le butylhydroxyanisole (BHA) (Qi *et al.*, 2005), l'utilisation d'antioxydant naturels issus du

monde végétal a été de plus en plus privilégiée ces dernières années (Dimitrios, 2006). Parmi eux, les polysaccharides et plus particulièrement les AG ont été décrits pour leur pouvoir antioxydant (Hu *et al.*, 2016 ; Ghosh *et al.*, 2015 ; Chatterjee *et al.*, 2014 ; Liu *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2013 ; Nosalova *et al.*, 2013 ; Baggio *et al.*, 2012 ; Ali et Al Moundhri 2006 ; Hinson *et al.*, 2004 ; Trommer et Neubert, 2005).

Dans ce contexte, les propriétés antioxydantes de l'AG extrait des cladodes de *C. triangularis* ont été étudiées afin d'estimer son potentiel comme antioxydant naturel.

3.8.4.1. Activité anti-radical DPPH

Le pouvoir antioxydant de l'AG extrait des cladodes de *C. triangularis* a été évalué par le dosage de l'activité anti-radical DPPH (**Figure 56**). Le test anti-radical DPPH est sans conteste la principale méthode utilisée pour évaluer le pouvoir de réduction des radicaux libres par des molécules antioxydantes (Delattre *et al.*, 2014; Elboutachfaiti *et al.*, 2011).

Comme observé sur la **Figure 56**, pour chaque concentration testée, l'AG extrait des cladodes de *C. triangularis* présente une activité antioxydante vis à vis des radicaux DPPH. Cependant, il est à noter que pour toutes les concentrations testées (de 0,01 à 8 g/L), ces activités anti-radicalaires sont toujours inférieures à celles des solutions d'acide ascorbique (antioxydant naturel standard). Pour des concentrations plus élevées en AG (de l'ordre de 10 g/L) une activité anti-radical DPPH similaire à celle de l'acide ascorbique est observée. A partir de ces mesures, une CE50 (concentration efficace médiane) de 3,5 g/L a été estimée pour l'AG des cladodes de *C. triangularis*.

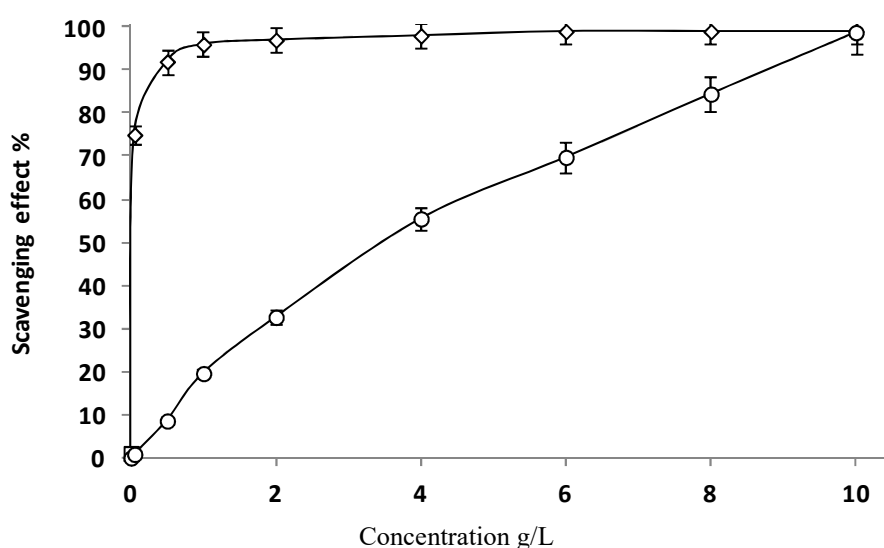


Figure 56 : Activités anti-radicalaires (radical DPPH) de l'AG extrait des cladodes de *Cereus triangularis* (-O-) et de l'acide ascorbique (-◇-) utilisé comme anti-oxydant standard

Cette valeur est supérieure à celles d'autres polysaccharides antioxydants décrits tels que les polysaccharides d'*Allanblackia floribunda* possédant une CE50 de 0,003 g/L ou encore les polysaccharides de *Chromolaena odorata* possédant une CE50 d'environ 0,004 g/L (Boudjeko, 2015). Toutefois notons que pour un grand nombre de polysaccharides décrits comme antioxydants efficaces ($CE_{50} < 0,1 \text{ g/L}$) la présence de contaminants phénoliques (composés phénoliques antioxydants) vient fausser l'estimation de leurs capacités antioxydantes intrinsèques entraînant ainsi des surestimations concernant les valeurs de CE50 (Hu *et al.*, 2016). En règle générale, les propriétés anti-radical DPPH des antioxydants naturels tels que les polysaccharides peuvent être corrélées à leur capacité de donneur d'hydrogène (Hu *et al.*, 2016 ; Delattre *et al.*, 2015).

3.8.4.2. Activité anti-radical hydroxyle

Le pouvoir antioxydant de l'AG extrait des cladodes de *C. triangularis* a été évalué par le dosage de l'activité anti-radical hydroxyle (**Figure 57**).

La **Figure 64** montre sans ambiguïté que l'activité anti radicalaire de cet AG de vis-à-vis des radicaux hydroxyles est concentration dépendante mais toujours en deçà de ce qui est observé avec l'acide ascorbique à concentration équivalente.

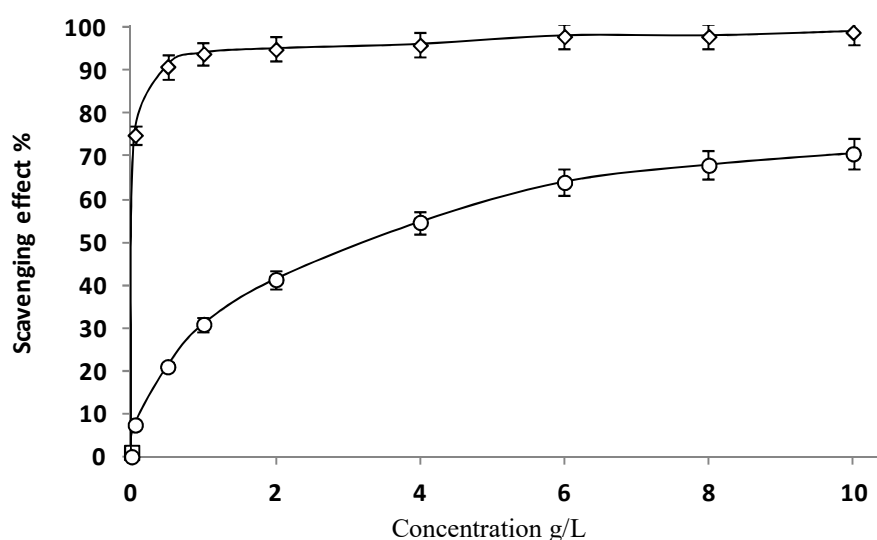


Figure 57 : Activités anti-radicalaires (radical hydroxyle) de l'arabinogalactane extrait des cladodes de *Cereus triangularis* (-O-) et de l'acide ascorbique (-◇-) utilisé comme antioxydant standard

Pour de faibles concentrations (0,01 à 2 g/L), l'effet anti-radicalaire de l'AG passe de 5 à 40% contre environ 90% dans le cas de l'acide ascorbique. Pour une concentration plus élevée de polysaccharides, (> 6 g/L), la capacité anti-radicalaire est estimée aux alentours de 60-65 %. A partir de ces résultats, une CE50 de 3,2 g/L a été estimée.

Cette CE50 est globalement plus élevée que celles observées pour les polysaccharides extraits des cactus comme par exemple ceux issus de cladodes et fruits de *Opuntia ficus-indica* où les valeurs de CE50 sont estimées entre 0,4 et 0,6 g/L en utilisant le même protocole de dosage (Zhong *et al.*, 2010). Encore une fois, rappelons que la présence possible de composés phénoliques antioxydants décrits dans certaines plantes fausse l'estimation des CE50 de la majorité des polysaccharides végétaux. De manière générale, les résultats obtenus dans notre étude restent cependant comparables avec ceux issus de la littérature pour d'autres polysaccharides végétaux antioxydants possédant un effet anti-radical hydroxyle (Yuan *et al.*, 2005 ; Hu *et al.*, 2016).

3.8.4.3. Activité anti-radical anion superoxyde

Un radical anion superoxyde peut être produit par des procédés biologiques *in vivo* conduisant à la formation de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par des réactions de dismutation (Elboutachfai *et al.*, 2011). La découverte du radical superoxyde en milieu cellulaire est étroitement liée à la description de la superoxyde dismutase (SOD). Cette métalloprotéine a été initialement décrite et extraite des érythrocytes de bovins par Mann et Keilin en 1939. Puis en 1969, McCord et Fridovich ont pu établir le mécanisme de son activité enzymatique qui catalyse l'obtention de peroxyde d'hydrogène à partir de la dismutation du radical superoxyde (Figure 58).

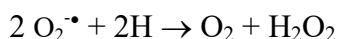


Figure 58 : Réaction de dismutation du radical superoxyde catalysée par la SOD

Lors d'un stress oxydatif, les radicaux anions superoxydes (O₂^{•-}) sont connus pour être des précurseurs des ROS nocifs pour les composés cellulaires. En effet, les radicaux O₂^{•-} sont des précurseurs de la synthèse de l'oxygène singulet et du radical hydroxyle responsables des réactions de peroxydation des lipides (Halliwell et Auroma, 1991). Par analyse *in vitro* en utilisant le procédé d'auto-oxydation de pyrogallol pour produire les radicaux O₂^{•-} (Wang et Luo, 2007), il est possible de vérifier l'effet anti-radical anion superoxydes de molécules

naturelles telles que les polysaccharides. Dans ce contexte, l'effet anti-radical $O_2^{\bullet-}$ des AG de *C. triangularis* a été testé (Figure 59).

Comme observé pour les autres activités anti-radicales (anti-radicaux hydroxyles et anions superoxyde), cet effet anti-radicalaire augmente avec la concentration en polysaccharide. Quelles que soient les concentrations en polysaccharide les activités anti-radicales sont toujours inférieures à celles observées pour l'acide ascorbique.

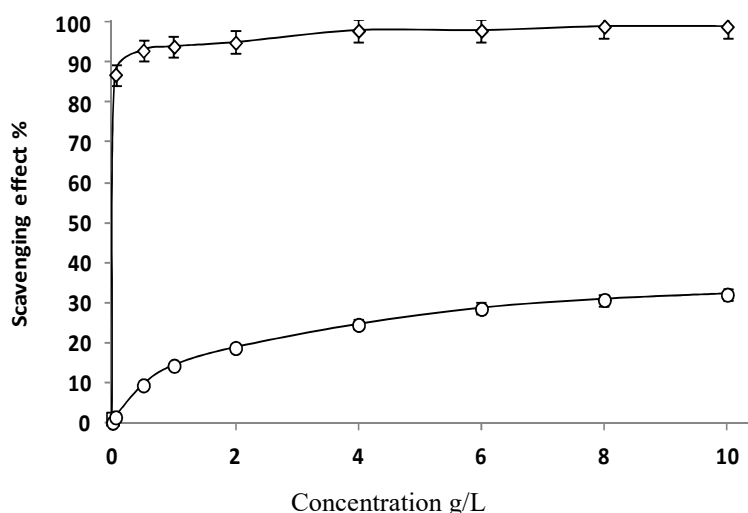


Figure 59 : Activités anti-radicalaires (radical anion superoxyde) de l'arabinogalactane extrait des cladodes de *Cereus triangularis* (-O-) et de l'acide ascorbique (-◇-) utilisé comme antioxydant standard

A la concentration de 0,5 g/L, l'activité anti-radicalaire de l'AG est estimée à 9% contre 93% pour l'acide ascorbique. Dans le cas d'une forte concentration (10 g/L), l'AG a une activité anti-radicalaire vis-à-vis de l'anion superoxyde de 30% contre 93% pour l'acide ascorbique.

Par conséquent, l'effet anti-radicalaire est inférieur à 50 % comparé à l'acide ascorbique pour toutes les concentrations testées.

Par comparaison avec d'autres polysaccharides extraits de cactus, l'AG des cladodes de *C. triangularis* est un moins bon anti-radical anion superoxyde que les polysaccharides extraits d'*Opuntia ficus-indica* où une CE50 d'environ 0,7 g/L a été estimée (Zhong *et al.*, 2010).

3.8.4.4. Pouvoir réducteur

De manière générale, dans le but d'évaluer le pouvoir antioxydant de composés naturels tels que les polysaccharides, des mesures de pouvoir réducteur sont réalisées (Dorman *et al.*, 2003). Selon le mode opératoire décrit par Yuan *et al.* (2005), une molécule antioxydante permet la réduction de l'ion Fe^{3+} (issu du ferricyanide de potassium) en ion Fe^{2+} . Par

conséquent, en ajoutant du FeCl_3 , un complexe de couleur bleue spécifique est produit. Ainsi, le pouvoir réducteur du composé naturel peut être estimé en mesurant la formation du complexe à 700 nm. Dans cette étude, nous avons utilisé cette méthode pour évaluer le pouvoir réducteur de l'AG extrait des cladodes de *Cereus triangularis* (**Figure 60**). L'absorbance à 700 nm de la solution d'AG augmente de façon proportionnelle à sa concentration. Cependant, en comparaison avec l'acide ascorbique (utilisé comme témoin), le pouvoir réducteur de ce polysaccharide est très faible. En effet, même à concentration élevée (10 g/L), nous observons une absorbance 0,05 pour l'AG contre 0,39 pour l'acide ascorbique.

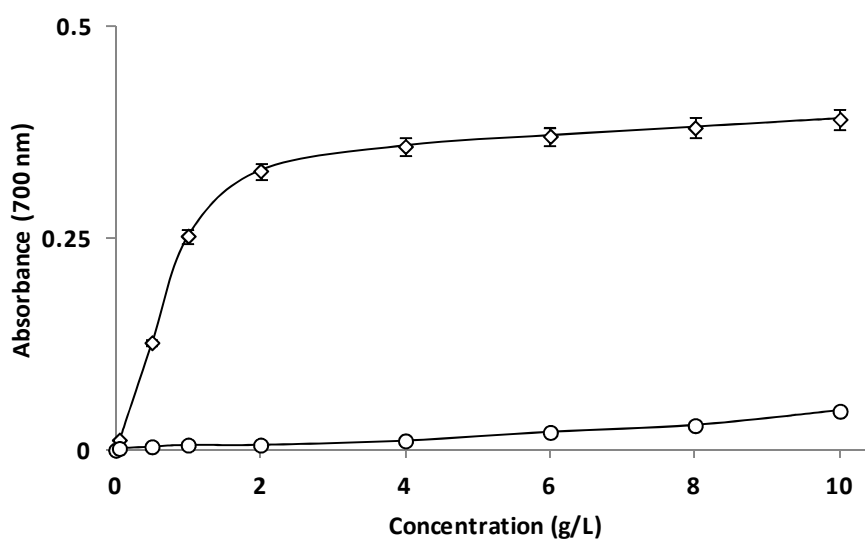


Figure 60 : Pouvoir réducteur de l'AG extrait des cladodes de *Cereus triangularis* (-O-) et de l'acide ascorbique (-◇-) utilisé comme antioxydant standard

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse a été conduit en cotutelle entre le Laboratoire des Substances Naturelles de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antsiranana (Madagascar) et l'axe Génie des Procédés Energétique et Biosystèmes de l'Institut Pascal (UMR CNRS 6602) de l'Université Blaise Pascal (France). Son objectif était d'extraire et de caractériser les polysaccharides des cladodes d'un cactus, *Cereus triangularis*, collecté dans la région nord de Madagascar et couramment utilisé sous la forme de décoctions dans la pharmacopée malgache.

Après une première étape de recherche bibliographique, les hydrocolloïdes présents dans les cladodes de ce cactus ont été extraits de façon séquentielle avec un rendement de 24,6 % (m/m). La caractérisation structurale de la macromolécule extraite a été réalisée par dosages colorimétriques, chromatographie ionique, chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C ; nous permettant d'identifier un arabinogalactane (AG) de type I. Ce polysaccharide est constitué d'une chaîne principale de galactane de type β -(1,4)-D-Galp substituée en position 3 par des groupements T- α -L-Araf-(1, ou des chaînes latérales d'arabinanes de type T- α -L-Araf-(1,[,5)- α -L-Araf-(1,[n,5)- α -L-Araf-(1,.

La caractérisation de ce biopolymère en régime dilué par chromatographie d'exclusion stérique haute performance couplée à la diffusion de la lumière et à la refractométrie différentielle a permis d'identifier sa masse moléculaire comme étant comprise entre 1 270 et 8 430 kDa et sa viscosité intrinsèque (viscosimétrie en ligne) à 455 ± 15 mL/g.

Des analyses rhéologiques conduites en milieu semi dilué ont permis de mettre en évidence que l'arabinogalactane de *Cereus triangularis* présente un comportement rhéofluidifiant non affecté par la présence de sels (KCl ou NaCl). L'absence de transition conformationnelle des polysaccharides sous l'effet de la température a pu être corrélée avec de faibles interactions intra et interchaînes. Des analyses en mode oscillatoire ont complété cette caractérisation en concluant à un comportement rhéologique typique d'un fluide viscoélastique ayant des propriétés de gel faible. Il est donc possible d'associer cet arabinogalactane de type I (AG-I) à un épaississant au même titre que certaines gommes naturelles telles que le guar et la caroube.

Au vue de l'utilisation importante et toujours d'actualité de décoctions aqueuses de cladodes de *Cereus triangularis* dans la médecine traditionnelle malgache pour soulager certains désordres digestifs, des investigations ont été entreprises afin d'identifier certaines activités biologiques associées à cet arabinogalactane de type I. En effet, outre l'effet de « pansement gastrique » probablement associé à la consommation de cet épaississant de très haute masse

molaire, de nombreux polysaccharides se révèlent être d'excellents antioxydants et/ou prébiotiques capables d'améliorer significativement l'équilibre intestinal du consommateur.

Des tests de digestibilité réalisés dans un jus gastrique artificiel à différents pH et pour différentes concentrations en polysaccharides ont clairement mis en évidence la résistance de l'arabinogalactane de *Cereus triangularis* aux pHs acides tels que ceux rencontrés dans l'estomac humain. Cette caractéristique, propre aux fibres alimentaires, est indispensable pour assurer leur intégrité jusqu'à l'arrivée dans l'intestin grêle où elles peuvent être fermentées par le microbiote intestinal. Dans le cadre de cette étude, une souche de *Lactobacillus rhamnosus* référencée a été choisie comme bactérie probiotique modèle afin d'étudier la fermentescibilité des oligo- et polysaccharides de *Cereus triangularis* et de les comparer avec des prébiotiques commerciaux tels que l'inuline et les fructooligosaccharides (FOS). Les résultats obtenus ont montré très clairement que l'utilisation d'oligo- ou de polysaccharides de cladodes de *Cereus triangularis* permet la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* qui les utilise comme source de carbone en conditions anaérobies, au même titre que les FOS ou l'inuline. Ce résultat justifie ainsi l'utilisation de cette plante dans le traitement traditionnel de troubles digestifs. Il s'agit là d'un résultat encourageant qui devra être exploré sur d'autres souches probiotiques *in vitro* et sur des modèles animaux.

Concernant les activités antioxydantes de l'arabinogalactane de *Cereus triangularis*, même si des activités anti-radicalaires ont clairement été identifiées notamment contre le DPPH, celles-ci se sont révélées assez faibles contre les radicaux superoxydes et hydroxyles même à des fortes concentrations de polysaccharides.

Ces travaux ont donc conduit aux caractérisations structurale et physico-chimique d'un arabinogalactane de type I de cladodes de *Cereus triangularis*. Les rendements d'extraction importants associés à la facilité de culture de ce cactus encore peu exploitée et bien adaptée au climat du nord de Madagascar en font un bon candidat pour la production d'épaississants mais également de fibres alimentaires aux propriétés nutraceutiques. Les stratégies de dégradation enzymatique testées sont prometteuses et les produits obtenus pourront rapidement faire l'objet de nouveaux tests prébiotiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Achkar J.M., Fries B.C., 2010. *Candida* Infections of the Genitourinary Tract. *Clinical Microbiology Reviews* 23 : 253-273

Adel A.M., Abdel-Wahab Z.H., Ibrahim A.A., Al-Shemy M.T., 2010. Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials. Part I. Acid catalyzed hydrolysis. *Bioresource Technology* 101 : 4446-4455.

Adler S., Verdeil J., Lartaud M., Fock-Bastide I., Joët T., Conéjéro G., Noirot M., 2014. Morphological and histological impacts of the laurina mutation on fructification and seed characteristics in *Coffea arabica* L. *Trees* 28 : 585-595.

Ali B.H., Al-Moundhri M.S., 2006. Agents ameliorating or augmentating the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds : a review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology* 44 : 1173-1183.

Al-Assaf S., Sakata M., McKenna C., Aoki H. & Phillips G.O., 2009. Molecular associations in acacia gums. *Structural Chemistry* 2 : 325–336.

Amaro F.L., Soares M.T., Pinho C., Almeida I.F., Pinho O., Ferreira I.M.P.L.V.O., 2013. Processing and storage effects on anthocyanin composition and antioxidant activity of jams produced with *Camarosa* strawberry. *Journal of Food Science and Technology* 48 : 2071-2077.

Amin E.S., Kandeel K.M., 1972. The hemicellulose of pollen grains of *Phoenix dactylifera*. *Carbohydrate. Research* 25 : 261-263.

Anderson D.M.W., Bell P.C., 1976. Analytical and structural features of the gum exudates from *Combretum hartmannianum* Schweinf. *Carbohydrate Research* 49 : 341-349.

Anderson D.M.W., Stoddart J.F., 1966. Studies on uronic acid materials-Part XV: the use of molecular sieve chromatography in studies on *Acacia senegal* gum (gum Arabic). *Carbohydrate Research* 2 : 104-114.

Anderson E.F., 2005. Das grosse Kakteen-Lexikon. Stuttgart (D) : Ulmer (= korrigierte deutsche Übersetzung von Anderson E. F., 2001). The cactus family. Portland (US).

Adel A.M., Abdel-Wahab Z.H., Ibrahim A.A., Al-Shemy M.T., 2010. Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials, Part I. Acid catalyzed hydrolysis. *Bioresource Technology* 101 : 4446 – 4455.

Andrade E.N.D., 1930. The Viscosity of Liquids. *Nature* 125 : 309-310.

Arifkhodzhaev A.O., 2000. Galactans and galactan-containing polysaccharides of higher plants. *Chemistry of Natural Compounds* 36 : 229-244.

Arba M., 2000. Les *Opuntias* à fruits comestibles dans certaines régions du Maroc. Dans IIème journée nationale sur la culture du cactus. El Kelaa Des Sraghana-Maroc, 29 p.

Aspinall G.O., 1982. The polysaccharides. New York : Academic Press, 503 p.

Avat F., 1993. Contribution à l'étude des traitements thermiques du bois jusqu'à 300° C : transformations chimiques et caractérisations physico-chimiques, Ph. D. Thesis, Ecole des Mines de Saint-Etienne, France.

Axelos M.A., Thibault J.F., 1991. The chemistry of low methoxyl pectin gelation, In : *The chemistry and technology of pectin*, Walter R.H. (Ed.), Academic Press New York, 448 p.

Bacic A, Currie G, Gilson P, Mau SL, Oxley D, Schultz C, Sommer-Knudsen J, Clarke A.E., 2000. Structural classes of arabinogalactan-proteins. In E Nothnagel, A Bacic, A Clarke, eds, *Cell and Developmental Biology of Arabinogalactan-Proteins*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 11-23.

Bacic A., Churms S.C., Stephen A. M.; Cohen, P. B.; Fincher, G. B., 1987. Fine structure of the arabinogalactan protein from *Lolium multiflorum*. *Carbohydrate Research* 162 : 85-93.

Baeza R. V., Sanchez C.C., Pilosof A., Patino J.M.R., 2005. Interactions of polysaccharides with β -lactoglobulin adsorbed films at the air-water interface. *Food Hydrocolloids* 19 : 239-248.

Baggio C.H., Freitas C.S., Marcon R., Wemer M.F.D.P., Rae G.A., Smiderle F.R., Sassaki G.L., Iacomini.M., Marques M.C.A., Santos A.R.S., 2012. Antinociception of β -D-glucan from *pleurotus pulmonarius* is possibly related to protein kinase C inhibitor. *International Journal Biology Macromolecule* 50 : 872-877.

Baldwin T.C., McCann M.C., Roberts K., 1993. A novel hydroxyproline-deficient arabinogalactan protein secreted by suspension-cultured cells of *Daucus carota*. Purification and partial characterization. *Plant Physiology*. 103 : 115-123.

Bao X., Wang Z., Fang J., Li X., 2002. Structural features of an immunostimulating and antioxidant acidic polysaccharide from the seeds of *Cuscuta chinensis*. *Planta Med.* 68 : 237-43.

Barbeau G., 1990. La pitahaya rouge, un nouveau fruit exotique. *Fruits* 45 : 141-147.

Bàrcenas P., 1994. Efecto de très sustratos en el enraizamiento y desarrollo de pitahaya (*Hylocereus undactus*). *Interamerican Society for Tropical Horticulture* 38 : 120-121.

Barnes H.A., 2000. A Handbook of Elementary Rheology. University of Wales. Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, *Cambrian Printers*, 200 p.

Barka N., Abdennouri M., El Makhfouk M., Qurzal S., 2013. Biosorption characteristics of cadmium and lead onto eco-friendly dried cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 1 : 144-149.

Barry H., John G., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, USA.

Bauer R., 2003. A synopsis of the tribe Hylocereeae F. Buxb. *Cactaceae Systematics Initiatives*, 17 : 3-63.

Bemiller J.N., 1985. Gums, Industrial, in "*Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*". H. F. Mark, N. M. Bikales, C. G. Overberger, and G. Menges, (Eds.) John Wiley and Sons, New York, 226 p.

Bellec F., Judith R.C., 1999. La pitahaya à la Réunion, bilan et perspectives. Cirad, Saint-Pierre, France, 20 p.

Bemiller J.N., 1967. Acid-catalysed hydrolysis of glycosides. *Advances in Carbohydrate Chemistry* 22 : 25-108.

Ben Thlija, 1987. Nutritional value of several *Opuntia species*. Thesis. Corvallis, OR, USA: Oregon State University, 84 p.

Bento J.F., Noleto G.R., Petkowicz C.L., 2014. Isolation of an arabinogalactan from *Endopleura uchi* bark decoction and its effect on HeLa cells. *Carbohydrate Polymers* 101 : 871-877.

Berger A., 1905. A Systematic Revision of the *Genus Cereus* Mill. *Missouri Botanical Garden Annual Report* 16 : 57-86.

Berger A., 1929. Kakteen. Stuttgart (Germany), Verlag von Eugen Ulmer; 337 p.

Beuth J, Ko H.L., Oette K., 1987. Inhibition of liver metastasis in mice by blocking hepatocyte lectins with arabinogalactan infusions and D-galactose. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 113 : 51-55.

Beuth J., Ko H.L., Schirmacher V., 1988. Inhibition of liver tumor cell colonization in two animal tumor models by lectin blocking with D-galactose or arabinogalactan. *Clinical and Experimental Metastasis* 6 : 115-120.

Bhattacharyya A., Chattopadhyay R., Mitra S., Crowe S.E., 2014. Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases. *Physiological Review* 94 (2) : 329-354.

Biganska O., Navard P., Bedue O., 2002. Crystallisation of cellulose/Nmethyilmorpholine N-oxysol solutions. *Polymer* 43 : 6139-6145.

Blakeney A.B., Harris P.J., Henry R.J., Stone B.A., 1983. A simple and rapid preparation of alditols acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydrate Research* 113 : 291-299.

Blumenkrantz N., Absoe-Hansen G., 1973. New methods for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry* 54 : 484-489.

Bongiorno de Pfrter G.M., Caffini N.O., Buttazzoni de Cozzarin M.S., 1973. Otros exudados gomosos en especies argentinas del género *Bromelia*. II. La goma de *Bromelia hieronymi* Mez (*Bromeliaceae*). *Review Farm* 115 : 48-50.

Bonnin E., Dolo E., Le Goff A., Thibault J.F., 2002. Characterisation of pectin subunits released by an optimised combination of enzymes. *Carbohydrate. Research* 337 : 1687-1696.

Bonnin E., Renard C.M.J.C., Thibault, J.F. et Ducro P., 1997. Les enzymes de dégradation des parois végétales: mode d'action et utilisation alimentaires. Dans : *Enzymes en Agro-alimentaire*. Larreta-Garde V., Eds. *Techniques et Documentations Lavoisier* 6 : 168-200.

Bonnin E., Saulnier L., Magali B., Thibault J-F., 2002b. Release of ferulic acid from agroindustrial by-products by the cell wall-degrading enzymes produced by *Aspergillus niger* I-1472. *Enzyme Microbiology Technology* 31 : 1000-1005.

Bovo *et al.*, 2016. Modulating Effects of Arabinogalactans From Plant Gum Exudates on Human Complement System. *Scandinavian Journal of Immunology* 83 (5) : 314-320.

Brat P., Olle D., Reynes M., Alter P., Cogat P.O., 2002. Preparation of tropical fruit purees by flash vacuum-expansion. *International Society for Horticultural Science* 575 : 535-541.

Brudieux V., 2007. Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. *Faculté des Sciences et Techniques*. Université de Limoge 223 p.

Bosser J., Cadet T., Gueho J., Marais W., 1984. Flore des Mascareignes. Office de la Recherche Scientifique Outre Mer.Paris. France, Tome 103, Famille des Cactacées, 1-8.

Boudjeko T., Megnekou R., Woguia A.L., Kegne F.M., Ngomoyogoli J. E.K.T., Chapoum C.D.N., Koum O., 2015 . Antioxidant and immunomodulatory properties of polysaccharides from *Allanblackia floribunda* Oliv stem bark and *Chromolaena odorata* (L.) King and H.E. Robins leaves. *BMC Research Notes* 8 : 759.

Bousseboua H., 2002. Elément de microbiologie générale .Université Montsouris, contiens : 31-170.

Bouzouita N., Khaldi A., Zgoulli S., Thonart P, 2007. The analysis of crude and purified locust bean gum: a comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry* 101 : 1508-1515.

Bovo B., Nadai C., Vendramini C., Junior W.J.F.L., Carlot M., Skelin A., Giacomini A., Corich V., 2016. Aptitude of *Saccharomyces* yeasts to ferment unripe grapes harvested during cluster thinning for reducing alcohol content of wine. *International Journal of Food Microbiology* 236 : 56-64.

Brian-Jaisson F., Ortalo-Magné A., Guentas-Dombrowsky L., Armougom F., Blache Y., Molmeret M., 2014. Identification of bacterial strains isolated from the Mediterranean Sea exhibiting different abilities of biofilm formation. *Microbial Ecology* 68 (1) : 94-110.

Brillouet J-M.C., Williams P., Moutounet M., 1991. Purification and some properties of novel endo β (1-6) D galactanase from *Aspergillus niger*. *Agricultural and Biological Chemistry* 55 : 1665-1571.

Brillouet J-M.C., Williams P., Will F., Müller F., Pellerinup F., 1996. Structural characterization of an apple juice arabinogalactan-protein which aggregates following enzymic dearabinosylation. *Carbohydrate Polymers* 29 : 271-275.

Brillouet J.M., Saulnier L., 1998. Structural studies of pectic substances from the pulp of grape berries. *Carbohydrate Research* 182 : 63-78.

Brisson S., Rigal L., Manolas C., Gaset A., 1994. Les hémicelluloses de plantes annuelles, une source d'ingrédients fonctionnels et de matériaux pour de nouvelles valorisations non alimentaires des grandes productions agricoles. Valorisations non-alimentaires des grandes productions agricoles, Nantes (France), INRA Editions, 231 p.

Brito A.C.F., Silva D.A., Regina C.M.P., Feitosa J.P.A., 2004. *Sterculia striata* exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with *Sterculia urens* (karaya) polysaccharide. *Polymer International* 53 : 1025-1032.

Britton, Rose, 1919. The Cactaceae; descriptions and illustrations of plants of the cactus family. Carnegie Institution of Washington, Washington. 248 p.

Britto, Rose, 1923. The Cactaceae; description and illustrations of plants of cactus family. Carnegie Institution of Washington, Washington 248 p.

Brown RM. 2004. Cellulose structure and biosynthesis: what is in store for the 21st century. *Journal of Polymer Science. Part A. Polymer Chemistry* 42 : 487-495.

Buchal A.J., Meier H., 1981. An arabinogalactan from the fibres of cotton (*Gossypium arboreum* L.). *Carbohydrate Research* 59 : 137-143.

Buckeridge M., Pessoa dos Santos H, Tiné M., 2000. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 38 (1-2) : 141-156.

Burgess D.J. Carless J.E., 1985. Manufacture of gelatin.gelatin coacervate microcapsules. *International Journal of Pharmaceutics* 27 : 61-70

Butterworth C.A., Cota-Sanchez J.H., Wallace R.S., 2002. Molecular Systematics of Tribe Cactaeae (Cactaceae: Cactoideae): A Phylogeny Based on rpl16 Intron Sequence Variation. *Systematic Botany* 27 : 257-270.

Calero N., Muñoz J., Ramirez P. et Guerrero A., 2010. Flow behaviour, linear viscoelasticity and surface properties of chitosan aqueous solutions. *Food Hydrocolloids* 24 : 659-666.

Camperi S.A., Grasselli M., Cascone O., 2000. High-speed pectic enzyme fractionation by immobilized metal ion affinity membranes. *Bioseparation* 9 : 173-177.

Capek P., 2008. An arabinogalactan containing 3-O-methyl-D-galactose residues isolated from the aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Carbohydrate Research* 343 : 1390-1393.

Cardenas A., Higuera-Ciapara I., Goycoolea, F.M., 1997. Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2 : 152-159.

Carpita N., McCann M., 2000. The cell wall. In B. B. Buchanan, W. Gruissem and R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of plants*. J. Wiley and Sons, Somerset N.J.; Rockville, 52-108.

Carpita N.C., Gibeaut D.M., 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants : consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal: for cell and molecular biology* 3 : 1-30.

Carpita N.C., Shea E.M. 1989. Linkage structure of carbohydrates by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of partially methylated alditol acetates: analysis of carbohydrates by GLC and MS. In Analysis of Carbohydrates by GLC and MS; Biermann C.J., McGinnis G.D., Eds., *CRC Press* : 157-216.

Cao W., Li X.Q., Wang X., Fan H.T., Zhang X.N., Hou Y. 2010. A novel polysaccharide, isolated from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels induces the apoptosis of cervical cancer HeLa cells through an intrinsic apoptotic pathway. *Phytomedicine* 17 : 598-605.

Cao W., Li X.Q., Liu L., Yang T.-H., Li C., Fan H.-T., Jia M., Lu Z.-G., Mei Q.-B., 2006. Structure of an anti-tumor polysaccharide from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. *Carbohydrate Polymers* 27 : 149-159.

Castillo R., 2006. Aprovechamiento de la pitahaya: bondades y problemáticas. Quintana, MX. *Caos ciencia* 1 : 13-18.

Cerclier C., Cousin F., Bizot H., Moreau C., Cathala B., 2010. Elaboration of spin-coated cellulose-xyloglucan multilayered thin films. *American Chemical Society* 26 : 17248-17255.

Chang J.K., 1987. Characterization of the arabinogalactan from tepary bean (*Phaseolus acutifolius* var. *latifolius*). Thesis. University of Arizona. US State.

Chanzy H. and Henrissat B., 1985. Unidirectional degradation of *Valonia* cellulose microcrystals subjected to cellulose action. *FEBS Letters* 184 : 285-288.

Chatterjee U.R., Ray S., Micard V., Ghosh D., Ghosh K., Bandyopadhyay S.S., Ray B., 2014. Interaction with bovine serum albumin of an anti-oxidative pectic arabinogalactan from *Andrographis paniculata*. *Carbohydrate Polymers* 101 : 342-348.

Chaudiere J., Tappel A.L., 1983. Purification and characterization of selenium-glutathione peroxidase from hamster liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 226 : 448-457.

Chauvelon G., Saulnier L., Buléon A., Krausz P., 1999. Acidic activation of cellulose and its esterification by long chain fatty acid. *Journal of Applied Polymer Science* 74 : 1933-1940.

Chávez M.R.A., Ranocha P., Martinez Y., Minic Z., Jouanin L., Marquis M., Saulnier L., Fulton L.M., Cobbett L.M., Bitton F., Renou J., Jauneau A., Goffner D., 2008. Cell Wall Modifications in Arabidopsis Plants with Altered α -l-Arabinofuranosidase Activity. *Plant Physiology* 147 : 63-77.

Che G.T., Ma X.M., Liu S.T., Liao Y.L., Zhao G.Q., 2012. Isolation, purification and antioxidant activities of polysaccharides from *Grifola frondosa*. *Carbohydrate Polymers* 89 : 61-66.

Chelikani P., Fita I., 2004. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences* 61 : 92-208.

Chemchame Y., 2011. Caractérisation, mise en évidence et quantification des formes des colorants réactifs bifonctionnels. Université mohammed V-AGDAL Faculté des sciences Rabat, Thesis Rabat Maroc, 216 p.

Chen R.H., Chen W.Y., 2001. Rheological properties of the water-soluble mucilage of a green laver, *Monostroma nitidum*. *Journal of Applied Phycology* 13 : 481.

Chen H.S., Tsai Y.F., Lin S., Lin C.C., Khoo K.H., Lin C.H. and Wong C.H., 2004. Studies on the immuno-modulating and anti-tumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 12 : 5595-5601.

Chen W., Wang W., Zhang H., Huang Q., 2012. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from *Boletus edulis* mycelia using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers* 87 : 614-619.

Chevalier A., 1924. Sur la production de la gomme arabique en Afrique Occidentale. *Revue de Botanique Appliquée et d'Agriculture Coloniale* 4 : 256-263.

Cosgrove D.J., 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6 : 850-861.

Chun S.Y., Bae H.W., Kim W.J., Park J.H., Hsu S.Y, Hsueh A.J., 2001. Expression of messenger ribonucleic acid for the antiapoptosis gene P11 in the rat ovary : gonadotropin stimulation in granulosa cells of preovulatory follicles. *Endocrinology* 142 : 2311-2317.

Churms S.C., Sixphen A., 1984. Structural studies of an arabinogalactan-protein from the gum exudate of *Acacia robusta*. *Carbohydrate Research* 133 : 105-123.

Ciancia M. Cerezo A.S., 1993. Autohydrolysis of polysaccharides, 1→4 par un groupement carboxyle précédant un acide uronique. *Carbohydrate. Research Brazil* 45 : 54-61.

Cipriani T.R., Mellinger C.G., Bertolini C.G., Baggio C.H., Freitas C.S., Marques M.C.A., Gorin P.A.J., Sasaki G.L., Iacomini M., 2009. Gastroprotective effect of a type I arabinogalactan from soybean meal. *Food Chemistry* 115 : 687–690.

Cipriani T.R., Mellinger C.G., Souza L.M., Baggio C.H., Freitas C.S., Marques M.C.A., 2006. A polysaccharide from tea (infusion) of *Maytenus ilicifolia* leaves with anti-ulcer protective effects. *Journal of Natural Products* 69 : 1018-1021.

Cipriani T.R., Mellinger C.G., Souza L.M., Baggio C.H., Freitas C.S., Marques M.C.A., 2006. Polysaccharide from a tea (infusion) of *Maytenus ilicifolia* leaves with anti-ulcer protective effects. *Journal of Natural Products* 69 : 1018-1021.

Ciucanu I., Kerek F., 1984. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. *Carbohydrate Research* 131 : 209-217.

Ciucanu I., Costello C.E., 2003. Elimination of oxidative degradation during the per-O-methylation of carbohydrates. *Journal American Chemical Society* 125 : 16213-9.

Clarke A.E., Anderxn R.L., Stone B.A., 1979. Form and function of arabinogalactans and arabinogalactan-proteins. *Phytochemistry* 16 : 521-540.

Classen B., Thude S., Blaschek W., Wack M., Bodinet C., 2006. Immunomodulatory effects of arabinogalactan-proteins from Baptisia and Echinacea. *Phytomedicine* 13 : 688-694.

Classen B., Witthohn K., Blaschek W., Witthohn W., Blaschek W., 2000. Characterization of an arabinogalactan-protein isolated from pressed juice of *Echinacea purpurea* by precipitation with the b-glucosyl Yariv reagent. *Carbohydrate Research* 327 : 497-504.

Coffin D.R., Fishman M.L., 1993. Viscoelastic properties of pectin starch blends. *Journal Agricultural Food Chemistry* 41 : 1192-1197.

Combo A.M.M., Aguedo M., Paquot M., 2011. Les oligosaccharides pectiques : production et applications possibles. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 15 : 153-164.

Cosgrove D.J., 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6 : 850-861.

Crini G., Guibal E., Morcellet M., Torri G. et Badot P.M., 2009. Chitine et chitosane. Préparation, propriétés et principales applications. In: Crini G, Badot PM et Guibal E (Eds), Chitine et chitosane, du bipolymère à l'application. Presses universitaires de Franche-Comté, Chapitre 1, 20-50.

Crociani F., Alessandrini A, Mucci M.M., Biavati B., 1994. La dégradation des glucides complexes par *Bifidobacterium spp.* *Internatinal Journal Alimentation Microbiology* 24 : 199-210.

Cun C.H., Lesgards G., 1993. Aliments : Etude de certaines propriétés physicochimiques des pectines. *Cahiers de nutrition et de diététique* 28 : 292-297.

Cuppo F., Reynaers H. and Paoletti S., 2002. Association of kappa-carrageenan induced by Cs ions in iodide aqueous solution: A light scattering study. *Macromolecules* 25 : 539-547.

Currier N.L., Lejtenyi D, Miller S.C., 2003. Effect over time of in-vivo administration of the polysaccharide arabinogalactan on immune and hemopoietic cell lineages in murine spleen and bone marrow. *Phytomedicine* 10 : 145-153.

Cuzzocrea S., Reiter R.J., 2001. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *European Journal of Pharmacology* 426 : 1-10.

Cuzzocrea S., Riley D.P., Capute A.P., Salvemini D., 2001. Antioxidant therapy: a new approach to shock, inflammation and ischaemia/reperfusion injury. *Pharmacological Reviews* 53 : 135-59.

Cuzzocrea S., Riley D.P., Caputi A.P, Salvemini D., 2001. Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacological Reviews* 53 : 135-159.

Dagorn-Scaviner C., Gueguen J., Lefebvre J., 1987. Emulsifying properties of pea globulins as related to their adsorption behaviours. *Journal of Food Sciences* 52 : 335-341.

Dakia P., Blecker C., Robert C., Whatelet B. and Paquot M., 2008. Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids* 22 : 807-818.

Dakia P., 2009. Propriétés chimiques et rhéologiques des polysaccharides de l'endosperme des graines de caroubier (*Ceratonia siliqua* L.). Thèse de doctorat : Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique).

Da Silva B.P., Parente J.P., 2002. Chemical properties and biological activity of a polysaccharide from *Melocactus depressus*. *Planta Medica* 68 : 74-76.

Daudresse Balayer M., 1999. Le pitahaya. *Fruit Oubliés* 1 : 15-17.

Dauqan E., Abdullah A., 2013. Utilization of gum arabic for industries and human health. *American Journal of Applied Sciences* 10 : 1270-1279.

Davies G.J., Henrissat B., 2002. Structural enzymology of carbohydrate-active enzymes : implications for the post-genomic era. *Biochemical Society Transactions* 30 : 291-297.

De Cherisey H., 2015. Etat de l'art sur la production de molécules chimiques issues du bois en France. *Agence de l'environnement et de la Maitrise de l'Environnement*, 12 p.

De Paula R.C.M., Rodrigues J.F., 1995. Composition and rheological properties of cashew gum tree, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Carbohydrate Polymers* 26 : 177-181.

De Paula R.C.M., Santana S.A., Rodrique J.E., 2001. Composition and rheological properties of *Albizia lebbek* gum exudates. *Carbohydrates Polymers* 44 :133-139.

Decou R., Lhernould S., Laurans F., Sulpice E., Leple J.C., Dejardin A., Pilate G, Costa G., 2009. Cloning and expression analysis of a wood-associated xylosidase gene (PtaBXL1) in poplar tension wood. *Phytochemistry* 70 : 163-172.

Delattre C., Fenoradosoa A., Michaud P., 2011. Galactans: an overview of their most important sourcing and applications as natural polysaccharides. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54 : 1075-1092.

Delattre C., Pierre G., Gardarin C., Traikia M., Elboutachfaiti R., Isogai A., Michaud P., 2014. Antioxidant activities of a polyglucuronic acid sodium salt obtained from TEMPO-mediated oxidation of xanthan. *Carbohydrate Polymers* 116 : 34-41.

Delattre C., Pierre G., Gardarin C., Traikia M., Elboutachfaiti R., Isogai A., Michaud P., 2015. Antioxidant activities of a polyglucuronic acid sodium salt obtained from TEMPO-mediated oxidation of xanthan. *Carbohydrate Polymers* 116 : 34-41.

Delgobo C.L., Gorin P.A.J., Jones C., Iacomini M., 1998. Gum heteropolysaccharide and free reducing mono- and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. *Phytochemistry* 47 : 1207-1214.

Delgobo C.L., Gorin P.A.J., Tischer C.A. and Iacomini M., 1999. The free reducing oligosaccharides of angico branco (*Anadenanthera colubrina*) gum exudate: an aid for structural assignments in the heteropolysaccharide. *Carbohydrate Research* 99 : 41-50.

Desbrières J., 2002. Viscosity of semiflexible chitosan solutions : Influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions. *Biomacromolecules* 3 : 342-349.

Diallo D., Paulsen B.S., Liljebäck T.H.A. and Michaelsen T.E., 2003. The Malian medicinal plant *Trichilia emetica*; studies on polysaccharides with complement fixing ability. *Journal. Ethnopharmacology* 84 : 279-287.

Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traore A., Coulibaly K., Maiga A., 2004. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées

traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes Rendus Chimie* 7 : 1073-1080.

Dieleman V.R., Levinus A., 2011. Fructo-oligosaccharides as therapeutics for active Crohn's disease: Adequate power and no effect. *Inflammatory Bowel Diseases* 18 : 391-392.

Dimitrios B., 2006. Sources of natural Phenolic antioxidants. *Trends in Food Science and Technology* 17 : 505-512.

Dinande E., Chanzy H., Vignon M.R., 1999. Suspensions of Cellulose Microfibrils from Sugar Beet Pulp. *Food Hydrocolloids* 13 : 275-283.

Do Nascimento G.E., Corso C.R., De Paula Werner M. F., Baggio C.H., Iacomina M., Cordeiro L.M.C., 2015. Structure of an arabinogalactan from the edible tropical fruit tamarillo (*Solanum betaceum*) and its antinociceptive activity. *Carbohydrate Polymers* 116 : 300-306.

Doco T., Williams P., 2013. Purification and structural characterization of a type II arabinogalactan-Protein from champagne wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 64 : 364-369.

Doco T., Williams P., Vidal S. et Pellerin P., 1997. Rhamnogalacturonan II, a dominant polysaccharide in juices produced by enzymic liquefaction of fruits and vegetables. *Carbohydrate Research* 297 : 181-186.

Dong Q, Fang J., 2001. Structural elucidation of a new arabinogalactan from the leaves of *Nerium indicum*. *Carbohydrate Research* 332 : 109-114.

Donkor O.N., Nilmini S.L.I., Stolic P., Vasiljevic T., Shan N.P., 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in *set-type* yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal* 17 : 657-665.

Dorman H.J.D., Kosar M., Kahlos K., Holm Y., Hiltunen R., 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 : 4563-4569.

Doublier J.L., 1994. Rhéologie des polyosides en milieux aqueux : solutions, gels et mélanges. *Industrie Alimentaire et agricole* 111 : 22-28.

Doublier J.L., Lisch J.M., Launay B., 1975. Agents de texture alimentaire: épaississants et gélifiants. Apria, Massy, 7 p.

Du H., Simpson R.J., Clarke A.E., Bacic A., 1996. Molecular characterization of a stigma specific gene encoding an arabinogalactan-protein (AGP) from *Nicotiana glauca*. *The Plant Journal* 9 : 313-323.

Duan J., Wang X., Dong Q., Fang J., Li X., 2003. Structural features of a pectic arabinogalactan with immunological activity from the leaves of *Diospyros kaki*. *Carbohydrate Research* 338 : 1291-1297.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. *Analytical Chemistry* 28 : 350-356.

Dudkin M.S., 1969; "Hydrolysis of hemicelluloses from a mixture of corn stalks and straw by dilute sulfuric acid solution. *Chemical abstracts* 41 : 2711-271.

Dumville J.C., Fry S.C., 2000. Uronic acid-containing oligosaccharins: their biosynthesis, degradation and signalling roles in non-diseased plant tissues. *Plant Physiology. Biochemistry* 38 : 125-140.

Duval J., Soussy C.J., 1990. Antibiothérapie - Bases bactériologiques pour l'utilisation des antibiotiques. Masson (4), Paris, 180 p.

Ebringerova A., Heinze T., 2000. Xylan and xylan derivatives - Biopolymers with valuable properties 1 : naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties. *Macromolecular Rapid Communications* 21 : 542-556.

- Ebringerová A., Hromádková Z., 1999. Xylans of industrial and biomedical importance. In *Biotechnology and genetic Engineering Reviews* (Hardind S.E.). Volume 16. England, 325-246.
- Edwards H.G.M., Falk M.J., Sibley M.G., Alvarez-Benedi J., Rull F., 1998. FT-Raman spectroscopy of gums of technological significance. *Spectrochimica Acta* 54 : 903-909.
- Egert D., Beuscher N., 1992. Studies on antigen specificity of immunoreactive arabinogalactan proteins extracted from *Baptisia tinctoria* and *Echinacea purpurea*. *Planta Medica*. 58 : 163-165.
- Ehrke M.J., 2003. Immunomodulation in cancer therapeutics. *International immunopharmacology* 3 : 1105-1119.
- Eicher T., Wandel M., 1986. Cellulose Mixed Esters, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. W. Gerhartz, (Ed.) VCH, Mannheim, New York, A5, 445 p.
- Elboutachfai R., Petit E., Pillon M., Courtois B., Courtois J., Delattre C., 2011. Evaluation of antioxidant capacity of ulvan-like polymer obtained by regioselective oxidation of gellan exopolysaccharide. *Food Chemistry* 127 : 976-983.
- Engelhardt J., 1995. Sources industrial derivatives and commercial application of cellulose. *Carbohydrates in Europe* 12 : 5-14.
- Englyst H.N., Hay S., Macfarlane G.T., 1987. Polysaccharide ventilation par des populations mixtes de bactéries fécales humaines. *Microbiology Ecology* 95 : 163-171.
- Erwin J.E., 1996. Temperature and photoperiod affect grafted Cactus scion necrosis. *Hort Technology* 6 : 393-397.
- Escarnot E., Agneesens R., Wathelet B., Paquot M., 2010. Quantitative and qualitative study of spelt and wheat fibres in varying milling fractions. *Food Chemistry* 122 : 857-863.

Escarnot E., Aguedo M., Agneessens R., Wathelet B., Paquot M., 2011. Extraction and characterization of water-extractable and water-unextractable arabinoxylans from spelt bran: Study of the hydrolysis conditions for monosaccharides analysis. *Journal of Cereal Science* 53 : 45-52.

Escarnot E., Aguedo M., Paquot M., 2011. Characterization of hemicellulosic fractions from spelt hull extracted by different methods. *Carbohydrate Polymers* 85 : 419-428.

Esmael A., Nouar C., Lefèvre A., Bahrani S.A., 2009. Transition vers la turbulence pour un fluide non Newtonien dans une conduite cylindrique. Mise en 'evidence exp'erimentale d'un écoulement chaotique induit par la stratification de la viscosité. *Congrès Français de Mécanique*, Marseille, 6 p.

Eyring H., 1935. The Activated Complex in Chemical Reactions. *The Journal of Chemical Physics* 3 : 107-115.

Fabrice C., 2008. L'adaptation des cactées à leur environnement . *Au Cactus Francophone*
Ortiz-Hernández H.Y.D., 1999. Pitahaya : un nuevo cultivo para México. Ed. Limusa- Grupo Noriega Editores, México D.F., Mexico, 111 p.

Farag R.S., Badei A.Z.M.A., Elbaroty G.S.A., 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxydation in aqueous media. *Journal of the American Chemical Society* 66 : 792-799.

Ferron A., 1994. Bactériologie médicale, 15ème Ed, Edition C & R. Paris, 472 p.

Filisetti-Cozzi T.M.C.C., Carpita N.C., 1991. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry* 197 : 157-162.

Fincher G.B., Stone B.A., Clarke A.E., 1983. Arabinogalactan-proteins : Structure, biosynthesis, and function. *Annual Review of Plant Physiology* 34 : 47-70.

Fincher G. B., Sawyer W.H., and Stone B.A., 1974. Chemical and physical properties of arabinogalactan-peptide from wheat endosperm. *Biochemical Journal* 139 : 535-545.

Fitzpatrick A., Roberts A., Witherly A., 2004. Larch arabinogalactan: A novel and multifunctional natural product. *Agrofood industry hi-tech* 15 : 30-32.

Ford C.W., 1972. Arabinogalactan from *Phaseolus atropurpureus* leaves. *Phytochemistry* 11 : 2559-2562.

Fouqué A., 1969. Espèces fruitières d'Amérique tropicale, famille des Cactaceae, IFAC, Paris, France, 25-34.

Fournier P., 1954. Les Cactées et les plantes grasses. Deuxième édition 64 planches coloriées d'après les peintures de F. Ancylopédie de pratique du naturaliste. 418 p.

Fremont G., 2007. Acacia gum, the natural multifunctional fibre. *Paper Presented at the "Dietary Fibre 2006-Multifunctional Complex of Components" Conference*, 3rd, Helsinki, Finland : 271-281.

Friedl R., Moeslinger T., Kopp B., Spieckermann P.G., 2001. Stimulation of nitric oxide synthesis by the aqueous extract of *Panax ginseng* root in raw 264.7 cells. *Br J Pharmacol* 134 : 1663–1670.

Fry S.C., 1988. Wall polymers: Chemical characterisation. In: *The Growing Plant Cell Wall: Chemical and Metabolic Analysis*. New York: Longman Scientific and Technical 102-187.

Gane A.M., Craik D., Munro S.L.A., Howlett G.J., Clarke A.E., Basic A., 1995. Structural analysis of the carbohydrate moiety of arabinogalactan-proteins from stigmas and styles of *Nicotiana glauca*. *Carbohydrate Research* 277 : 67-85.

Ganter J.L.M.S., Milas M., Corrêa J.B.C., Reicher F., Rinaudo M., 1992. Study of solution properties of galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella*. *Carbohydrate Polymers* 17 : 171-175.

Gao Q. P., Kiyohara H., Cyong J. C. H., Yamada H., Kiyohara H., Hiroakiyohara C. J. C., Yamada H., 1991. Chemical Properties and Anti-Complementary Activities of Heteroglycans from the leaves of *Panax ginseng*. *Planta Medica* 57 : 132-6.

Garbacki N., Gloaguen V., Damas J., Bodart P., Tits M. and Angenot L., 1999. Anti-inflammatory and immunological effects of *Centaurea cyanus* flower-heads. *Journal. Ethnopharmacology*. 68 : 235-241.

Garcia-Cruz E.E., Rodriguez-Ramirez J., Mendez Lagunas L.L., Medina-Torres L., 2013. Rheological and physical properties of spray-dried mucilage obtained from *Hylocereus undatus* cladodes. *Carbohydrate Polymers* 91 : 394-402.

García-Ochoa F., Santos V.E., Casas J.A., Go  mez E., 2000. Xanthan gum : production, recovery and properties. *Biotechnology Advances* 18 : 549-579.

Garon-Lardière, S., 2004. Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de doctorat, Chimie, Université de Bretagne Occidentale, 226 p.

Gaspar Y., Johnson K.L., McKenna J.A., Bacic A., and Schultz C.J., 2001. The complex structures of arabinogalactan-proteins and the journey towards understanding function. *Plant Molecular Biology* 47 : 161-176.

Gavlighi H.A., Meyer A.S., Zaidel D.N.A., Mohammadifar M.A., Mikkelsen J.D., 2013. Stabilization of emulsions by gum tragacanth (*Astragalus* spp.) correlates to the galacturonic acid content and methoxylation degree of the gum. *Food Hydrocolloids* 31 : 5–14.

Genesite B., 2006. Optimisation de la production d'arabinoxyle-oigosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales : approches m  thodologiques. Doctorat de l'université de Limoges, France.

Ghosh K., Ray S., Ghosh S., Ray B., 2015. Chemical structure of the arabinogalactan protein from gum ghatti and its interaction with bovine serum albumin. *Carbohydrate Polymers* 117 : 370-376.

Gosh T., Basu A., Adhikari D., Roy D., and Pal A.K., 2015. Antioxidant activity and structural features of *Cinnamomum zeylanicum*. *Biotechnology* 5 : 939-947.

Gibson G.R., Roberfroid M.B., 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125 : 1401-1412.

Gibson G.R., Probert H.M., Loo J.V., Rastall R., Roberfroid M.B., 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 17 : 259-275.

Glicksman M., 1969. Gum technology in *the food industry*. Academic Press, New York, 555 p.

Gloaguen V., Krausz P., Brudieux V., Closs B., Leroy Y., Guerardel Y., 2008. Structural patterns of rhamnogalacturonans modulating hsp-27 expression in cultured human keratinocytes. *Molecules* 13 : 1207-1218.

Goellner E.M., Utermohlen J., Kramer R., Classen B., 2011. Structure of arabinogalactan from *Larix laricina* and its reactivity with antibodies directed against type-II-arabinogalactans. *Carbohydrate Polymers* 86 : 1739-1744.

Gonda R., Tomoda M., Ohara N., Takada K., 1993. Arabinogalactan core structure and immunological activities of ukonan C, an acidic polysaccharide from the rhizome of *Curcuma longa*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 16 : 235-238.

Goodrum L.J., Patel A., Leykam J.F., Kieliszewski M.J., 2000. Gum arabic glycoprotein contains glycomodules of both extensin and arabinogalactan-glycoproteins. *Phytochemistry* 54 : 99-106.

Gorman A., McGowan A., Cotter T. G., 1997. Role of peroxide and superoxide anion during tumour cell apoptosis. *FEBS Letters* 404 : 27-33.

Gornall A.G., Bardawill C.J., David M.M., 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry* 177 : 751–766.

Goycoolea, F.M., Adriana. C., 2003. Pectins from *Opuntia Spp.*, A Short Review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 5 : 17-29.

Grant G.T., Morris E.R., Rees D.A., Smith P.J. C., Thom D., 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 32 : 195–198.

Gregory S.K.N.D. 1999. Larch Arabinogalactan: clinical relevance of a novel polysaccharide boost the immune system. *Alternative Medicine Review* 4 (2) : 96-103.

Griffith P., Portery J.M., 2009. Phylogeny of Opuntioideae (Cactacées). *International Journal of Plant Sciences* 170 : 107-116.

Guedes E.A.C., Da Silva T.G., Aguiar J.S., De Barros L.D., Pinotti L.M., Antonio E.G. Sant'Ana A.E.G., 2003. Cytotoxic activity of marine algae against cancerous cells. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 23 : 668-673.

Gueguen J., Lefebvre J., Dagorn-Scaviner C., 1988 Propriétés d'adsorption des globulines de pois et propriétés émulsifiantes. *Les Cahiers de l'ENSBANA* 6 : 105-117.

Guilherme L., Sasaki A., Marcello I.A. 2009. Gastroprotective effect of a type I arabinogalactan from soybean meal. *Food Chemistry* 115 : 687-690.

Guillon F., Thibault J.F., 1987. Characterization and oxidative cross-linking of sugar beet pectins after mild acid hydrolysis and arabanases and galactanases degradation. *Food Hydrocolloids* 1 : 547-549.

Gupta A.K., Mukherjee S., 1973. Structure of degraded gum from *Odina woderi* Roxb. (Jeol gum). *Indian Journal. Chemistry* 11 : 648-652.

Habibi Y., Heyraud A., Mahrouz M., Vignon M.R., 2004. Structural features of pectic-polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research* 339 : 1119-1127.

Habibi Y., Mahrouz M., Marais M., Vignon M.R., 2004. An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus-indica* pricklypear fruits. *Carbohydrate Research* 339 : 1201-1205.

Habibi Y., Mahrouz M., Vignon M.R., 2005. Isolation and structural characterization of protopectin from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers* 60 : 205-213.

Hadjer B., 2014. Etude de l'activité biologique des extraits polysaccharidiques issus de l'*Astragalus gombo* récolté au Sahara septentrional Est algérien. Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.

Hagmar B., Ryd W., Skomedal H., 1991. Arabinogalactane blocage des métastases expérimentales au foie par hépatome murin. *Invasion Metastasis* 11 : 348-55.

Hakomori S., 1964. A rapid permethylation of glycolipid, and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbanion in dimethyl sulfoxide. *Journal of Biochemistry* 55 : 205-208.

Halliwell B., Auroma O.I., 1991. DNA damage by oxygen-derived species. *FEBS Letters* 28 : 9-19.

Hansen F.F.U.S., 1967. Monoglyceride emulsifier and method of making same. Patent, US3310408 A.

Hansen N.M.L., Plackett D., 2008. Sustainable films and coatings from hemicelluloses. A Review. *Biomacromolecules* 9 : 1493-1505.

Haq C., Adams G.A., 1961. Oligosaccharides from the sap of sugar maple (*Acer saccharum* marsh). *Canadian Journal of Chemistry* 39 : 1165-1170.

Heeg K., Reimann J., Kabelitz D., Hardt C., Wagner H., 1985. A rapid colorimetric assay for the determination of IL-2-producing helper T cell frequencies. *Journal of Immunological Methods* 77 : 237-246.

Henrissat B., Bairoch A., 1993. New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemistry* 293 : 781-788.

Herrera G.L., Martinez Del Rio C., 1998. Pollen Digestion by new world bats: effects of processing time and feeding habits. *Ecology* 79 : 2828-2838.

Hillestad A., Wold J.K., Engen T., 1977. Water-soluble glycoproteins from *Cannabis sativa* (Thailand). *Phytochemistry* 16 : 1953-1956.

Hillstead A., Wold J.K., Paulsen B.S., 1977. Structural studies of water-soluble glycoproteins from *Cannabis sativa* L. *Carbohydrate Research* 57 : 135-144.

Hinson J.A., Reid A.B., McCullough S.S., James L.P., 2004. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug Metabolism Reviews* 36 : 805-822.

Hinz S.W.A., Verhoef R., Schols H.A., Vincken J.-P., Voragen A.G.J., 2005. Type I arabinogalactan contains β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-Galp structural elements. *Carbohydrate Research* 340 : 2135-2143.

Hijazi, 2011. Caractérisation structurale et fonctionnelle d'AGP31, une glycoprotéine atypique de la paroi chez *Arabidopsis thaliana*. Université Toulouse III Paul Sabatier, Thesis Toulouse, 148 p.

Hirase S., Watanabe K., 1972. Fraction and structural investigation of furonan. In *Proceedings of the VIIth International Seaweed Symposium* : 451-454.

Hirst E.L., Jones J.K.N., 1938. The constitution of Damson gum. Part I. Composition of Damson gum and structure of aldobionic acid (glycuronosido-2-mannose) derived from it. *Journal of the Chemical Society* : 1174-1180.

Hoch G., 2007. Cell wall hemicelluloses as mobile carbon stores in non-reproductive plant tissues. *Functional Ecology* 21 : 823-834.

Hon D.N.S., Gui T.L., 1986. Photodegradation of cellulose nitrate. *Polymer Photochemistry* 7 : 299-310.

Hu S., Yin J., Nie S., Wang J., Phillips G.O., Xie M., Cui S.W., 2016. In vitro evaluation of the antioxidant activities of carbohydrates Bioactive . *Carbohydrates and Dietary Fibre* 7 : 19-27.

Imlay J. A., 2008. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annual Review of Biochemistry* 77 : 755-776.

Infante R., 1997. Micropropagation of *Mediocractus coccineus* (Yellow Pitaya). *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 40 : 206-213.

Inngjerdingen K.T., Debes S.C., Inngjerdingen M., Hokputsa S., Harding S.E., Rolstad B., Michaelsen T.E., Diallo D., Paulsen B.S., 2005. Bioactive pectic polysaccharides from *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC., a Malian medicinal plant, isolation and partial characterization. *Journal of Ethnopharmacology* 101 : 204-214.

Islam A.M., Phillips G.O., Sljivo M.J., Williams P.A., 1997. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocolloids* 11 : 493-505.

Ishii T., 1999. The plant cell wall polysaccharide rhamnogalacturonan II self-assembles into a covalently cross-linked dimer. *Journal of Biological Chemistry* 274 : 13098-13104.

Ishii T., 1997. O-acetylated oligosaccharides from pectins of potato tuber cell walls. *Plant Physiology* 113 : 1265-1272.

Ishii T., 1995. Pectic polysaccharides from bamboo shoot cell walls. *Mokuzai Gakkaishi* 41 : 669-676.

Isogai A., 1994. Allomorphs of cellulose and other polysaccharides. In *Cellulosic Polymers, Blends and Composites* : 1-24.

Jackson C.L., 2007. Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells : correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology* 17 : 805-819.

Jacobs D., 1998. Pitaya, *Hylocereus undactus* , a potentiel new crop for Australia . *Newsletters of the Rare Fruit Council of Australia* 107 : 3-7.

Janina Z., Wells T., Hensel A., Hensel A., 2010. Arabinogalactan protein from *Jatropha curcas* L. seeds as TGF β 1-mediated inductor of keratinocyte in vitro differentiation and stimulation of GM-CSF, HGF, KGF and in organotypic skin equivalents. *Fitoterapia* 81 : 772-778.

Jarvis M.C., Hall M.A., Threlfall D.R., Friend J., 1981. The polysaccharide structure of potato cell walls: chemical fractionation. *Planta* 152 : 93-100.

Jayme G., 1942. Preparation of holocellulose and cellulose with sodium chlorite. *Cellulosechemie* 20 : 43-49.

Jones L., Milne J., Ashford D., McQueen-Mason S., 2003. Cell wall arabinan is essential for guard cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 : 11783-11788.

Joseleau J., Chambat G., Chumpitazi-Hermoza B., 1981. Solubility of cellulose and other plant structural polysaccharides in 4-methyl morpholine-N-oxide : An Improved method for the study of cell-wall constituents. *Carbohydrate Research* 90 : 339-344.

Joseleau J.P., 1980 - Les hémicelluloses. In : *Les polymères végétaux*. Gauthier Villars, Paris : 87-181.

Just E.K., Majewicz T.G., 1985. Cellulose ethers, in "*Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*" H. F. Mark N. M. Bikales C.G. Overberger and G. Menges, (Eds.) John Wiley and Sons, New York, 3, 226 p.

Kamerling J.P., Gerwig G.J., Vliegthart J.F.G., Clamp J.R., 1975. Characterization by gas liquid chromatography mass spectroscopy of pertrimethylsilyl glycosides obtained in the methanolysis of glycoproteins and glycolipids. *Journal of Biochemistry* 151 : 491-495.

Kang J., Cui S.W. , Phillips G.O., Chen J., Guo Q., Wang Q., 2011. New studies on gum ghatti (*Anogeissus latifolia*) part II. Structure characterization of an arabinogalactan from the gum by 1D, 2D NMR spectroscopy and methylation analysis. *Food Hydrocolloids* 25 : 1991-1998.

Kang S.J., Li J.H., MengY.R., Wang X.N., 1996. The susceptibility of human pulmonary adenocarcinoma cell treated with chemotherapeutic drugs to LAK cells. *Chinese Journal of Clinical Oncology* 23 : 309-311.

Kari T., Inngjerdingen , Hiroaki K., Tsukasa M., Dirk P., Terje E. M., Drissa D., Marit I.,Haruki Y., Berit S.P., 2007. An immunomodulating pectic polymer from *Glinus oppositifolius*. *Phytochemistry* 68 : 1046–1058.

Kataoka H., 2005. Gas chromatography of amines as various derivatives. Quantitization of amino acids and amines by chromatography-methods and protocols. *Journal of Chromatography Library* 70 : 364-404.

Kaur M., Kaur A., Sharma R., 2012. Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2 : 15-18.

Kawai S., Tomono Y., Katase E., 1999. Citrus flavonoids effect on HL-60 cell differentiation. *Anticancer Research* 19 : 1261-1269.

Kazatchkine M.D., Carreno M.P., 1988. Activation of the complement system at the interface between and artificial surface. *Biomaterials* 9 : 30-35.

Keeley J.E., Rundel P.W., 2003. Evolution of CAM and C4 carbon-concentrating mechanisms. *International. Journal. Plant Sciences* 8 : 683-690.

Keilin D., Mann T., 1939. Carbonic Anhydrase. *Nature* 144 : 442-443.

Kidd P., 1996. A new approach to metastatic cancer prevention : Modified citrus pectin (MCP), a pectin that blocks cell surface lectins. *Alternative Medicine Review* 1 : 4-10.

Kikuchi T., 1972. Food-chemical studies on soybean polysaccharides. Part III. The polysaccharides from soybeans obtained by cooking. *Journal Agricultural Chemistry Society Japan* 46 : 405-409.

Kim L.S., Waters R.F., Burkholder P.M., 2002. Immunological activity of larch arabinogalactan and Echinacea: A preliminary, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Alternative Medicine Review* 7 : 138-149.

Kirkpatrick R., Moore A., Knoll B., Garcia V., Larsen A., Murdock A., Park M., 2009. Cladistics of the Cacti. Lab manual. Department of Integrative Biology, University of California-Berkeley: 1-18.

Kiyohara H, Cyong J.C., Yamada H., 1989. Relationship between structure and activity of an anticomplementary arabinogalactan from the roots of *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Carbohydrate Research* 193 : 173-192.

Kiyohara H., Yamada H., Otsuka Y., 1987 Unit structure of the anti-complementary arabinogalactan from *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Carbohydrate Research* 167 : 221-237.

Kiyohara H., Yamada,H., Cyong, J.C., OtsukaY.J., 1986. Characterization and function of arabinogalactans. *Journal Pharmacobio-Dynamics* 9 : 339-346.

Kiyohara Y., Ueda K., Hasuo Y., 1986. Hematocrit as a risk factor for cerebral infarction: long-term prospective population survey in a Japanese rural community. *Stroke* 17 : 687-692.

Klemm D., Philipp B., Heinze T., Heinze U., Wagenknecht W., 1998. Comprehensive Cellulose Chemistry. Fundamentals and Analytical Methods, Volume 1. Wiley-VCH Verlag GmbH, 406 p

Kraus J., Franz G., 1992. Immunomodulating Effects of Polysaccharides from Medicinal Plants. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 319 : 299-308.

Koch W., 1937. Properties and uses of ethylcellulose. *Industrial and Engineering Chemistry* 29 : 687-690.

Koerner H.U., Gottschalk D., Wiegel J., Puls J., 1984. The degradation pattern of oligomers and polymers from lignocelluloses. *Analytica Chimica Acta* 163 : 55-66.

Komalavilas P., Mort A.J., 1989. The acetylation at O-3 of galacturonic acid in the rhamnose-rich portion of pectins. *Carbohydrate Research* 189 : 261-272.

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.

Kora A.J., Arunachalam J., 2012. Green Fabrication of Silver Nanoparticles by Gum Tragacanth (*Astragalus gummifer*) : A Dual Functional Reductant and Stabilizer. *Journal of Nanomaterials* Article ID 869765, 8 p.

Koyama M., Helbert W., Imai T., Sugiyama J., Henrissat B., 1997. Parallel-up structure evidences the molecular directionality during biosynthesis of bacterial cellulose. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94 : 9091-9095.

Kuribayashi T., 1992. Properties of pressure extracted from *Satsuma mandarin* by pressure treatment, Colloque *Institut national de la santé et de la recherche médicale* 224 : 337-339.

Lai C., Yang L., Lin W.-C., 2015. Type II arabinogalactan from *Anoectochilus formosanus* induced dendritic cell maturation through TLR2 and TLR4. *Phytomedicine* 340 : 233-254.

Langenheim J.H., 2003. Plant resins - Chemistry, Evolution, Ecology and Ethnobotany. Timber Press, 586 p.

Laparra J.M., Sanz Y., 2010. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharmacological Research* 61 : 219-225.

Larm O., Theander O., Aman P., 1975. Structural Studies on a Water solution Arabinan Isolated from Rapeseed (*Brassica napus*). *Acta Chemica. Scandinavica* 29 : 1011-1014.

Lavastine L., 1947. Description botanique de la famille des Cactacée, études de la systématique. Description de la principale espèce médicinale ainsi que leur emploi dans le folklor indien, le Peyotl et stupéfiant, Cactus and medicine. Paris, 17-18.

Leipzig., 1996. Rapport de Pays pour la conférence technique internationale de la FAO sur les ressources phytogénétiques, Madagascar, 100 p.

Le Bellec F., Judith R.C., 1999. La pitahaya à la Réunion, bilan et perspectives .Cirad, Saint-Pierre, France, 20 p.

Le Bellec F., Renard V., 1997. Le grand livre des Fruits Tropicaux .Orpie Editions, Saint-Denis, France, 180 p.

Le Bellec F., Vaillant F., Imbert E., 2006. Pitahaya (genus *Hylocereus*) : A new fruit crop, a market with a future. *Sciences* 61 : 237-250.

Le Goff A., Renard C.M.G.C., Bonnin E., Thibault E., 2001. Extraction, purification and chemical characterisation of xylogalacturonans from pea hulls. *Carbohydrate Polymers* 45 : 325-334.

Lewis M.J., 1987. Physical properties of food and processing systems, Ellis Horwood Ltd, London, 465-468.

Li J., Ji L., Sun L., Wei N., Zhu J., Chen X., Zhou Y., 2012. Analysis of *Herba Asari* polysaccharides and their immunological activity. *Carbohydrate Polymers* 87 : 551-556.

Li X., Fang Y., Saphwan A., Phillips G.O., Nishinari , Zhang H., 2009. Rheological study of gum arabic solutions: Interpretation based on molecular self-association. *Food Hydrocolloids* 23 : 2394-2402.

Liang F., Hu C., He Z., Pan Z., 2014. An arabinogalactan from flowers of *Chrysanthemum morifolium* : Structural and bioactivity studies. *Carbohydrate Research* 387 : 37-41.

Liaotrakoon W., Buggenhout S.V., Christiaens S., Houben K., De Clercq N., Dewettinck K., Hendrickx M. E., 2013. An explorative study on the cell wall polysaccharides in the pulp and peel of dragon fruits (*Hylocereus spp*). *European Food Research and Technology* 237 : 341-351.

Lin J.S., Tang M-Y., Fellers J.F., 1987. Fractal analysis of cotton cellulose as characterized by small-angle x-ray scattering. In: Atalla RH (ed) The structures of cellulose ACS symposium series. *American Chemical Society* 340 : 233-254.

Ling N.X.Y., Lee J., Ellis M., Liao M.L.,Mau S.L., Guest D., Janssen P.H., Kovac P., Bacic, A., and Pettolino F.A., 2012. An exo- β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-galactanase from *Streptomyces* sp. provides insights into type II arabinogalactan structure. *Carbohydrate Research* 352 : 70–81.

Linton J.D., 1991. Microbial polysaccharides. In: *Biomaterials*, Byron D. Ed, Basingstoke, U.K, 217-261.

Liu Q., Qiu Y., Beta T., 2010. Comparison of antioxidant activities of different colored wheat grains and analysis of phenolic compounds. *Journal. Agricultural. Food Chemistry* 58 : 9235-9241.

Liu Z., Ma C., Yang L., Zu Y., 2013. Process Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Arabinogalactan from Dihydroquercetin Extracted Residues by Response Surface Methodology and Evaluation of Its Antioxidant Activity. *Journal of Chemistry* 2013 : ID 346810, 9 p.

Ludres L., 1999. The pitaya or dragon fruit. *Primary Industry and Fisheries*, Northern Territory of Australia 778 p.

Lorient D., Colas B., 1988. Propriétés des protéines aux interfaces : Relations avec les propriétés émulsifiantes et moussantes. *Les cahiers de l'ENS-BANA* 6 : 33-47.

Maeda M., Shimahara H., Sugiyama N., 1980. Detailed examination of the branched structure of konjac glucomannan, *Agricultural and biological chemistry* 44 : 245-252.

Mahfoudhi N., Sessa M., Ferrari G., Hamdi S., Donsi F., 2015. Rheological and interfacial properties at the equilibrium of almond gum tree exudate (*Prunus dulcis*) in comparison with gum. *Arabic Food Science and Technology International* 22 : 277-287.

Majdoub H., Roudesli S., Deratani A., 2001. Polysaccharides from prickly pear peel and nopals of *Opuntia ficus-indica*: extraction, characterization and polyelectrolyte behaviour. *Polymer International* 50 : 552-560.

Majee S.K., Bera K., Raja.W., Ghosh K., Ray S., Ray B., 2016. Structural highlights of an antioxidative arabinogalactan protein of *Lannea grandis* gum that stabilizes β -lactoglobulin. *Food Hydrocolloids* 61 : 720-729.

Majewska-Sawka A., Nothnagel E.A., 2000. The multiple roles of arabinogalactan proteins in plant development. *Plant Physiology* 122 : 3-9.

Malainine M.E., Dufresne A., Dupeyre D., Vignon M.R., Mahrouz M., 2003. First evidence of weddelite crystallites in *Opuntia ficus-indica* parenchyma. *Zeitschrift fuer Naturforschung* 58 : 812-815.

Mann T., Keilin D., 1939. Haemocuprin and hepatocuprin, copper protein compounds and liver in mammals. Proceedings of the Royal Society Series B. *Biological Sciences* 126 : 303-315.

Mancini F., McHugh T.H., 2000. Fruit–alginate interactions in novel restructured products. *Nahrung* 44 : 152–157.

Mantovani M.S., Bellini M.F., Angeli J.P., Oliveira R.J., Silva A.F., Ribeiro L.R., 2008. Beta-Glucans in promoting health: prevention against mutation and cancer. *Mutation Research* 658 : 154-161.

Marozienne A., Kliukiene R., Arlauskas J., 2000. Inhibition of phthalocyanine sensitized Photo hemolysis of human erythrocytes polyphenolic antioxidants : quantitative description of structure-activity relationships. *Cancer Letters* 157 : 39-44.

Martinez M., De Pinto G. L., Sanabria L., Beltrán O., Igartuburu J. M., Bahsas A., 2003. Structural features of an arabinogalactan gum exudates from *Spondias dulcis* (Anacardiaceae). *Carbohydrate Research* 338 : 619-624.

Mauseth J.D., 2006. Structure-function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. *Annals of Botany* 98 : 901-926.

Matsuhiro B., Lillo L. E., Sáenz C., Urzúa C. C., Zárate O., 2006. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*. *Carbohydrate Polymers* 63 : 263-267.

Mau S-L., Chen C-G., Pu Z-Y., Moritz R.L., Simpson R.J., Bacic A., 1995. Molecular cloning of cDNAs encoding the protein backbones of arabinogalactan-proteins from the filtrate of suspension-cultured cells of *Pyrus communis* and *Nicotiana glauca*. *Plant Journal* 8 : 269-281.

Maurer J.B.B., Bacic A., Pereira-Netto A.B., Donatti L., Zawadzki-Baggio S.F., Pettolino F. A., 2010. Arabinogalactan-proteins from cell suspension cultures of *Araucaria angustifolia*. *Phytochemistry* 71 : 1400-1409.

May C.D., 1990. Industrial Pectins: Sources, Production and Applications. *Carbohydrate Polymers* 12 : 79-99.

McCann M.C., Shi J., Roberts K., Carpita N.C., 1994. Changes in pectin structure and localization during the growth and NaCl-adapted tobacco cells. *Plant Journal* 5 : 773-785.

McCleary B., 1980. Hydrolysis of galactomannans by α -D-galactosidase and β -D-mannanase. In: Marshall J.J., ed. *Mechanisms of saccharide polymerization and depolymerisation*. Academic Press, 285-300.

McCleary B., 1988. Guar and carob galactomannans. *Methods in Enzymology* 160 : 523-527

McNeil M., Darvill A.G., Albersheim P., 1979. The Structural Polymers of the Primary Cell Walls of Dicots. In: *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* 37 : 191-249.

McDougall G.J., Morrison I.M., Stewart D., Hillman J.R., 1996. Plant cell walls as dietary fibre : range, structure, processing and function. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70 : 133-150.

McGarvie D., Parolis H., 1981. Methylation analysis of the mucilage of *Opuntia ficus indica*. *Carbohydrate Research* 88 : 305-314.

Mckenna D. J., Hughes K., Jones K., 2002. Astragalus. *Alternative Therapies in Health and Medicine* 8 : 34-40.

McKie V., 2008. Certificate of Analysis. Arabinogalactan (Larch Wood) P-ARGAL. Megazyme International Ireland Limited. Bray Business Park, Bray, Co, Wicklow, Ireland.

McNeil M., Daevill A.G., Fry S.C., Albersheim P., 1984. Structure and functions of primary cell walls of plants. *Annual Review of Biochemistry* 53 : 625-663.

Medina-Torres L., Brito-De La Fuente E., Torrestiana-Sanchez B., Katthain R., 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food Hydrocolloids* 14 : 417-424.

- Medina-Torres L., Brito-De La Fuente E., Torrestiana-Sanchez B., Alonso S., 2003. Mechanical properties of gels formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus indica*) and carrageenans. *Carbohydrate Polymers* 52 : 143-150.
- Merce A.L.R., Landaluze J.S., Mangrich A.S., Szpoganicz B., Rita S.M., 2001. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} and Ni^{2+} . *Bioresource Technology* 76 : 29-37.
- Mesbahi G., Jamalian J., Farahnaky A., 2005. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocolloids* 19 : 731-738.
- Meyer B.N., Mohamed Y.A.H., McLaughlin J.L., 1980. β -Phenethylamines from the Cactus genus *Opuntia*. *Phytochemistry* 19 : 719-720.
- Mirande C., 2009. Dégradation des fibres pariétales et système xylanolytique de *Bacteroides xylanisolvens* XB1AT et *Roseburia intestinalis* XB6B4, espèces bactériennes du microbiote intestinal humain. Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, 249 p.
- Mizrahi I., Need A., Nobel P.S., 2010. Cacti as cultures. In J. Janick (Ed.). *Horticultural Reviews* 18 : 291-319.
- Mizrahi Y., 2014. *Cereus peruvianus* (Koubo) new cactus fruit for the world. *Revista Brasileira de Fruticultura* 36 (1).
- Moine C., 2005. Extraction, caractérisation structurale et valorisation d'une famille d'hémicelluloses du bois. Université de Limoges. Thesis Limoge, 240 p.
- Mohnen D., 1999. Biosynthesis of pectins and galactomannans. carbohydrates and their derivatives including tannins, cellulose, and related lignins. *Comprehensive Natural Products Chemistry* 3 : 497-527.
- Mohnen D., 2008. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* 11 : 266-277.

- Mollard A., Joseleau J.-P., 1994. *Acacia senegal* cells cultured in suspension secrete a hydroxyproline-deficient arabinogalactan-protein. *Plant Physiology and Biochemistry* 32 : 703-709.
- Monsigny M., Petit C., Roche A.C., 1998. Colorimetric determination of neutral sugars by sulphuric acid micromethod. *Analytical Biochemistry* 175 : 525-530.
- Montreuil J., Spik G., 1963. Microdosage des glucides: Méthodes colorimétriques de dosage des glucides totaux. Faculté des Sciences de Lille.
- Moreira L., Filho E., 2008. An overview of mannan structure and mannan degrading enzyme systems. *Applied Microbiology Biotechnology* : 79 : 165-178.
- Morgan B.P., Harris C.L., 2003. Complement therapeutics; history and current progress. *Molecular Immunology* 40 : 159-170.
- Morgan K.C., Wright J. L., 1980. Simpson F.J. Review of chemical constituents of the red alga *Palmaria palmate* (dulse). *Economic Botany* 34(1) : 27-50.
- Morita M., 1965. Polysaccharides of soybean seeds Part I. Polysaccharide constituents of “hot-water-extract” fraction of soybean seeds and an arabinogalactan as its major component. *Agricultural and Biological chemistry* 40 : 408–412.
- Morris E. R., Cutler A. N., Ross-Murphy S. B., Rees D. A., 1981. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions. *Carbohydrate Polymers* 1 : 5-21.
- Morris E.R., Foster T.J., 1994. Role of conformation in synergistic interactions of xanthan. *Carbohydrate Polymers* 23(2) : 133-135.
- Morris E.R., Rees D.A., Thom D., Boyd J., 1978. Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific primary dimerisation process in alginate gelation. *Carbohydrate Research* 66 : 145-154.

Morris G.P., 1987. Organoleptic properties of food polysaccharides in thickened systems. In : *Industrial polysaccharides:genetic engineering, structure/property relations and applications*. Yalpani M. Ed, Amsterdam, 225-238.

Morris G.P., Beck P.L., Herridge M. S., William T.D., Myron R.S., John L., 1989. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 96 : 795-803.

Morris V.J., 1987. New and modified polysaccharides, Food Biotechnology I. *Elsevier Applied Science*, London, 193 p.

Morton J., 1987. Strawberry Pear : 347-348. In: *Fruits of warm climates*. Julia F. Morton, Miami FL.

Mounguengui W.S., 2008. Caractérisation HPLC de marqueurs permettant de prévoir l'évolution de certaines propriétés macroscopiques du bois lors de différents processus de dégradation. Université Henri Poincaré, Nancy-I 160 p.

Mueller E.A., Hamprecht K., Anderer F.A., 1989. Biochemical characterization of a component in extracts of *Viscum album* enhancing human NK cytotoxicity. *Immunopharmacology* 17 : 11-18.

Muschitz A., Faugeron C., Morvan H., 2009. Response of cultured tomato cells subjected to excess zinc: role of cell wall in zinc compartmentation. *Acta Physiologiae Plantarum* 31 : 1197-1204.

Nacer H.A., 2012. Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Faculté de la Science de la Nature et de la Vie. Université Ferhat Abbas-Sétif, 73p.

Nakano H., Takenishi S., Kitahata S., Kinugasa H., Watanabe Y., 1990. Purification and characterization of an exo-1,4-beta-galactanase from a strain of *Bacillus subtilis*. *European Journal of Biochemistry* 193 : 61-67.

- Nagel A., Mix K., Kuebler S., Bogner H., Kienzle S., X Elstner S., Carle S., Neidhart S., 2015. The arabinogalactan of dried mango exudate and its co-extraction during pectin recovery from mango peel. *Food Hydrocolloids* 46 : 134-143.
- Navarini L., Gilli R., Gombac V., Abatangelo A., Bosco M., Toffanin R., 1999. Polysaccharides from hot water extracts of roasted *Coffea arabica* beans : isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers* 40 : 71-81.
- Ndjouenkeu R., Goycoolea F.M., Morris E.R., Akingbala J.O., 1996. Rheology of okra (*Hibiscus esculentus* L.) and dika nut (*Irvingia gabonensis*) polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 29(3) : 263-269.
- Nerd A., Mizrahi Y., 1997. Reproductive biology of cactus fruit crops. *Horticultural Reviews* 18 : 321-346.
- Nergard C.S., Diallo D., Inngjerdingen K., Michaelsen T.E., Matsumoto T., Kiyohara H., 2005. Medicinal use of *Cochlospermum tinctorium* in Mali : Anti-ulcer-, radical scavenging- and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots. *Journal of Ethnopharmacology* 96 : 255-269.
- Neukom H., Markwalder H.U., 1975. Isolation and characterization of an arabinogalactan from wheat flour. *Carbohydrate Research* 39 : 387-389.
- Ngo D-H., Kim S-K., 2013. Sulfated polysaccharides as bioactive agent from marine algae. *International Journal of Biological Macromolecules* 62 : 70-75.
- Nicolas J.P., 2012. Plantes médicinales du Nord de Madagascar, ethnobotanique Antakarana et informations scientifiques. Éditions Jardins du monde, Brasparts Antsiranana Madagasacr, 296 p.
- Nobel P.S., Cacelier J., Andrade J.L., 1992. Mucilage in cacti: Its aplopastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. *Journal of Experimental Botany* 43 : 641-648.

Nosalova G., Jurecek L., Chatterjee U.R., Majee S.K., Nosal S., Ray B., 2013. Antitussive activity of the water-extracted carbohydrate polymer from *Terminalia chebula* on citric acid-induced cough. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013 : 650134.

Nosálová G., Prisenznáková L., Paulovicová E., Capek P., Matulová M., Navarin L., 2011. Antitussive and immunomodulating activities of instant coffee arabinogalactan-protein. *International Journal of Biological Macromolecules* 49 : 493-497.

Nothnagel E.A., Lyon J.L., 1986. Structural requirements for the binding of phenylglycosides to the surface of protoplasts. *Plant Physiology* 80 : 91-98.

Nothnagel E.A., Bacic A., Clarke A.E., 2000. Cell and developmental biology of arabinogalactan-proteins. *Kluwer Academic Publishing Corp*, New York.

O'Neill M., York W., 2003. The composition and structure of plant primary walls. In Rose JKC (ed) *The plant cell wall*. Blackwell, Oxford :1-54.

O'Neill M., Albersheim P., Darv'ill A., 1990. The pectic polysaccharides of primary cell walls, - *In Methods in Plant Biochemistry* 415-441.

Odonmazig P., Ebringerová A., Machová E., Alföldi J., 1994. Structural and molecular properties of the arabinogalactan isolated from Mongolian larchwood (*Larix dahurica* L.). *Carbohydrate Research* 252 : 317-324.

Okemoto K., Uekita T., Tsumuraya Y., Hashimoto Y., Kasama T., 2003. Purification et caractérisation d'une endo- β -(1,6)-galactanase de *Trichoderma viride*. *Carbohydrate Research* 338 : 219-230.

Oldfield S., 1997. Cactus and Succulent Plants. In *Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN/SS Cactus and Succulent Specialist Group: IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, 212 p.

Oliveira A.J.B., Cordeiro L.M.C., Gon R.A.C., Ceole L.F., Ueda-Nakamura T., Marcello I., 2013. Structure and antiviral activity of arabinogalactan with (1,6)-D-galactan core from *Stevia rebaudiana* leaves 2013. *Carbohydrate Polymers* 94 : 179-184.

Oliveira F.I.C., Bordallo P.N., Castro A.C.R., Correia D., 2013. Genetic diversity of spineless *Cereus jamacaru* accessions using morphological and molecular markers. *Genetics and Molecular Research* 12 : 4586-4594.

Oliveira R.P.S., Perego P., Oliveira M.N., Converti A., 2011. Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. *Food science and technology* 44 : 520-523.

Oosterveld A., Beldman G., Schols H.A., Voragen A.G.J., 2000. Characterization of arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides and hemicelluloses from sugar beet pulp. *Carbohydrate Research* 328 : 185-197.

Ortiz-Hernández Y.D., Carrillo-Salazar J.A., 2012. Pitahaya (*Hylocereus sp*) : a short review. *Comunicata Scientiae* 3 : 220-237.

Osman M.E., Menzies A.R., Williams P.A., Phillips G.O., Baldwin T. C., 1993. The molecular characterisation of the polysaccharide gum from *Acacia senegal*. *Carbohydrate Research* 246 : 303-318.

Paiz R.C., Juárez-Flores B.I., Rivera J.R.A., Ortega N.C.C., Agüero J.A.R., Chávez E.G., 2010. Glucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A., Cactaceae) in diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 4 : 2326-2333.

Patil S.V., Jadge D.R., Dhawale S.C., 2008. Tamarind Gum : A Pharmaceutical Overview. *Latest reviews* 6 (4).

Paulovicova E., Paulovicova L., Pilisiova R., Bystricky S., Yashunsky D.V., Karelin A.A., 2013. Synthetically prepared glycooligosaccharides mimicking *Candida albicans* cell wall glycan antigens novel tools to study host-pathogen interactions. *FEMS Yeast Research* 13 : 659-673.

Paulsen B.S., 2001. Plant polysaccharides with immunostimulatory activities. *Current Organic Chemistry* 5 : 939-950.

Paulsen B.S., Barsett H., 2005. Bioactive pectic polysaccharides. *Advances Polymers Sciences* 186 : 69-101.

Pellerin P., Brillouet J.M., 1994. Purification and properties of an exo-(1,3)- β -galactanase from *Aspergillus niger*. *Carbohydrate Research* 264 : 281-291.

Pellerin P., O'Neill M.A., Pierre C., Cabanis M.T., Darvill A., Albersheim P., Moutounet M., 1997. Le plomb est complexé dans les vins par les dimères de rhamnogalacturonane II, un polysaccharide pectique du raisin. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 33-41.

Pena M. J., Tuomivaara S.T., Urbanowicz B.R., O'Neill M.A., et York W. S., 2012. Methods for structural characterization of the products of cellulose-and xyloglucan-hydrolyzing enzymes. *Methods in Enzymology* 510 : 121-139.

Panchev I., Kirchev N., Kratchanov C., 1988. Improving pectin technology. II. Extraction using ultrasonic treatment. *International Journal Science Technology* 23 : 337.

Peng Q., Liu H., Lei H., Wang X., 2016. Relationship between structure and immunological activity of an arabinogalactan from *Lycium ruthenicum*. *Food Chemistry* 194 : 595-600.

Peng Q., Song J.J., Lv X.P., Wang Z.F., Huang L.J., Du Y.G.J., 2012. Structural Characterization of an Arabinogalactan-Protein from the Fruits of *Lycium ruthenicum*. *Journal Agricultural Food Chemistry* 60 : 9424-9429.

Pereira-Netto A.B., Pettolino F., Cruz-Silva C.T.A., Simas F.F., Bacic A., Carneiro-Lea Ana M.A., Iacomini M., Maurer J.B.B., 2007. Cashew-nut tree exudate gum : Identification of an arabinogalactan-protein as a constituent of the gum and use on the stimulation of somatic embryogenesis. *Plant Science* 173 : 468-477.

Pérez.S, Rodriguez-Carjaval M.A., Doco T., 2003. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function, *Biochimie* 85 : 109-121.

Perrone P., Hewage C.M., Thomson A.R., Bailey K., Sadler I.H., Fry S.C., 2002. Patterns of methyl and O-acetyl esterification in spinach pectins: new complexity. *Phytochemistry* 60 : 67-77.

Peter C., Ema P., Maria M., Danica M., Luciano N., Furio S.L., 2014. *Coffea arabica* instant coffee chemical view and immunomodulating properties. *Carbohydrate Polymers* 103 : 418-426.

Peters M., Kauth M., Scherner O., Gehlhar K., Steffen I., Wentker P., Von Mutius E., Holst O., Bufer A., 2010. Arabinogalactan isolated from cowshed dust extract protects mice from allergic airway inflammation and sensitization. *Journal from a Allergy and Clinical Immunology* 126 : 648-56.

Pettolino F., Liao M.L., Ying Z., Mau S.L., Bacic A., 2006. Structure, function and cloning of arabinogalactan-proteins (AGPs): An overview. *Food and Food Ingredients Journal of Japan* 211 : 12-25.

Philippov S.V., Bogorodov I.M., 2013. Method of using dietary ingredients dihydroquercetin (taxifolin), arabinogalactan and arabinogalactan in combination with dihydroquercetin (taxifolin) for applications in food products. Brevet US 20130287919 A1.

Phillips G.O., 2009. Molecular organization and function of protein complexes arabinogalactan from tree exudates. *Structural Chemistry* 20 : 309-315.

Pierce A.E., 1968. Silylation of organic compounds: A technique for Gas-Phase Analysis; *Pierce Chemical Co.*: Rockford, IL, USA, 1-487.

Pierre G., Graber M., Rafiliposon B.A., Dupuy C., Orvain F., De Crignis M., 2012. Biochemical composition and changes of extracellular polysaccharides (ECPS) produced during microphytobenthic biofilm development (Marennes-Oléron, France). *Environmental Microbiology* 63 : 157-169.

Pierre G., Zhao J.M., Orvain F., Dupuy C., Klein G.L., Graber M., *et al.*, 2013. Sea-sonal dynamics of extracellular polymeric substances (EPS) in surface sedimentsof a diatom-dominated intertidal mudflat (Marennes-Oléron, France). *Journal of Sea Research* 92 : 26-35.

Pietarinen S.P., Willfoer S.M., Vikstrom F.A., Holmbom B.R., 2006. Aspen knots, a rich source of flavonoids. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 26 : 245-258.

Pinto N.C.C., Duque Ana P.N., Pacheco N.R., Mendes R.F ., Motta E.V., Bellozi P.M.Q., Antônia R., Salvador M.J., Scio E., 2015. *Pereskia aculeate* : A plant food with antinociceptive activity. *Pharmaceutical Biology* 53 : 1780-1785.

Polak-Berecka M., Wasko A., Kordowska-Wiater M., Podlesny M., Targonski Z., Kubik-Komar A., 2010. Optmization of medium composition for enhancing growth of *lactobacillus rhamnosus* PEN using response surface methology. *Polish Journal of Microbiology* 59 : 113-118.

Ponder G.R., Richards G.N., 1997. Arabinogalactan from Western larch. I. Effect of uronic acid groups on size exculsion chromatography. *Carbohydrate Polymers* 34 : 251-261.

Ponder G.R., Richards G.N., 1997. Arabinogalactan from Western larch, Part II: A reversible order–disorder transition. *Journal of Carbohydrate Chemistry* 16 : 195-211.

Pettolino F., Liao M.L., Ying Z., Mau S.L., Bacic A.,2006. *Structure, function and cloning of arabinogalactan-proteins (AGPs): an overview*. *Food and Food Ingredients Journal of Japan* 211 : 12–25.

Premanathan M., Arakaki R., Izumi H., Kathiresan K., Nakano M., Yamamoto N., Nakashima H., 1999. Antiviral properties of a mangrove plant *Rhizophora apiculata* Blume, against human immunodeficiency virus. *Antiviral Research* 44: 113-122.

Preston R.D., Nicolai E., Reed R., Millard A., 1948. An electron microscope study of cellulose. *Nature* 162 : 665-667.

- Qi H., Zhang Q., Zhao T., Chen R., Zhang H., Niu X., 2005. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules* 37 : 195-199.
- Qi H., Zhao T., Zhang Q., Li Z., Xing R., 2005. Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* Kjellm (Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology* 17 : 527-534.
- Qi W., Fong C., Lamport D.T. A., 1991. Gum arabic glycoprotein is a twisted hairy rope : A New model based on O-Galactosylhydroxyproline as the polysaccharide attachment site. *Plant Physiology*. 96 : 848-855.
- Qi Y., Klein-Seetharaman J., Bar-Joseph Z., 2005. Random forest similarity for protein-protein interaction prediction from multiple sources. *Pacific Symposium on Biocomputing PSB* 2005 : 531-542.
- Raveh E., Nerd A., Mizrahi Y., 1998. Responses of two hemiepiphytic fruit crop cacti to different degrees of shade. *Scientia Horticulturae* 73 : 151-164.
- Ralet M.C., Bonin E., Thibault J.F., 2002. Pectins, In : *Polysaccharides II*, Steinbüchel A. (Ed.), Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim. *Biopolymers* 12 : 345-380.
- Ralet M.C., Cabrera J.C., Bonnin E., 2005. Mapping sugar beet pectin acetylation pattern. *Phytochemistry* 66 : 1832-1843.
- Ramalho Merc A.L., Landaluze J.S., Mangrich A.S., Szpoganicz B., Sierakowski M.R., 2001. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , and Ni^{2+} . *Bioresource Technology* 76 : 29-37.
- Ramnani P., Chitarrari R., Tuohy K., Grant J., Hotchkiss S., Philp K., Campbell R., Gill C., & Rowland I., 2012. *In vitro* fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. *Anaerobe* 18 : 1-6.

Randall R.C., Phillips G.O., Williams P.A., 1989. Fractionation and characterization of gum from *Acacia senegal*. *Food Hydrocolloids* 3 : 65-75.

Ray A.K., Bird P.B., Iacobucci G.A., Clark B.C., 1995. Functionality of gum arabic. Fractionation, characterization and evaluation of gum fractions in citrus oil emulsions and model beverages. *Food Hydrocolloids* 9 : 123-131.

Raynal-Ioualalen R., 1996. Procédé de fractionnement des sons de blé. Extraction et étude des propriétés fonctionnelles des arabinoxylanes. Institut National Polytechnique, Thesis. Toulouse, 324 p.

Rebman J.P., Pinkava D.J., 2001. *Opuntia cacti* of North America an Overview. *Florida Entomologist* 84 : 474-483.

Redgwell R.J., Curtia D., Wanga J., Dobruchowska J.M., Gerwig G.J., Kamerling J.P., Buchelic P., 2011. Cell wall polysaccharides of Chinese Wolfberry (*Lycium barbarum*). *Carbohydrate Polymers* 84 : 1075-1083.

Redgwell R.J., Schmitt C., Beaulieu M., Curti D., 2005. Hydrocolloids from coffee: physicochemical and functional properties of an arabinogalactan-protein fraction from green beans. *Food Hydrocolloids* 19 : 1005-1015.

Redgwell R.J., Melton L.D., Brach D.J., 1992. Cell wall dissolution in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Solubilization of pectic polymer. *Plant Physiology*.98 : 71-81.

Rees D.A., 1972. Polysaccharide gel. A molecular view. *Chemical Industry* 630-636.

Reguant J., Rinaudo M., 1999. Etude bibliographique sur les matériaux issus de la biomasse végétale. Centre national de la recherche scientifique centre de recherches sur les macromolécules végétales. Grenoble France 164 p.

Reiter W-D., 2002. Biosynthesis and properties of the plant cell wall. *Current Opinion in Plant Biology* 5:536–542.

Reiter W.D., 1998. The molecular analysis of cell wall components. *Trends Plant Science*. 3 : 27-32.

Renard C.M.G.C., 2005. Variability in cell wall preparations: quantification and comparison of common methods. *Carbohydrate Polymers* 60 : 515-522.

Renard C.M.G.C., Jarvis M.J., 1999. A cross-polarization, magic-angle spinning, ^{13}C - nuclear-magnetic-resonance study of polysaccharides in sugar beet cell walls. *Plant Physiology* 119 : 1315-1322.

Renard C.M.G.C., Voragen A.G.J., Thibault J.F., Pilnik W., 1990. Studies on apple protopectin: I. Extraction of insoluble pectin by chemical means. *Carbohydrate Polymers* 12 : 9-25 .

Renard C.M.G. C.; Crépeau M.J.; Thibault J.F., 1995. Structure of the repeating units in the rhamnogalacturonic backbone of apple, beet and citrus pectins. *Carbohydrate Research* 275 : 155-165.

Renard C.M.G.C., Thibault J.F., 1993. Structure and properties of apple and sugar-beet pectins extracted by chelating agents. *Carbohydrate Research* 244 : 99-114.

Renard D., Lefebvre J., Griffin M.C.A., Griffin, W.G., 1998 .Effects of pH and salt environment on the association of β -lactoglobulin revealed by intrinsic fluorescence studies. *International Journal of Biological Macromolecules* 22 : 41-49.

Renard C., Crepeau M.J., & Thibault J.F., 1999. Glucuronic acid directly linked to galacturonic acid in the rhamnogalacturonan backbone of beet pectins. *European Journal of Biochemistry* 266 : 566-574.

Ress D.A., Morris E.R., Thom D., Madden J.K., 1982. Shapes and interactions of carbohydrate chains. In: Aspinal G.O. (ed) / The polysaccharids, Academic Press, New York, 195-290.

Reynars H., 2003. Light scattering study of polyelectrolyte polysaccharides. The carrageenans. *Fibres and Textiles in Eastern Europe* 11 : 89-96.

Ridley B.L., O'Neill M.A., Mohnen D., 2001. Pectins : structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling *Phytochemistry* 57 : 929-967.

Rinaudo M., 1994. On the relation structure-properties of some polysaccharides used in the Food Industry. *Food Hydrocolloids : Structures, properties and functions*, Kluwer, 21-34.

Rinaudo M., Reguant J., 2000. Polysaccharide derivatives. In: *Frollini E., Leao A. and Mattoso L.H.C.* (eds), *Natural Polymers and Agrofibers Based Composites*. Embrapa Instrumentacao Agropecuaria, Sao Carlos, Brazil, 15-39.

Robert D., Roland J.C., 1998. Biologie végétale, Volume 1, Organisation cellulaire, Doin, Paris, 367 p.

Robert J.Y., Fred R.W. Henry T.T., David. B.G., Roy L.W., 1999. Chewing gum containing arabinogalactan. Patent, WO 1999017618 A1.

Robinson R., Feirtag J., Slavin J., 2001. Effects of dietary arabinogalactan on gastrointestinal and blood parameters in healthy human subjects. *The Journal of the American College of Nutrition* 20 : 279-285.

Robles-Fernández I., Rodríguez-Serrano F., Álvarez P.J., Ortiz R., Rama A.R., Prados J., Álvarez-Manzaneda E., Aránega A., 2013. Antitumor properties of natural compounds and related molecules. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 8 : 203-215.

Roediger W.E., 1989. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology* 83 : 424-429.

Rolin C., Nielsen B.N., Glahn P. E. 1998. Pectin, in "*Polysaccharides. Structural diversity and functional versatility*". S. Dimitriu, (Ed.) Marcel Dekker, Inc, Sherbrooke (Canada) New York, 377 p.

Rombouts F.M., Thibault J.F., 1986. Chemistry and functions of pectins, in "*Chemistry and functions of pectins*, 5". M. L. Fishman and J. J. Jen, (Eds.) American Chemical Society, Washington DC, 310 p.

NGuyen V.K., 1996. Flore induction study of dragon fruit crop (*Hylocereus undatus*) by using chemicals. *University of agriculture and forestry. Faculty of agronomy*. Hô Chi Minh-Ville Vietnam, 54 p.

Redgwell R.J., Schmitt C., Beaulieu M., Curti D., 2005. Hydrocolloids from coffee: Physicochemical and functional properties of an arabinogalactan-protein fraction from green beans. *Food Hydrocolloids* 19 : 1005-1015.

Rombouts F.M., Thibault J.F., 1986. Ferulated pectic substances from sugar beet pulp. *Carbohydrate Research* 154 : 177-187.

Ron H.C., Weei Y.C., 2001. Rheological properties of the water-soluble mucilage of a green laver, *Monostroma nitidum*. *Journal of Applied phycology* 13 : 481-488.

Rondón J.A., 1998. Cactáceas epífitas y trepadoras de la reserva forestal de Caparo, estado Barinas, Venezuela. *Review For Venezuela* 42 : 119-129.

Ross-Murphy S.B., Morris V.J., Morris E.R., 1983. Molecular viscoelasticity of xanthan polysaccharide. *Faraday Symposium of the Chemical Society* 18 : 115-129.

Ryter S.F., Tyrrel R.M., 2000. The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine* 28 : 289-309.

Saad N., Delattre C., Urdaci M., Schmitter J.M., Bressollier P., 2013. An Overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT. Food Science Technology* 50 : 1-16.

Sabde A.D., Ramachandhran M.K.T., Hanra M.S., Misra B.M., 1997. Casting and characterization of cellulose acetate butyrate based UF membranes. *Desalination* 114 : 223-232.

Schols H.A., Voragen A.G.J., 1994. Occurrence of pectic hairy regions in various plant cell wall materials and their degradability by RGase. *Carbohydrate Research* 256 : 93–95.

Sáenz C., Sepúlveda E., Matsuihiro E., 2004. *Opuntia* spp. Mucilages : A functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environment* 57 : 275-290.

Saidou C., 2012. Propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des gommages hydrocolloïdes des écorces de *Triumfetta cordifolia* (Tiliacée) et de *Bridelia thermifolia* (Euphorbiacée), Thesis, Université de Grenoble, France.

Sajeva M., Mauseth J.D., 1991. Leaf-like Structure in the Photosynthetic, Succulent Stems of Cacti. *Annals of botany* 68 : 405-411.

Sakai E., Katayama T., Ogasawara T., Mizuno M., 2012. Identification of *Anogeissus latifolia* Wallich and analysis of refined gum ghatti. *Journal Natural Medecine* 67 : 276-280.

Sakamoto T., Ishimaru M., 2013. Peculiarities and applications of galactanolytic enzymes that act on type I and II arabinogalactans. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97 : 5201-5213.

Sakurai M.H., Kiyohara H., Matsumoto T., Tsumuraya Y., Hashimoto Y., Yamada H., 1998. Characterization of antigenic epitopes in anti-ulcer pectic polysaccharides from *Bupleurum falcatum* L. using several carbohydrases. *Carbohydrate Research* 311 : 219-229.

Salvayre R., Auge N., Nègre-Salvayre, 2003. A., Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. In *L'athérosclérose*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson, Paris, 269-290.

Sampedro M.C., Artola R.L., Murature M., Murature D., Ditamo Y., Roth G.A., 2004. Mannan from *Aloe saponaria* inhibits tumoral cell line activation and proliferation. *International Immunopharmacology* 4 : 411-418.

Samuelsen A.B., Paulsen B.S., Wold J.K., Otsuka H., Kiyohara H., Yamada H., Knutsen, S. H., 1996. Characterization of a biologically active pectin from *Plantago major* L. *Carbohydrate Polymers* 30 : 37-44.

Samuelsen A.I., Martin R.C., Mok D.W., Mok M.C., 1998. Expression of the yeast FRE genes in transgenic tobacco. *Plant Physiology* 118 : 51-58.

Samuelsena A.B., Paulsena B.S., Weld J.K., Knutsenb S.H., Yamadapc H., 1998. Characterization of a biologically active arabinogalactan from the leaves of *Plantago major* L. *Carbohydrate Polymers* 35 : 145-153.

Samuelsen A. B., Paulsen B. S., Wold J.K., Otsuka H., Yamada H.and Espevik T., 2006. Isolation and partial characterization of biologically active polysaccharides from *Plantago major* L. *Phytotherapy Research* 9 : 211–218.

Sanchez C., Renard D., Robert P. Schmitt C., Lefebvre J., 2002. Structure and rheological properties of acacia gum dispersions. *Food Hydrocolloids* 16 : 257-267.

Sanchez C., Schmitt C., Kolodziejczyk E., Lapp A., Gaillard C., Renard D., 2008. The acacia gum arabinogalactan fraction is a thin oblate ellipsoid: A new model based on small-angle neutron scattering and abinitio calculation. *Biophysical Journal* 94 : 629-639.

Sanchez-S. M. A., Pelaez R., Corchete P., 2008. An arabinogalactan protein isolated from medium of cell suspension cultures of *Silybum marianum* (L.) Gaernt. *Carbohydrate Polymers* 71 : 634-639.

Sandersn G.R., 1981. Polysaccharides in foods. *Food Technology Magazine* 35 : 50-57.

Saulnier L., Brillouet J-M., Moutounet M., Du Penhoat C.H., Michon V., 1992. New investigations of the structure of grape arabinogalactan-protein. *Carbohydrate Research* 224 : 219-235.

Saxena I.M., Brown R.M., 2005. Cellulose biosynthesis : Current views and evolving concepts. *Annales. Botanici* 96 : 9-22.

Saulnier L., Brillouet J. M., Moutounet M., 1988. Nouvelles acquisitions structurales sur les substances pectiques de la pulpe de raisin (New structural data on pectic substances from grape pulp). *Connaiss. Vigne Vin* 22 : 135-158.

Saulnier L., Brillouet J.M., Moutounet M., du Penhoat C.H., Michon V., 1992. New investigations of the structure of grape arabinogalactan-protein. *Carbohydrate Research* 224 : 219-235.

Scheller H.V., Ulvskov P., 2010. Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology* 61 : 263-289.

Schepetkin I.A., Faulkner C.L., Nelson-Overton L.K., Willey J.A., Quinn M.T., 2005. Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Juniperus scopulorum*. *International Immunopharmacology* 5 : 1783-1799.

Schepetkin I.A., Quinn M.T., 2006. Botanical polysaccharides: Macrophage modulation and therapeutic potential. *International Immunopharmacology* 6 : 317-333.

Schmitt J.R., Flemming H-C., 1998. FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. *International Biodeterioration and Biodegradation* 41 : 1-11.

Smidsred O. and Haug A., 1971. Estimation of relative stiffness of molecular chain in polytes from measurements of viscosity at different ionic strengths. *Biopolymers* 10 : 1213-12127.

Schols H., Voragen A., 1994. Occurrence of pectic hairy regions in various plant cell wall materials and their degradability by rhamnogalacturonase. *Carbohydrate Research* 256 : 83–95.

Sekimata M., Ogura K., Tsumuraya Y., Hashimoto Y., Yamamoto S., 1989. A β -galactosidase from radish (*Raphanus sativus* L.) seeds. *Plant Physiology* 90 : 567–574.

Selvendran R.R., Stevens B.J.H., O'Neil M.A., 1985. Developpements in the isolation and analys of cell walls from edible plants. *Biochemistry of plant cell walls* 28 : 39-78.

Sepulveda E., Sáenz C., Aliaga E., Aceituno C., 2007. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia spp.* *Journal of Arid Environments* 68 : 534-545.

Servant-Duvallet S., 1994. Variabilité des propriétés physico-chimiques d'exsudats d'Acacia senegal (gomme arabique) d'une plantation expérimentale au Ferlo (Senegal). Modification des chaînes. PhD Thesis University of Rouen, France, 188p.

Shan J., Zhao C., Li Q. , Zhu Q., Ren J., Li H., Wu J., Ma H., Qu H., Wang Y., 2015. An arabinogalactan from *Isatis indigotica* and its adjuvant effects on H1N1 influenza and hepatitis B antigens. *Journal of Functional Foods* 18 : 631-642.

Shareef A., Parnis C.J., Angove M.J., Wells J.D., Johnson B.B., 2004. Suitability of N,O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamidend N-(tert.-butyldimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide as derivation reagents for the determination of the estrogens estrone and 17 alpha-ethinylestradiol by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1026 : 295-300.

Siddiqui I.R., Wood P.J., 1972. Structural investigation of water-soluble rapeseed (*Brassica campestris*) polysaccharides. II. An acidic arabinogalactan. *Carbohydrate Research*. 24 : 1-9.

Sierakowski M.R., Gorin P.A.J., Reicher F., Correa J.B.C., 1990. Location of O-acetyl groups in the heteropolysaccharide of the *Cactus pereskia aculeate*. *Carbohydrate Research*. 201 : 277-284.

Silva D., Parente B.P., José P., 2002. Chemical properties and biological activity of a polysaccharide from *Melocactus depressus*. *Planta medica* 68 : 74-76.

Simas-Tosin F.F., Abud A.P.R., De Oliveira C.C., Gorin P.A.J., Sasaki G.L., Bucchi, D. F., Iacomini M., 2012. Polysaccharides from peach pulp : Structure and effects on mouse peritoneal macrophages. *Food Chemistry* 134 : 2257-2260.

Simon J., Müller H.P., Koch R., Müller V., 1998. Thermoplastic and Biodegradable Polymers of Cellulose. *Polymer Degradation and Stability* 59 : 107-115.

Sittikijyothin W., Torres D., Gonclaves M.P., 2005. Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*. 59 : 339-350.

Smidsrod O., Haug A., 1971. Estimation of the relative stiffness of the molecular chain in polyelectrolytes from measurements of viscosity at different ionic strengths. *Biopolymers* 10(7) : 1213-1225.

Schmitt J. and Flemming H-C., 1998. FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation International Biodeterioration & Biodegradation* 41 : 1–11.

Somerville C., 2006. Cellulose synthesis in higher plants. *Annual Review Cell Developmental Biology* 22 : 5378.

Souza B. W.S., Cerqueira M.A, Bourbon M. A., Pinheiro, Martins J.T., Teixeira J A., Coimbra M. A., Vicente A. A., 2012. Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. *Food Hydrocolloids* 27 : 287-292.

Srivastava B. K., Pande C.S., 1974. Arabinogalactan from the pods of *Opuntia dillenii*. *Planta Medica* 25 : 92-97.

Srivastava R., Kulshveshta, D.K., 1989. Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry* 28 : 2877-2883.

Steed K., Owen C.L., Harra L.K., Green L.M., Dasso S, Walsh A.P., Démoulin P, Van Driel -Gesztelyi L., 2008. Locating the solar source of 13 April 2006 magnetic cloud. *Annales Geophysicae* 26 : 3159-3168.

Stephan A.M., 1983. Other plant polysaccharides. P 97-193. In G.O. Aspinall, *The polysaccharides*; Volume 2. Academic Press, Orlando.

Stephen A.M., Phillips G.O., Williams P.A., 2006. Food Polysaccharides and Their Applications. Taylor & Francis Group, Boca Ranton, London, New York, 712 p.

Stoddart J.F., Jones, J.K.N., 1968. Some structural features of *Citrus limonia* gum (lemon gum). *Carbohydrate Research*. 8 : 29-42.

Stolle-Smits T., et al., 1999. Changes in cell wall polysaccharides of green bean pods during development. *Plant Physiology* 121 : 363.

Sugihara N., Arakawa T., Ohnishi M., 1999. Anti-and pro-oxidative effects of flavonoids on metal-induced lipid hydroperoxide-dependent lipid peroxidation in cultured hepatocytes loaded with alpha-linolenic acid. *Free Radical Biology Medecine* 27 : 1313-1323.

Sun W., Xu J., Yang J., Kieliszewski M.J., Showalter A.M., 2015. The lysine-rich arabinogalactan-protein subfamily in *Arabidopsis*: gene expression, glyc protein purification and biochemical characterization. *Plant Cell Physiology* 46 : 975-84.

Sun W., Xu J., Yang J., Kieliszewski M.J., Showalter A.M., 2005. The lysine-rich arabinogalactan-protein subfamily in *Arabidopsis*: gene expression, glycoprotein purification and biochemical characterization. *Plant and Cell Physiology* 46 : 975–984.

Svetlana A.M., Galina A.P., Valentina I.D., 2002. Larch arabinogalactan as a polymer matrix in perspective for biogenic metals. *Chemistry and Computational Simulation Butlerov Communications* 2 : 47-50.

Svoboda P., Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

Szpunar J., Pellerin P., Makarov A., Doco T, Williams P., Lobinski R., 1999. Speciation of metal-carbohydrate complexes in fruit and vegetable samples by size-exclusion HPLC-ICP MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14 ; 639–644.

Swenson, H. A., Miers, J. C., Schultz, T. H., Owens, H.S., 1953. Pectinates and pectate coatings. II. Applications to nuts and fruit products. *Food Technology* 7 : 232-235.

Taghvaei M., Jafari M.M., 2015. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of Food Science and Technology* 52(3) : 1272-1282.

Taguchi I., Kiyohara H., Matsumoto T., Yamada H., 2004. Structure of oligosaccharide side chains of an intestinal immune system modulating arabinogalactan isolated from rhizomes of *Atractylodes lancea* DC *Carbohydrate Research* 339 : 763-770.

Tahiri M., Pellerin P., Tressol J.C, Doco T., Pépin D., Rayssiguier Y., Coudray C., 2000. The rhamnogalacturonan-II dimer decreases intestinal absorption and tissue accumulation of lead in rats. *Journal of Nutrition* 130 : 249-253.

Tanaka L.Y.A., De Oliveira A.J.B., Goncalves J.E.G., Cipriani T.R., De Souza L.M., Marques M.C., Werner M.F., Baggio C.H., Gorin P.A.J., Sassaki G.L.I., Iacomini M., 2010. An arabinogalactan with anti-ulcer protective effects isolated from *Cereus peruvianus*. *Carbohydrate Polymers* 82 : 714-721.

Thakur B.R., Singh R.K., Handa A. K., 1997. Chemistry and uses of pectin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37 : 47-73.

Thakur M., Weng A., Fuchs H., Sharma V., Bhargava C.S., Chauhan, N.S., 2012. Rasayana properties of Ayurvedic herbs: Are polysaccharides a major contributor. *Carbohydrate Polymers* 87 : 3-15.

Thales R., Cipriani A., Caroline G., Mellinger A., Maria L.C., Bertolini A., Cristiane H., Baggio B., Cristina S., Freitas B., Maria Consuelo A., Marques B., Philip A.J., Gorin A., Tomoda M. and Kitamura M., 1967. The polysaccharide from *Lupinus luteus* seed. II. Purification and properties of two polysaccharides. *Chemical. Pharmaceutical. Bulletin.* 15 : 1021-1024.

Themeli M., Kloss C.C., Ciriello G., Fedorov V.D., Perna F., Gonen M. *et al.*, 2013. Generation of tumor-targeted human T lymphocytes from induced pluripotent stem cells for cancer therapy. *Nature Biotechnology* 31 : 928-933.

Thi V.V.D., 2011. Matériaux composites fibres naturelles/polymère biodégradables ou non Université des sciences de Hochiminh ville. Université de Grenoble 189 p.

Thibault J.F., 1980. Les pectines, Dans : *Les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés*, Ed Gauthier-Villars, Paris, 232-251.

Thibault J.F., Guillon F., Rombouts F.M., 1991. The chemistry and. technology of pectin. Academic Press., San Diego, California, 119-133.

Thibault J.F., Ralet M.C., 2001. Pectins: Their origin, structure and functions. in *Advanced Dietary Fibre Technology* (eds B.V. McCleary and L. Prosky), Oxford Blackwell Science, London : 369-378.

Thibault J.F., Renard C.M.G.C., Axelos M.A.V., Roger P., Crepeau M.J., 1993. Studies of the length of homogalacturonic region in pectins by acid hydrolysis. *Carbohydrate. Research* 238 : 271-286.

Thibault J.F., Ralet M.C., 1994. Extraction and characterization of very highly methylated pectins from lemon cell walls. *Carbohydrate Research* 260 : 283-296.

Timell T.E., Enterman W., Spencer F., Soltes E.J., 1965. The acid hydrolysis of glycosides, II, effect of substituents at C-5. *Canadian. Journal. Chemistry* 43 : 2296-2305.

Ting H., Qi L. , Hui Y., Ming-Liang J., Ming-Jie Z., Lin-Jie Y., Ji L., Qing-Sheng H., Da-Chuan Y., 2014. Protective effect of polysaccharides on simulatedmicrogravity-induced functional inhibition of human NK cells. *Carbohydrate Polymers* 101 : 819– 827.

Tischer C.A., Gorin P.A.J., Iacomini M., 2002. The free reducing oligosaccharides of gum arabic: aids for structural assignments in the polysaccharide. *Carbohydrate Polymers* 47 : 151-158.

Tischer C.A., Iacomini M., Gorin P.A.J., 2002. Structure of the arabinogalactan from gum tragacanth (*Astragalus gummifer*). *Carbohydrate Research* 337 : 1647-1655.

Tomme P, Warren R.A., Gilkes N.R., 1995. Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. *Advance Microbial Physiology* 37 : 1-81.

Tomoda M., Kitamura M., 1967. The polysaccharide from *Lupinus luteus* seed. II. Purification and properties of two polysaccharides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 15 (7) : 1021-4.

Treiber E., 1957. Die chemie der Pflanzenwand; ein beitrag zur morphologie, physik, chemie und technologie der cellulose und ihrer begleiter. Springer-Verlag, Berlin, 512 p.

Trachtenberg S., Mayer A.M., 1981. Composition and properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Phytochemistry* 20 : 2665–2668.

Trommer H., Neubert R.H., 2005. The examination of polysaccharides as potential antioxidative compounds for topical administration using a lipid model system. *International Journal of Pharmaceutics* 298 : 153-163.

Trouillas P., Fagnère C., Lazzaroni R., Calliste C., Marfak A., 2004. A theoretical study of the conformational behavior and electronic structure of taxifolin correlated with the free radical-scavenging activity. *Food Chemistry* 88 : 571-582.

Tsao D.Z.S., Wong A, Kim Y.S., 1983. Effet du butyrate de sodium sur la production d'antigène carcinoembryonnaire par les cellules d'adénocarcinome du côlon humain en culture. *Cancer Research* 43 : 1217-1222.

Tsumuraya Y., Hashimoto Y., Yamamoto S., 1987 An L-arabino-D-galactan and an L-arabino-D-galactan-containing proteoglycan from radish (*Raphanus sativus*) seeds. *Carbohydrate. Research* 161 : 113-126.

- Tsumuraya Y., Ogura K., Hashimoto Y., Mukoyama H., Yamamoto S., 1988. Arabinogalactan-Proteins from Primary and Mature Roots of Radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Physiology* 86 : 155-160.
- Uhlenbruck G., Beuth J., Oette K., 1986. Prevention of experimental liver metastases by arabinogalactan. *Naturwissenschaften* 73 : 626-627.
- Valcheva R., Dieleman L.A., 2016. Definition and protective mechanisms. *Best Practice Research Clinical Gastroenterology* 30 : 27-37.
- Van den Hoogen B.M., van Meeren P.R., Lopes-Cardozo M., van Golde L.M., Barneveld A., van de Lest C.H.A. 1998. A microtiter plate assay for the determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry* 257 : 107–111.
- Van de Vis J. W., 1994. Characterization and mode of action of enzymes degrading galactan structures of arabinogalactans. Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, 125-144.
- Van Niel E.W.J., Hahn-Hägerdal B., 1999. Nutrient requirements of *Lactococci* in defined growth media. *Applied Microbiology and Biotechnology* 52 : 617-627.
- Varner J.E., Lin L.S., 1989. Plant cell wall architecture is revealed by rapid-freezing and deep-etching. *Protoplasma* 56 : 231-239.
- Vartiainen J., Vähä-Nissi M., Harlin A., 2014. Biopolymer Films and Coatings in Packaging Applications. *A Review of Recent Developments Materials Sciences and Applications* 5 : 708-718.
- Verbeken D., Dierckx S., Dewettinck K.. 2003. Exudate gums: occurrence, production, and applications. *Applied Microbiology Biotechnology* 63 : 10-21.
- Vernazza C.L. Rabiou B.A., Gibson G.R., 2006. Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: introduction to prebiotics. In Gibson, G. R. and Rastall, R. A. (Eds.). *Prebiotics: Development and Application* : 1-28.

Vidal., 2000. Structural characterization of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II: evidence for the backbone location of the aceric acid-containing oligoglycosyl side chain. *Carbohydrate Research* 326 : 277-294.

Vignon M.R., Dupeyre D., Garcia-Jaldon C., 1996. "Morphological characterization of steam-exploded hemp fibers and their utilization in polypropylene-based composites". *Bioresource Technology* 58 : 203-215.

Vignon M.R., Heux L., Malainine M.E., Mahrouz M., 2004. Arabinan-cellulose composite in *Opuntia ficus-indica* prickly pear spines. *Carbohydrate Research* 339 : 123-131.

Vinayak R.C., Sabu A.S., Chatterji A., 2011. Bio-prospecting of a few brown seaweeds for their cytotoxic and antioxidant activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* ID 673083.

Vince A.J., McNeil N.I., Wager J.D., Wrong O.M., 1990. The effect of lactulose, pectin, arabinogalactan and cellulose on the production of organic acids and metabolism of ammonia by intestinal bacteria in a faecal incubation system. *British Journal Nutrition* 63 : 17-26.

Vincken J.-P., Schols H.A., Oomen R.J.F.J., McCann M.C., Ulvskov P., Voragen A.G.J., Visser R.G.F., 2003. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology* 132 : 1781-1789.

Vinogradov G.V., Malkin A. Y., 1980. Rheology of Polymers : Viscoelasticity and Flow of Polymers. Moscow : Mir ; New York : Springer-Verlag, 105-121.

Voragen A.G.J., Pilnik W., Thibault J.F., Axelos M.A.V., Renard C.M.G.C., 1995. Pectins In *Food polysaccharides and their applications*: Stephen, A.M., Ed. Marcel Dekker., New York, 287-339.

Voragen, A.G.J., Coenen G.J., Verhoef R.P., Schols H.A., 2009. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry* 20 : 263-275.

Waffenschmidt S., Jaenicke L., 1987. Assay of Reducing Sugars in the Nanomole Range with 2,2'-Bicinchoninate. *Analytical Biochemistry* 165 : 337-340.

Wagner H., Jordan E., 1988. An immunologically active arabinogalactan from *Viscum album* 'berries'. *Phytochemistry* 27 : 2511–2517.

Wallace R.S., 1995. Molecular systematic study of the Cactaceae: using chloroplast DNA variation to elucidate cactus phylogeny. *Bradleya* 13 : 1-12.

Wang S., Zhang L., Yao J., Shi Y., Li P., Ding K., 2015. An arabinogalactan from flowers of *Panax notoginseng* inhibits angiogenesis by BMP2/Smad/Id1 signaling Peipei. *Carbohydrate Polymers* 121 : 328-335.

Wang W., Chen J., 2007. Ultrastructural study on a novel microsporidian, *Endoreticulatus eriocheir* sp. nov. (Microsporidia, Encephalitozoonidae), parasite of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (Crustacea, Decapoda). *Journal of Invertebrate Pathology* 94 : 77–83.

Wang X. S., Zheng Y., Zuo Jian P., Fang J., 2005. Structural features of an immunoactive acidic arabinogalactan from *Centella asiatica*. *Carbohydrate Polymers* 59 : 281-288.

Wang X.S., Dong Q., Zuo J.P., Fang J.N., 2003. Structure and potential immunological activity of a pectin from *Centella asiatica* (L.) Urban. *Carbohydrate Research* 338 : 2393-2402.

Wang Z., Luo D., 2007. Extraction, purification and antioxidant activities of polysaccharide from *Dioscorea nipponica* Makinoi. *Nature Production Research Development* 19 : 29 -34.

Warrand J., Michaud P., Picton L., Muller G., Courtois B., Ralainirina R., 2005b. Flax (*Linum usitatissimum*) seed cake: A potential source of high molecular weight arabinoxylans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 :1449-1452.

Warrand J., Michaud P., Picton L., Muller G., Courtois B., Ralainirina R., 2005a. Contributions of intermolecular interactions between constitutive arabinoxylans to the flaxseeds mucilage properties. *Biomacromolecules* 6 :1871-1876.

Watrelet A.A., Le Bourvellec C., Imbert A., Renard C.M., 2013. Interactions between pectic compounds and procyanidins are influenced by methylation degree and chain length. *Biomacromolecules* 14 : 709-718.

Weiss J., Nerd A., Mizrahi Y., 1994. Flowering behavior and pollination requirements in climbing cacti with fruit crop potential. *HortScience* 29 : 1487-1492.

Wichienchot S., Jatupornpipat M., Rastall R.A., 2010. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry* 120 : 850–857.

Whistler R.L., Shah R.N., 1978. Recent developments in the industrial use of hemicelluloses, in "*Modified Cellulosics*". R.M. Rowell and R.A. Young (Eds.) Academic Press, New York, 341 p.

Whistler R.L., 1970. The Carbohydrates: Chemistry and Biochemistry. Academic Press, London, 447 p.

Wi S.G., Cho E.J., Lee D.S., Lee S.J., Lee Y.J., Bae H-J., 2015. Lignocellulose conversion for biofuel: a new pretreatment greatly improves downstream biocatalytic hydrolysis of various lignocellulosic materials. *Biotechnology for Biofuels* 8 : 1-11.

Wilkie K.C.B., 1979. The hemicelluloses of grasses and cereals. *Advances. Carbohydrate. Chemistry Biochemistry* 36 : 215-264.

Williamson R.V., 1929. Estimation of brushing and flowing properties of paints from plasticity data. *Industrial & Engineering Chemistry* 21 : 1111–1115.

Willför S., Sjöholm R., Laine C., Holmbom B., 2002. Structural features of watersoluble arabinogalactans from Norway spruce and Scots pine heartwood. *Wood Science and Technology* 36 : 101-110.

Wise L.E., Murphy M., D'Addieco A.A., 1946. Chlorite holocellulose, its fractionation and bearing on summative wood analysis and studies on the hemicelluloses. *Paper Trade Journal* 122 : 35-43.

Wood P.J., Siddiqui I.R., 1972. Isolation and structural studies of a water-soluble galactan from potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Carbohydrate Research* 22 : 212-220.

Wu X.M., Gao X.M., Tsim K.W.K., Tu P.F, 2005. An arabinogalactan isolated from the stems of *Cistanche deserticola* induces the proliferation of cultured lymphocytes. *International Journal of Biological Macromolecules* 37 : 278-282.

Yalpani M., Sandford P.A., 1987. Commercial polysaccharides : recent trends and developments. In: *Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/property relations and applications*. Yalpani M. Ed, Amsterdam, 311-335.

Yamada H., Kiyohara H., Cyong J.C., Otsuka Y., 1985. Studies on polysaccharides from *Angelica acutiloba* IV. Characterization of an anticomplementary arabinogalactan from the roots of *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Molecular Immunology* 22 : 295-304.

Yamada H., 1994. Pectic polysaccharides from Chinese herbs: Structural and biological activity. *Carbohydrate Polymers* 25 : 269-276.

Yamada H., 1996. Contribution of pectins on health care, in "*Pectins and Pectinases*". J. Visser and A. G. J. Voragen, (Eds.) Elsevier Science B.V, 173 p.

Yamada H., Kiyohara H., Cyong J.C., Otsuka Y., 1987. Structural characterization of an anti-complementary arabinogalactan from the roots of *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Carbohydrate Research* 159 : 275-291.

Yamada Y., Wittwer S.H., Bukovac M., 1965. Penetration of organic compounds through isolated cuticular membranes with special reference to C14 urea. *Plant Physiology* 40 : 170-175.

Yamaguchi F., Inoue S., Hatanaka S., 1995. Purification and Properties of Endo- β -1,4-D-galactanase from *Aspergillus niger*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* :1347-6947.

Yan R., Li S.L., Chang H.S., Tam Y.K., Lin G., 2005. Simutaneous quatification of 12 bioactive components of Ligusticum, chuanxiong Hort by high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 37 : 87–95.

Yuan Y.V., Bone D.E. and Carrington M.F., 2005. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro*. *Food Chemistry* 91 : 485-494.

Yang L.C., Hsieh C.C., Lin W.C., 2015. Characterization and immunomodulatory activity of rice hull polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 124 : 150-156.

Yang L.C., Hsieh C.C., Lu T.J., Lin W., 2014. Structurally characterized arabinogalactan from *Anoectochilus formosanus* as an immuno-modulator against CT26 colon cancer in BALB/c mice. *Phytomedicine* 21 : 647–655.

Yu K.-W., Kiyohara H., Matsumoto T., Yang H.-C., Yamada H., 1998. Intestinal immune system modulating polysaccharides from rhizomes of *Atractylodes lancea*. *Planta Medica* 64 : 714-719.

Yu K.-W., Kiyohara H., Matsumoto T., Yang H.-C., Yamada H., 2001. Characterization of pectic polysaccharides having intestinal immune system modulating activity from rhizomes of *Atractylodes lancea* DC. *Carbohydrate Polymers* 46 : 125-134.

Yuan Y.V., Bone D.E., Carrington M.F., 2005. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro*. *Food Chemistry* 91 : 485-494.

Zhang L., Liu C., Li D., Zhao Y., Zhang X., Zeng X., Yang Z., Li S., 2013. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *International Journal Biological Macromolecules* 54 : 270-275.

Zhong X., Jin X., Lai F.-Y., Lin Q.-S., Jiang J.-G., 2010. Chemical analysis and antioxidant activities in vitro of polysaccharide extracted from *Opuntia ficusindica* Mill. cultivated in China. *Carbohydrate Polymers* 82 : 722-727.

Zim B.H., 1948. Light Scattering in Multi-Component Systems. *Journal of Chemical Physics* 16 : 1093 .

Zippel J., Wells T., Hensel A., 2010. Arabinogalactan protein from *Jatropha curcas* L. seeds as TGF β 1-mediated inductor of keratinocyte in vitro differentiation and stimulation of GM-CSF, HGF, KGF and in organotypic skin equivalents. *Fitoterapia* 81 : 772-778.

Zou J., Lippert C., Heckerman D., Aryee M., Listgarten J., 2014. Epigenome-wide association studies without the need for cell-type composition. *Nature Methods* 11 : 309-311.

Zhou J., Zhang L., 2000. Solubility of cellulose in NaOH/Urea aqueous solution. *Polymer Journal* 32 : 866–870.

Zykwinska A., Ralet M., Garnier C., Thibault J., 2005. Evidence for in vitro binding of pectin side chains to cellulose. *Plant Physiology* 139 : 397-407.

ANNEXES

TABLE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : Composition des milieux.

ANNEXE 2 : Publication dans une revue à comité de lecture.

ANNEXE 3 : Participation à des congrès nationaux et internationaux.

ANNEXE 1

Milieu gélose pour le dénombrement (PCA, BK144HA, BIOKAR diagnostics)

Tryptone	5,0 g/L
Extrait autolytique de levure	2,5 g/L
Glucose	1,0 g/L
Agar agar bactériologique	12 g/L

(le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C doit être de $7,0 \pm 0,2$)

Gélose pente ISP2 (International Streptomyces project)

Extrait de levure	4,0 g/L
Extrait de malt	10 g/L
Glucose	4,0 g/L
NaCl	20 g/L
Agar	20 g/L

Milieu MRS

Peptone animale (Fluka)	10 g/L
Extrait de viande	8 g/L
Extrait de levure	4,0 g/L
K ₂ HPO ₄	2 g/L
CH ₃ COONa, 3H ₂ O	5 g/L
Citrate de triammonium	2 g/L
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,2 g/L
MnSO ₄ , H ₂ O	0,05 g/L
TWEEN80	1 mL

Milieu pour la revivification des souches à tester (Bouillon nutritif)

Peptone	15 g/L
Extrait de levure	5,0 g/L
NaCl	15 g/L

(le pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C doit être de $7,4 \pm 0,2$)

ANNEXE 2 : Publication dans une revue à comité de lecture

Petera B., Delattre C., Pierre G., Wadouachi A., Elboutachfaiti R., Engel E., Poughon L., Michaud P., Fenoradosoa A.T. (2015). Characterization of arabinogalactan-rich mucilage from *Cereus triangularis* cladodes. Carbohydrate Polymers, 127: 372-380. **(IF : 4,219)**



Contents lists available at ScienceDirect

Carbohydrate Polymers

journal homepage: www.elsevier.com/locate/carbpol

Characterization of arabinogalactan-rich mucilage from *Cereus triangularis* cladodes



B. Petera^a, C. Delattre^{b,c,*}, G. Pierre^{b,c}, A. Wadouachi^d, R. Elbouchfaihi^e, E. Engel^f,
L. Poughon^{b,c}, P. Michaud^{b,c}, T.A. Fenoradosoa^a

^a Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, BPO 201, Antananarivo, Madagascar

^b Université Clermont Auvergne, Université Blaise Pascal, Institut Pascal, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France

^c CNRS, UMR 6602, IP, F-63171 Aubière, France

^d Laboratoire des Glucides FRI CNRS 3517 – Institut de Chimie de Picardie FR 3085, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint-Leu, F-80009 Amiens, France

^e Université de Picardie Jules Verne, EA 3900-BioP Biologie des Plantes et de l'Innovation, IUF d'Amiens (GB), Avenue des Facultés, Le Bally, 80025 Amiens Cedex, France

^f INRA, UR370 QuaPA, MASS Group, 63122 Saint-Genès-Champagnelle, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 March 2015

Received in revised form 31 March 2015

Accepted 1 April 2015

Available online 11 April 2015

Keywords:

Antioxidant

Arabinogalactan, Cactaceae

Madagascar

Mucilage

ABSTRACT

Cereus triangularis (Cactaceae) is a cactus used in food decoction as a traditional medicine in the North region of Madagascar to reduce stomach ache and intestinal diseases. Hydrocolloids were sequentially extracted from its cladodes with a yield of 24% (240 mg/g based on dried cladodes powder). Structural analyses has revealed that this polysaccharide with a molecular mass of 8430,000 g/mol was mainly composed of a galactan backbone of a (1 → 4) linked β -D-Galp residues probably substituted at position 3 by L-arabinofuranosyl residues. *In vitro* antioxidant activity of this arabinogalactan-rich fraction was detected and quantified by radical DPPH scavenging, hydroxyl radical scavenging, radical anion superoxide scavenging and reducing power method.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Functional components such as dietary fiber, natural colorants, minerals and antioxidants are some of the nutrients required to be included in the daily diet. Several plant species such as cactus could constitute a promising source of these components (Sáenz, 2002). It was well-established that Cactaceae family is used for human diet in various countries, due to their highly nutritive benefits (Sáenz, 2002). More the compounds obtained from the fruits and cladodes of these plants contain a large amount of ingredients, particularly fibres and antioxidants including ascorbic acid, tocopherols, carotenoids, phenolic acids and polysaccharides (Zhong, Jin, Lai, Lin, & Jiang, 2010; Panico et al., 2005). Generally speaking, cactus plant could serve as sources of fruits and vegetables, medicinal and cosmetic, forages and natural colors in arid and semi-arid lands unfavorable for other crops (Yahia, Ornelas, & Anaya, 2009).

However, many of these applications are still very restricted to few species in a limited number of countries, but in the light of the global desertification and declining water sources, these plants are gaining more interests. In the last decade, lots of studies on cactus processing have developed new added value to such crops. Among them, those focusing on cactus mucilage extraction are of interest as these polysaccharides have been described for their role in plant physiology allowing the Cactaceae to retain water (Nobel, Caceres, & Andrade, 1992). Consequently, mucilage was well defined in literature as a complex polysaccharide having a high water absorption capacity which gives a potential source for industrial food hydrocolloids as binders and thickening agents in food (Sáenz, Sepúlveda, & Matsuhira, 2004; Sáenz, 2002). These mucilages from cactus were largely described as arabinogalactan-rich polysaccharides made up of galactose, arabinose, rhamnose and galacturonic acid (Sáenz et al., 2004; Habibi, Mahrouz, Marie-France, & Vignon, 2004). Their extractions and their structural characterizations were investigated in many works (Nobel et al., 1992; Paulsen & Lund, 1979; Matsuhira, Lillo, Sáenz, Urzua, & Zarate, 2006; Habibi et al., 2004; Srivastava & Pande, 1974; Amin, Awad, & El-Sayed, 1970).

Cereus triangularis is an epiphytic cactus of tropical dry zones such as the North region of Madagascar. It consists of a set of

* Corresponding author at: Université Clermont Auvergne, Université Blaise Pascal, Institut Pascal, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France.
Tel.: +33 4 73 40 74 23; fax: +33 4 73 40 78 29.

E-mail address: Cedric.delattre@univ-bpclermont.fr (C. Delattre).

ANNEXE 3 : Participation à des congrès nationaux et internationaux.

1. Delattre C., **Petera B.**, Boual Z., Pierre G., Benaoun F., Chouana T., Gardarin C., Ould El Hadj M., Fenoradosoa T., Michaud P. Ethnobotanical plants of Africa: From traditional use toward bioactive polysaccharides as drugs of tomorrow. 18th European Carbohydrate Symposium, Moscow, Russia, 2-6 August **2015**. **Communication orale.**
2. **Petera B.**, Delattre C., Pierre G., Gardarin C., Fenoradosoa T.A, Michaud P. Production d'oligosaccharides biologiquement actifs par dégradation enzymatique d'arabinogalactane extrait de cladodes de *Cereus triangularis*. 26^{ième} Colloque CBSO. Evian-les- Bains, France, 7-10 Juin **2016**. **Poster.**
3. Delattre C., **Petera B.**, Boual Z., Pierre G., Benaoun F., Chouana T., Gardarin C., Ould El Hadj M., Fenoradosoa T., Michaud P. Ethnobotanique et Afrique: vers la découverte des nouveaux médicaments de demain? 9^{ième} Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée, COFrRoCA. Clermont-Ferrand, France, 29 Juin-01 Juillet **2016**. **Communication orale.**
4. **Petera B.**, Delattre C., Pierre G., Gardarin C., Fenoradosoa T.A., Michaud P. Dégradation enzymatique d'un arabinogalactane extrait de cladodes de *Cereus triangularis*. 9^{ième} Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée, COFrRoCA. Clermont-Ferrand, France, 29 Juin-01 Juillet **2016**. **Poster.**

RESUME

Cereus triangularis est un cactus non endémique de la sous-famille des Cactoïdées très présent dans le nord de Madagascar. Ses cladodes sont utilisées sous la forme de décoctions dans la pharmacopée Malgache. Bien que riche en hydrocolloïdes comme la plupart des cactus appartenant à cette sous famille il n'est pas exploité pour la production de polysaccharide. Notre travail a donc consisté à définir les conditions d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des cladodes de cette plante, à en identifier la structure, à en caractériser les propriétés physico-chimiques et à explorer des voies enzymatiques pour leur dégradation en oligomères et/ou en polymères de faibles masses molaires. Nos travaux ont conduit à l'identification d'un arabinogalactane de type I de haute masse molaire. Ce polysaccharide est constitué d'une chaîne principale de galactane de type β -(1,4)-D-Gal_p substituée en position 3 par des groupements T- α -L-Ara_f-(1, ou des chaînes latérales d'arabinanes. Le comportement rhéologique de ce galactane est typique des polymères rheofluidifiants ayant des propriétés de gel faible. La mise en œuvre de dégradations enzymatique à l'aide d'une galactanase fongique a conduit à l'obtention de fractions de plus faibles masses molaires que celles des polymères natifs qui ont pu être testées avec succès pour leurs propriétés prébiotiques.

Mots clés: Arabinogalactane, Cactus, *Cereus triangularis*, Polysaccharide, Prébiotiques.

ABSTRACT

Cereus triangularis is a non endemic cactus belonging to the sub-family of Cactoideae, well represented in the north of Madagascar. Its cladodes are used in food decoction as a traditional medicine in Madagascar. Even if the hydrocolloid content of this cactus is high as observed with other ones from the same sub-family, it is not exploited for the production of polysaccharides. In this study we have defined an extraction procedure to collect the soluble polysaccharide from the cladodes of this cactus and characterized the structure of it before to investigate its physico-chemical properties and to degrade it into oligosaccharides using enzymes. Structural analyses have revealed that this polysaccharide is a type I arabinogalactan with a high molecular weight. It is mainly composed of a galactan backbone of β -(1,4)-D-Gal_p substituted at position 3 by T- α -L-Ara_f-(1, or arabinan chains. The rheological properties of this galactan are characteristic of a pseudoplastic fluid with a weak gel behavior. Its enzymatic degradation using a fungal galactanase led to the production of oligomers and low molecular weight polysaccharides which have been successfully tested as prebiotics.

Keywords: Arabinogalactan, Cactus, *Cereus triangularis*, Polysaccharide, Prebiotics.