



**HAL**  
open science

# Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) et *Urginea noctiflora* Batt.Trab (Liliaceae)

Fatima Benaoun

## ► To cite this version:

Fatima Benaoun. Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) et *Urginea noctiflora* Batt.Trab (Liliaceae). Santé. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2017. Français. NNT : 2017CLFAC050 . tel-01791341

**HAL Id: tel-01791341**

**<https://theses.hal.science/tel-01791341>**

Submitted on 14 May 2018

**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*

Thèse

Présentée à l'Université Kasdi-Merbah (Ouargla)  
Pour l'obtention du grade de

**DOCTEUR D'UNIVERSITE**  
(Spécialité : Biologie et santé)

Soutenue le 21 novembre 2017

**Fatima BENAOUN**

---

**Caractérisation Structurale et Potentiel Biologique des  
Polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae)  
et *Urginea noctiflora* Batt. et Trab. (Liliaceae)**

---

**Mme FRUITIER-ARNAUDIN Ingrid**, Maitre de Conférences HDR, Université de La Rochelle ([Rapporteur](#)).

**Mme SMAIL-SAADOUN Noria**, Professeur, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou ([Rapporteur](#)).

**Mme MOULTI-MATI Farida**, Professeur, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

**M. MICHAUD Philippe**, Professeur, Université Clermont-Auvergne ([Directeur](#)).

**M. OULD EL HADJ Mohamed Didi**, Professeur, Université Kasdi-Merbah-Ouargla.

**M. PIERRE Guillaume**, Maitre de Conférences, Université Clermont-Auvergne.



## Remerciements

*Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force, le courage, la persistance et m'a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite,*

*Les travaux présentés dans cette thèse en cotutelle ont été menés essentiellement en collaboration entre le laboratoire CNRS, UMR 6602, IP, F-63178 Aubière, France de l'Institut Pascal de l'Université Clermont-Auvergne et le laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides de l'Université Kasdi Merbah de Ouargla,*

*Au terme de ce travail j'adresse mes profonds remerciements aux Professeurs Evelyne Gille et Claude-Gilles Dussap pour m'avoir accueillie dans l'Axe GePeB de l'Institut Pascal de l'Université Clermont-Auvergne,*

*J'exprime toute mes profondes gratitudee à mes directeurs de thèse ; les Professeurs Philippe Michaud et Mohamed Didi Ould El Hadj. Ce travail est le fruit de vos efforts. Je vous remercie vivement pour votre soutien, pour vos conseils et vos disponibilités qui m'ont permis d'atteindre les objectifs visés,*

*Je remercie le Professeur Noria Smail-Saadoun et le Docteur Ingrid Fruitier-Arnaudin qui ont accepté avec bienveillance de juger cette thèse. Vos suggestions et remarques ont été appréciées et me permettront de compléter mes connaissances,*

*Je remercie également le Professeur Farida Moulti-Mati pour son expertise et le temps qu'elle a consacré à la lecture de ce manuscrit.*

*Un grand merci au Docteur Guillaume Pierre pour son encadrement, sa disponibilité, sa grande patience et pour m'avoir transmis ses connaissances dans le domaine de la glycochimie. Qu'il soit également remercié pour son aide précieuse lors de la rédaction de ce manuscrit, des articles scientifiques et pour m'avoir donné l'opportunité de présenter mes travaux lors de congrès internationaux,*

*Je remercie les Docteurs Cédric Delattre et Zakaria Boual pour leur encadrement, encouragements 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 le soutien tout au long de la période mes études.*



# Table des Matières

## REMERCIEMENTS

## TABLE DES MATIERES

## Liste des Figures

## Liste des Tableaux

## Liste des Equations

## Liste des Abréviations

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ETAT DE L'ART.....</b>	<b>4</b>
2.1	GENERALITES SUR LES PLANTES SAHARIENNES.....	4
2.1.1	<i>Plantes médicinales du Sahara et Ethnobotanique.....</i>	5
2.1.1.1	Importance et utilisations.....	6
2.1.1.2	Phytochimie et effets des métabolites végétaux.....	11
2.1.1.3	Facteurs généraux influençant les activités biologiques.....	12
2.1.1.4	Principales familles botaniques.....	13
2.1.1.5	Physiologie et répartition.....	14
2.1.2	<i>Famille des Plantaginaceae.....</i>	15
2.1.2.1	Présentation et physiologie.....	15
2.1.2.2	Genre Plantago.....	16
2.1.3	<i>Famille des Liliaceae.....</i>	21
2.1.3.1	Présentation et physiologie.....	21
2.1.3.2	Genre Urginea.....	22
2.2	GENERALITES SUR LES POLYSACCHARIDES.....	27
2.2.1	<i>Biochimie des polysaccharides.....</i>	28
2.2.1.1	Structure des glucides.....	30
2.2.1.2	Potentiel de la glycomique au 21 <sup>ème</sup> siècle.....	33
2.2.2	<i>Les polysaccharides végétaux.....</i>	34
2.2.2.1	Les celluloses.....	37
2.2.2.2	Les hémicelluloses.....	38
2.2.2.3	Les pectines.....	52
2.3	ACTIVITES DES XYLANES.....	59
2.3.1	<i>Propriétés physico-chimiques.....</i>	61
2.3.2	<i>Propriétés biologiques.....</i>	67

<b>3</b>	<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>79</b>
3.1	MATERIEL BIOLOGIQUE ET CHOIX DES PLANTES .....	79
3.2	PREPARATION DE LA MATIERE PREMIERE .....	80
3.3	EXTRACTION ET PURIFICATION DES POLYSACCHARIDES .....	81
3.4	ANALYSE DE LA COMPOSITION GLOBALE DES POLYSACCHARIDES. ....	85
3.4.1	<i>Dosage des sucres totaux</i> .....	86
3.4.2	<i>Dosage des oses neutres et acides</i> .....	86
3.4.3	<i>Dosage des sucres réducteurs</i> .....	88
3.4.4	<i>Dosage des protéines</i> .....	89
3.4.5	<i>Dosage des composés phénoliques totaux</i> .....	89
3.4.6	<i>Analyses infrarouge (IR-TF)</i> .....	90
3.5	CARACTERISATION STRUCTURALE .....	92
3.5.1	<i>Composition en monosaccharides</i> .....	92
3.5.1.1	Dépolymérisation chimique des polysaccharides .....	92
3.5.1.2	Analyse par chromatographie ionique.....	94
3.5.1.3	Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse .....	96
3.5.2	<i>Analyse des liaisons glycosidiques par CPG/SM</i> .....	99
3.5.2.1	Préparation du réactif NaOH/DMSO.....	100
3.5.2.2	Méthylation du polysaccharide .....	101
3.5.2.3	Formation des acétates d'alditols partiellement méthylés .....	101
3.5.3	<i>Analyse structurale par résonance magnétique nucléaire (RMN)</i> .....	103
3.6	CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES POLYSACCHARIDES .....	104
3.6.1	<i>Détermination des grandeurs macromoléculaires par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de lumière (SEC/MALLS)</i> .....	104
3.6.2	<i>Etude des propriétés rhéologiques</i> .....	106
3.6.2.1	Mesure de la viscosité .....	109
3.6.2.2	Mesure de la viscosité complexe.....	110
3.7	CARACTERISATION DES PROPRIETES BIOLOGIQUES DES POLYSACCHARIDES .....	112
3.7.1	<i>Activité antioxydante</i> .....	112
3.7.2	<i>Activité antidiabétique</i> .....	112
3.7.3	<i>Activité phagocytaire</i> .....	113
3.7.4	<i>Activité prébiotique</i> .....	117
3.7.4.1	Test de digestibilité in vitro des polysaccharides.....	118
3.7.4.2	Test du potentiel prébiotique in vitro des polysaccharides.....	118

<b>4</b>	<b>RESULTATS COMMENTES .....</b>	<b>120</b>
4.1	RENDEMENTS D'EXTRACTIONS ET COMPOSITIONS GLOBALES DES DIFFERENTES FRACTIONS .....	120
4.2	ETUDE STRUCTURALE DU POLYSACCHARIDE HYDROSOLUBLE PSPN EXTRAIT DES GRAINES DE P. NOTATA .....	122
4.2.1	<i>Composition globale de PSPN</i> .....	122
4.2.2	<i>Composition en monosaccharides de PSPN</i> .....	124
4.2.2.1	Distribution des monosaccharides au sein de PSPN .....	124
4.2.2.2	Distribution en monosaccharides de PS1 et PSALK2 .....	127
4.2.3	<i>Etude des liaisons glycosidiques de PSPN</i> .....	129
4.2.3.1	Analyse par CPG/SM-IE .....	129
4.2.3.2	Analyse par RMN .....	132
4.3	ETUDE DES CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES ET RHEOLOGIQUES DE PSPN .....	136
4.3.1	<i>Caractérisation physico-chimique de PSPN en régime dilué</i> .....	137
4.3.2	<i>Caractérisation rhéologique de PSPN en régime semi-dilué</i> .....	142
4.3.2.1	Détermination de la concentration critique de recouvrement C* .....	142
4.3.2.2	Mesure en écoulement .....	143
4.3.2.3	Evaluation de l'effet force ionique sur la viscosité des solutions .....	145
4.3.2.4	Evaluation de l'effet température sur la viscosité des solutions .....	146
4.3.2.5	Comportement viscoélastique de PSPN .....	147
4.4	ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES .....	148
4.4.1	<i>Activité anti-oxydante</i> .....	149
4.4.2	<i>Activité anti-diabétique</i> .....	151
4.4.3	<i>Activité phagocytaire</i> .....	152
4.4.4	<i>Activité prébiotique et résistance à la digestibilité</i> .....	156
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>160</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>162</b>
	<b>RESUME .....</b>	<b>209</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>209</b>





# Liste des Figures

FIGURE 1. LIMITES DU SAHARA SEPTENTRIONAL EN ALGERIE. ----- : CRETES PRINCIPALES DE L'ATLAS SAHARIEN. .... : LA LIMITE SEPTENTRIONAL DE MATURATION DE DATTES. .... : LIMITE MERIDIONALE DE LA NAPPE D'ALFA. X :STATIONS D'ALFA (OZENDA, 1977).....	5
FIGURE 2. SYNTHÈSE DE MÉTABOLITES SECONDAIRES À PARTIR DE L'ACIDE SHIKIMIQUE (GURIB-FAKIM, 2006).....	12
FIGURE 3. RÉPARTITION MONDIALE DU GENRE PLANTAGO ( <a href="http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=PLANTAGO">HTTP://WWW.DISCOVERLIFE.ORG/MP/20M?KIND=PLANTAGO</a> ).....	17
FIGURE 4. EXEMPLES D'ESPÈCES APPARTENANT AU GENRE PLANTAGO, (A) P. MAJOR, (B) P. LANCEOLATA ET (C) P. MEDIA (SOURCE PERSONNELLE). ....	17
FIGURE 5. GRAINE DE P. PSYLLIUM ENTIÈRE ENTOURÉE PAR UNE COUCHE MUCILAGINEUSE APRÈS IMBIBITION DANS L'EAU (SVOBODA ET AL., 2000). ....	18
FIGURE 6. PLANTAGO NOTATA (PLANTAGINACEAE) RECOLTÉE DANS LA RÉGION D'OUED NECHOU DANS LA RÉGION DE GHARDAÏA (BOUAL, 2014). ....	20
FIGURE 7. SCHEMA REPRESENTANT LES DIFFÉRENTES PARTIES DE LA PLANTE PLANTAGO NOTATA (PLANTAGINACEAE). (1) TIGES, (2) FEUILLES, (3) HAMPES FLORALES, (4) EPIS, (5) GRAINES (OZENDA, 1977). ....	20
FIGURE 8. RÉPARTITION MONDIALE DU GENRE URGINEA ( <a href="http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=URGINEA">HTTP://WWW.DISCOVERLIFE.ORG/MP/20M?KIND=URGINEA</a> ). ....	23
FIGURE 9. STRUCTURES CHIMIQUES DES (A) 2,6-DIDESOXYHEXOSES DONT (B) LE D-DIGITOXOSE ; STRUCTURE DE LA (C) DIGOXINE COMMERCIALISÉE COMME GLYCOSIDE CARDIAQUE (SOURCE PERSONNELLE).....	23
FIGURE 10. EXEMPLES D'ESPÈCES APPARTENANT AU GENRE URGINEA, (A) U. SCILLA, (B) U. MARITIMA ET (C) U. INDICA (SOURCE PERSONNELLE). ....	24
FIGURE 11. URGINEA NOCTIFLORA (LILIACEAE) RECOLTÉE DANS LA RÉGION DE TAIBET-OUARGLA (SOURCE PERSONNELLE). ....	26
FIGURE 12. SCHEMA REPRESENTANT LES DIFFÉRENTES PARTIES DE LA PLANTE URGINEA NOCTIFLORA (LILIACEAE). (1) RACINES, (2) BULBE, (3) FEUILLES, (4) FLEURS (OZENDA, 1977). ....	26
FIGURE 13. STRUCTURE DE L'ACIDE SIALIQUE (SOURCE PERSONNELLE). ....	31
FIGURE 14. QUELQUES EXEMPLES D'UNITÉS MONOSACCHARIDES CONSTITUTIVES D'UN CERTAIN NOMBRE DE POLYMERES DU VIVANT (ADAPTÉE DE DENG ET AL., 2015). ....	32
FIGURE 15. SCHEMATISATION DE LA PAROI CELLULAIRE (ADAPTÉE DE MUSCHITZ, 2009). ....	35
FIGURE 16. REPRÉSENTATION SCHEMATIQUE DES INTERACTIONS DES PRINCIPAUX POLYOSIDES CONSTITUANTS LA PAROI D'UNE CELLULE VÉGÉTALE (PÉREZ ET MAZEAU, 2005). LA LAMELLE MOYENNE EST ESSENTIELLEMENT COMPOSÉE DE PECTINES. LA SÉPARATION PAROI CELLULAIRE-LAMELLE MOYENNE SE FAIT GRÂCE À DES COMPOSÉS PECTO-CELLULOSIQUES. LA MATRICE COMPLEXE DE PROTÉINES SOLUBLES, PECTINES, CELLULOSES ET HEMICELLULOSES RENFORCE LA PAROI.....	36

FIGURE 17. (A) STRUCTURE DE LA CELLULOSE ET (B) ORGANISATION DES LIAISONS HYDROGENES INTRA- ET INTERCHAINES (SOURCE PERSONNELLE). DEUX UNITES GLCP SUCCESSIVES SONT DECALEES DE 180° L'UNE PAR RAPPORT A L'AUTRE CE QUI EXPLIQUE LA LINEARITE DE LA MACROMOLECULE, STABILISEE PAR CES LIAISONS HYDROGENES. LE PRINCIPAL TYPE DE LIAISON HYDROGENE INTRACHAINE A LIEU ENTRE LE GROUPE HYDROXYLE DU C-3 D'UNE UNITE GLCP ET L'OXYGENE DU CYCLE DU MONOMERE ADJACENT. ON ASSISTE EGALEMENT A LA CREATION DE LIAISONS HYDROGENES ENTRE L'HYDROGENE (OH) DU GROUPEMENT CH <sub>2</sub> OH DU C-6 D'UNE UNITE GLCP ET L'OXYGENE DU GROUPEMENT OH PORTE PAR LE C-2 DE L'UNITE GLUCOSE ADJACENTE. CONCERNANT LES LIAISONS INTERMOLECULAIRES, ELLES APPARAISSENT ESSENTIELLEMENT ENTRE L'HYDROGENE (OH) DU GROUPE CH <sub>2</sub> OH ET L'OXYGENE DE L'HYDROXYLE EN C-3 D'UNE UNITE GLUCOSE PORTE PAR UNE AUTRE CHAINE. ....	38
FIGURE 18. STRUCTURES PRINCIPALES DES HOMOXYLANES DE TYPE (A) B-(1,3)-D-XYLANE ET (B) B-(1,3, 1,4)-D-XYLANE (EBRINGEROVA ET AL., 2005). ....	39
FIGURE 19. STRUCTURE PRINCIPALE DES 4-O-METHYLGLUCURONOXYLANES (EBRINGEROVA ET AL., 2005). ....	43
FIGURE 20. STRUCTURES PRINCIPALES (A) DES ARABINOGLUCURONOXYLANES (RESINEUX) (ZVIEVLY, 2013), (B) DES ARABINOGLUCURONOXYLANES HYDROSOLUBLES (EBRINGEROVA ET AL., 2005) ET (C) DES GLUCURONOARABINOXYLANES (CANNE DE MAÏS) (DHUGGA, 2006). ....	45
FIGURE 21. STRUCTURES PRINCIPALES D'ARABINOXYLANES (A) MONOSUBSTITUES EN POSITION O-2 (SOURCE PERSONNELLE), (B) MONOSUBSTITUES EN POSITION O-3 (SOURCE PERSONNELLE) ET (C) DISUBSTITUES EN POSITIONS O-2 ET O-3 DES RESIDUS XYLIP PAR DES UNITES A-L-ARAF (EBRINGEROVA ET AL., 2005).....	45
FIGURE 22. STRUCTURE DES (A) GLUCOMANNANES ET (B) GALACTOGLUCOMANNANES (MOUNGUENGUI, 2008 ; DE CHERISEY, 2015).....	47
FIGURE 23. STRUCTURE GENERALE DES GALACTOMANNANES (EBRINGEROVA ET AL., 2005).....	48
FIGURE 24. STRUCTURE DES UNITES DE REPETITION DES XYLOGLUCANES (NISHINARI ET AL., 2009). ....	51
FIGURE 25. STRUCTURE PRINCIPALE DES B-GLUCANES (EBRINGEROVA ET AL., 2005). ....	52
FIGURE 26. ORGANISATION GENERALE DES STRUCTURES PECTIQUES (LECLERE ET AL., 2013). AG : ARABINO GALACTANE, HGA : HOMOGALACTURONANE, RG : RHAMNO GALACTURONANE, XG : XYLOGALACTURONANE. ....	53
FIGURE 27. STRUCTURE PRINCIPALE DES ARABINANES, LIES DE MANIERE COVALENTE A DES COMPLEXES PECTIQUES (SOURCE PERSONNELLE). ....	54
FIGURE 28. EXEMPLES DE STRUCTURES D'ARABINO GALACTANES DE (A) TYPE I (MOHNEN, 2008) ET (B) TYPE II (HAQ ET ADAMS, 1961).....	55
FIGURE 29. STRUCTURE PRINCIPALE DE LA GOMME ARABIQUE D'ACACIA SENEGAL (ADAPTEE DE NIE ET AL., 2013B). R CORRESPOND A L'UN DES RESIDUS SUIVANTS : T-RHAP, T-ARAF, T-ARAP, T-UA, T-ARAF (1→3)-ARAF-(1→, T-UA-(1→4)-UA-(1→. TOUTES LES UNITES GAL ET URONIC ACID (UA) SONT DE FORMES B, D ; LES RESIDUS ARA ET RHA SONT DE FORME A, L. LES UA (= ACIDES URONIQUES AU) SONT SOIT DES UNITES GLCA SOIT GALA. ....	57
FIGURE 30. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA STRUCTURE PRIMAIRE DES PECTINES (PEREZ ET AL., 2003). ....	57
FIGURE 31. (A) REGIMES D'ECOULEMENT CARACTERISTIQUES DE DIFFERENTS POLYMERES EN SOLUTION, (B) REGIME DE CONCENTRATION POUR LES POLYMERES ET (C) DETERMINATION DE C* EN PREMIERE APPROCHE (SOURCE PERSONNELLE).....	64
FIGURE 32. STRUCTURE DU GLUCURONOARABINOXYLANE ISOLE DES GRAINS DE PLANTAGO ASIATICA (YAMADA ET AL., 1986).....	70
FIGURE 33. L'OXYDATION DES XYLANES PAR L'UTILISATION DU SYSTEME PHTALOCYANINE/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (RENAULT ET AL., 2014). ....	75
FIGURE 34. PARTIES UTILISEES DE (A) PLANTAGO NOTATA ET (B) URGINEA NOCTIFLORA (SOURCE PERSONNELLE). ....	80

FIGURE 35. SITUATION GEOGRAPHIQUE DE LA ZONE DE RECOLTE (BRADAI ET AL., 2015).....	81
FIGURE 36. SCHEMA DES DIFFERENTES ETAPES D'EXTRACTION DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES (SOURCE PERSONNELLE). ....	83
FIGURE 37. SCHEMA DES DIFFERENTES ETAPES D'EXTRACTION DES POLYSACCHARIDES ALCALI-SOLUBLES (SOURCE PERSONNELLE). ....	84
FIGURE 38. MECANISME GENERAL DE L'HYDROLYSE ACIDE DES GLYCOSIDES (BEMILLER, 1967). ....	93
FIGURE 39. STABILITE DE LA LIAISON URONOSIDYLE A L'HYDROLYSE ACIDE (TIMEL ET AL., 1963). ....	93
FIGURE 40. SCHEMA D'UNE SOURCE A IONISATION PAR IMPACT ELECTRONIQUE (PETERA, 2016). ....	97
FIGURE 41. MECANISME DE TRIMETHYLSILYLATION DES O-GLYCOSIDES (ADAPTE DE KAMERLING ET AL., 1975). ....	98
FIGURE 42. METHODE DE PREPARATION DES ACETATES D'ALDITOLS PARTIELLEMENT METHYLES (ADAPTE DE GARON-LARDIERE, 2004). .....	100
FIGURE 43. ORDRE DE CLIVAGE PREFERENTIEL DES ACETATES D'ALDITOLS PARTIELLEMENT METHYLES LORS DE L'ANALYSE PAR CPG/SM-IE (GARON-LARDIERE, 2004). ....	100
FIGURE 44. COMPORTEMENTS RHEOLOGIQUES DE LIQUIDES AUX PROPRIETES PHYSIQUES DIFFERENTES (SOURCE PERSONNELLE). ...	107
FIGURE 45. ETATS D'ENCHAINEMENT DES POLYMERES EN FONCTION DE LA CONCENTRATION (SOURCE PERSONNELLE). ....	108
FIGURE 46. SPECTRE IR-TF OBTENU POUR PSPN.....	124
FIGURE 47. CHROMATOGRAMME OBTENU POUR PSPN APRES ANALYSE PAR CPG/SM-IE. ARA : ARABINOSE, XYL : XYLOSE, RHA : RHAMNOSE, GAL : GALACTOSE, GLC : GLUCOSE, GALA : ACIDE GALACTURONIQUE.....	125
FIGURE 48. VOIES DE FRAGMENTATION DE DERIVES O-TRIMETHYLSILYLGLYCOSIDES PAR CGP/SM EN IMPACT ELECTRONIQUE (EI, 70 eV) (SOURCE PERSONNELLE).....	126
FIGURE 49. COMPOSITION EN MONOSACCHARIDES DE LA FRACTION (A) PS1 (HYDRO-SOLUBLE) ET (B) PSALK2 (ALCALI-SOLUBLE) EXTRAITES DES BULBES D'URGINEA NOCTIFLORA. LES PROTOCOLES D'EXTRACTION SONT DECRITS EN FIGURE 36 ET FIGURE 37. .....	128
FIGURE 50. (A) SEPARATION (CHROMATOGRAMME DES IONS TOTAUX) DES AAPM MESURES PAR CPG/SM-IE ET (B) SPECTRES DE MASSE DES PRINCIPAUX FRAGMENTS EN IMPACT ELECTRONIQUE. LES PROFILS D'ELUTION ET DE DETERMINATION DES STRUCTURES ONT ETE DETERMINES D'APRES PENA ET AL. (2012). ....	130
FIGURE 51. SPECTRES (A) $^1\text{H}$ ET (B) $^{13}\text{C}$ D'UNE FRACTION PSPN-PA (PARTIELLEMENT HYDROLYSEE). L'ANALYSE A ETE MENEES A 100 G/L DANS DU $\text{D}_2\text{O}$ A 60 °C. LES RESIDUS A, B, C, D, E ET F CORRESPONDENT RESPECTIVEMENT A B-D-XYLP LIES EN (1,4), B-D- XYLP LIES EN (1,3), B-D-XYLP BRANCHES EN (1,4) ET/OU (1,3), T-B-D-XYLP, T-A-D-GALPA ET A-L-RHAP LIES EN (1,2). ...	133
FIGURE 52. SPECTRE DE CORRELATION HETERONUCLEAIRE (REGION ANOMERIQUE) $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ (HSQC) DE PSPN-PA. L'ANALYSE A ETE MENEES A 100 G/L DANS DU $\text{D}_2\text{O}$ A 60 °C. LES RESIDUS A, B, C, D, E ET F CORRESPONDENT RESPECTIVEMENT A B-D-XYLP LIES EN (1,4), B-D-XYLP LIES EN (1,3), B-D-XYLP BRANCHES EN (1,4) ET/OU (1,3), T-B-D-XYLP, T-A-D-GALPA ET A-L-RHAP LIES EN (1,2).....	136
FIGURE 53. DISTRIBUTIONS DES MASSES MOLAIRES (●) ET DES RAYONS DE GIRATION (▲) VERSUS LE VOLUME D'ELUTION DE PSPN. (—) : SIGNAL DRI, (- - -) : SIGNAL DE DIFFUSION DE LA LUMIERE A 90°, DANS 0,1 MOL/L D'UNE SOLUTION AQUEUSE DE $\text{LiNO}_3$ . .....	138
FIGURE 54. TRIANGLE DE HAUG OU LES TROIS CONFORMATIONS EXTREMES DES POLYSACCHARIDES EN SOLUTION SONT PLACEES AUX SOMMETS DU TRIANGLE. LA CONFORMATION DES POLYMERES SERA FONCTION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DE CES DERNIERS ( $M_w$ , $M_n$ , $R_g$ , $R_h$ , ETC.) (SMIDSRØD ET ANDRESEN, 1979).....	139

FIGURE 55. ZONE DE CONFORMATION DES POLYSACCHARIDES EN SOLUTION (PAVLOV ET AL., 1997 ; PAVLOV ET AL., 1999 ; ADAPTEE PAR EBRINEROVA ET AL., 2005).....	140
FIGURE 56. DISTRIBUTION DES VISCOSITES INTRINSEQUES (■) VERSUS LE VOLUME D'ELUTION DE PSPN. (—) : SIGNAL DRI, (---) : SIGNAL DE DIFFUSION DE LA LUMIERE A 90°, DANS 0,1 MOL/L D'UNE SOLUTION AQUEUSE DE LiNO <sub>3</sub> .....	141
FIGURE 57. REPRESENTATION DES CHAINES DE POLYMERES EN REGIMES DILUE ET SEMI-DILUE (SOURCE PERSONNELLE).....	142
FIGURE 58. DETERMINATION DE LA CONCENTRATION CRITIQUE DE RECOUVREMENT C* D'UNE SOLUTION AQUEUSE DE PSPN A 25°C. ....	143
FIGURE 59. VARIATION DE LA VISCOSITE APPARENTE (PA.S) DE SOLUTIONS DE PSPN DE (0,5 A 2 % (M/V)) EN FONCTION DE TAUX DE CISAILLEMENT (S <sup>-1</sup> ) A 25°C. (◆), (□), (●), (■) ET (Δ) CORRESPONDENT RESPECTIVEMENT A 2 %, 1,5 %, 1 %, 0,75 % ET 0,5 % (M/V) DE PSPN EN SOLUTION DANS L'EAU. ....	144
FIGURE 60. EFFET DE LA FORCE IONIQUE SUR LA VISCOSITE APPARENTE DE SOLUTIONS DE PSPN A 25°C. (○) ET (□) CORRESPONDENT A DES CONCENTRATIONS DE PSPN EN SOLUTION AQUEUSE DE 2 % ET 1 % (M/V) ; (●) ET (■) CORRESPONDENT A DES CONCENTRATIONS DE PSPN EN SOLUTION SALINE (0,5 M NaCl) DE 2 ET 1 %.....	145
FIGURE 61. EFFET DE LA TEMPERATURE SUR LA VISCOSITE APPARENTE DE SOLUTIONS DE PSPN. (□), (■), (■) ET (○), (⊕), (●) CORRESPONDENT RESPECTIVEMENT A DES CONCENTRATIONS DE PSPN EN SOLUTION AQUEUSE DE 2 % (CARRE) ET 1 % (ROND) A DES TEMPERATURES DE 20, 40 ET 60°C. ....	146
FIGURE 62. REPRESENTATION DES MODULES COMPLEXES G' ET G'' (PA.S) EN FONCTION DE LA DEFORMATION (%) DES SOLUTIONS AQUEUSES DE POLYSACCHARIDE A 1 % ET 2 % (M/V). (A) DANS L'EAU ET (B) DANS DU NaCl 0,5 M. ....	148
FIGURE 63. ACTIVITES ANTI-RADICALAIRES (RADICAL DPPH) DES DIFFERENTS EXTRAITS (A) DE PLANTAGO NOTATA L. ET (B) D'URGINEA NOCTIFLORA BATT. ET TRAB. L'ACIDE ASCORBIQUE SERT DE REFERENCE. LA DESCRIPTION DES FRACTIONS EST DONNEE EN TABLEAU 11 : PSPN (GRAINES), PSF (FEUILLES), PSP (EPIS), PS1 (BULBES), PSR (RACINES), PSUF (FEUILLES). REALISEES EN TRIPLICATS (ECARTS-TYPES < 3 %).....	150
FIGURE 64. ACTIVITES ANTI-DIABETIQUES DES EXTRAITS DES BULBES D'U. NOCTIFLORA BATT ET TRAB. (PS1, PSALK2), DES GRAINES DE P. NOTATA LAGASCA (PSPN) ET DE L'ACARBOSE (TEMOIN POSITIF). REALISEES EN TRIPLICATS (ECARTS-TYPES < 3 %). ...	151
FIGURE 65. OBSERVATION MICROSCOPIQUE DE LA PHAGOCYTOSE DES CANDIDA ALBICANS EN PRESENCE DE PS1 (x 1000). ....	153
FIGURE 66. (A) CAPACITE PHAGOCYTAIRE ET (B) ACTIVITE PHAGOCYTAIRE DES DIFFERENTES FRACTIONS TESTEES A 50 μG/ML. LE ZYMOSAN EST UTILISE COMME CONTROLE POSITIF. ....	154
FIGURE 67. EFFETS DOSES-REPONSE DE L'EXTRAIT PSPN POUR (A) SA CAPACITE DE PHAGOCYTOSE ET (B) SON ACTIVITE PHAGOCYTAIRE. LE ZYMOSAN EST UTILISE COMME TEMOIN POSITIF. (B) REALISEE EN TRIPLICATS (ECARTS-TYPES < 5 %).....	155
FIGURE 68. ETUDE DE LA DIGESTIBILITE A 37 °C (A) DE L'INULINE, (B) DES FOS ET (C) DE PSPN. (■), (◇), (▲), (○) ET (●) CORRESPONDENT RESPECTIVEMENT A DES pH DE 1 A 5. REALISEE EN TRIPLICATS (ECARTS-TYPES < 5 %). ....	157
FIGURE 69. COURBES DE CROISSANCE DE LACTOBACILLUS RHAMNOSUS SUR MILIEU MRS SUPPLEMENTE OU NON PAR DE LA VITAMINE C (0,05 % M/V), DU GLUCOSE (0,5 % M/V), DES FOS (0,5 % M/V), DE L'INULINE (0,5 % M/V) ET DU PSPN DE PLANTAGO NOTATA (0,5 % M/V). REALISEES EN QUADRUPPLICATS (ECARTS-TYPES < 3 %).....	158

## Liste des Tableaux

TABLEAU 1. ACTIVITES BIOLOGIQUES DE DIFFERENTS PRINCIPES ACTIFS ISSUS DE PLANTES SAHARIENNES (SOURCE PERSONNELLE). .....	8
TABLEAU 2. EFFETS PHARMACOLOGIQUES ET COMPOSITION DE PLUSIEURS EXTRAITS ISSUS DE QUELQUES ESPECES DU GENRE PLANTAGO APPARTENANT A LA FLORE ALGERIENNE (SOURCE PERSONNELLE).....	19
TABLEAU 3. EFFETS PHARMACOLOGIQUES ET COMPOSITION DE PLUSIEURS EXTRAITS ISSUS DE QUELQUES ESPECES DU GENRE URGINEA TROUVEES DANS LE SAHARA ALGERIEN (SOURCE PERSONNELLE).....	25
TABLEAU 4. EXEMPLES DE GRANDES FAMILLES DE POLYSACCHARIDES ET STRUCTURES ASSOCIEES. ....	29
TABLEAU 5. ORIGINE ET DIVERSITE STRUCTURALE DES XYLANES DANS LA LITTERATURE (SOURCE PERSONNELLE).....	40
TABLEAU 6. EXEMPLES DE CHAINES OLIGOSACCHARIDIQUES DECORANT DES HETEROXYLANES (SOURCE PERSONNELLE).....	46
TABLEAU 7. EXEMPLES DE SOURCES DE GALACTOMANNANES EXTRAITS DE GRAINES (SOURCE PERSONNELLE). ....	49
TABLEAU 8. EXEMPLES DE CARACTERISTIQUES MOLECULAIRES REPORTES POUR DIFFERENTS TYPES DE XYLANES (SOURCE PERSONNELLE). ....	63
TABLEAU 9. EXEMPLES DE COMPORTEMENT VISCOSANT REPORTES POUR DIFFERENTS TYPES DE XYLANES (SOURCE PERSONNELLE).....	66
TABLEAU 10. EXEMPLES D'ACTIVITES BIOLOGIQUES REPORTES POUR DIFFERENTS TYPES DE XYLANES. ....	68
TABLEAU 11. DENOMINATIONS ET CONDITIONS D'OBTENTION DES DIFFERENTES FRACTIONS EXTRAITES (SOURCE PERSONNELLE). ....	85
TABLEAU 12. SEUILS MINIMAUX DES DIFFERENTES METHODES COLORIMETRIQUES UTILISEES AU COURS DE L'ETUDE (SOURCE PERSONNELLE). ....	85
TABLEAU 13. ATTRIBUTION DES BANDES IR POUR L'ETUDE DE DIFFERENTS XYLANES EN IR-TF ET RAMAN-TF (KACURAKOVA ET AL., 1999).....	91
TABLEAU 14. EFFET DES CONDITIONS D'HYDROLYSE SUR L'ANALYSE DES DIFFERENTS TYPES DE MONOSACCHARIDES (ADAPTE DE DELATTRE ET AL., 2016). ....	94
TABLEAU 15. RENDEMENTS D'EXTRACTIONS ET COMPOSITIONS GLOBALES DES FRACTIONS POLYSACCHARIDIQUES ALCALI- ET HYDROSOLUBLES ISOLEES A PARTIR DES DIFFERENTES PARTIES DE P. NOTATA ET U. NOCTIFLORA. ....	121
TABLEAU 16. COMPOSITION GLOBALE DU POLYSACCHARIDE PSPN EXTRAIT DES GRAINES DE P. NOTATA.....	123
TABLEAU 17. COMPOSITION EN MONOSACCHARIDES (% MOLAIRES) DE PSPN APRES ANALYSES PAR CPG/SM-IE. ....	127
TABLEAU 18. PROFIL DES ACETATES D'ALDITOL PARTIELLEMENT O-METHYLES (AAPM) ET DETERMINATION DES LIAISONS GLYCOSIDIQUES, OBTENUS APRES ANALYSE DE METHYLATION DE PSPN. ....	131
TABLEAU 19. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE PSPN.....	138



## Liste des Equations

ÉQUATION 1.	$C^* = 1 A 4[\eta]$ .....	65
ÉQUATION 2.	$OA = DOm - HDP\beta'$ .....	88
ÉQUATION 3.	$ON = [DOrEsorcinol - (\beta(DOm - DPH\beta')) \alpha]$ .....	88
ÉQUATION 4.	$KC\Delta R0 = 1MW + 16\pi^2 n02 3\lambda02 xR023 MWxSin2 \theta2 + 2A2C + 3A3 C2 + \dots$ .....	105
ÉQUATION 5.	$\tau = FS = \eta d v dz = \eta \gamma$ .....	106
ÉQUATION 6.	$\eta = \tau \gamma$ .....	106
ÉQUATIONS 7.	$\eta = \lim \eta_{red} = \lim C \rightarrow 0 \eta - \eta_0 C \eta_0$ .....	108
ÉQUATION 8.	$\eta_{sp} C = \eta + k' \eta^2 C + \dots$ .....	109
ÉQUATIONS 9.	$\eta = \eta_01 + (K\gamma)n$ .....	109
ÉQUATIONS 10.	$\gamma^* = \gamma_0 e(i\omega)$ .....	110
ÉQUATIONS 11.	$G^* = \gamma^* \sigma^* = G' + iG'' = \sigma_0 \gamma_0 \cos \delta + i \sin \delta$ .....	111
ÉQUATION 12.	$Inhibition\ de\ DPPH\ \% = (1 - A_{Echantillon} - A_0\ At\ Emoin) \times 100$ .....	112
ÉQUATION 13.	$\% \text{Capacit}\ e\ de\ phagocytose = \text{Nombre\ de\ cellules\ inger}\ ees\ \text{Nombre\ total} \times 100$ .....	115
ÉQUATION 14.	$Activit}\ e\ phagocytaire = CP_{test} - CP_{blanc}$ .....	115
ÉQUATION 15.	$\% \text{d'hydrolyse} =$ $(\text{Sucres\ r}\ e\ ducteurs\ lib}\ e\ res)\ \text{Sucre\ s\ totaux} - (\text{Sucres\ r}\ e\ ducteurs\ initiaux) \times 100$ .....	118
ÉQUATION 16.	$\eta_{red} = \eta_{sp} C_p = \eta + k_H \eta^2 C + \dots$ .....	140





## Liste des Abréviations

<b>A<sub>2</sub></b>	: Second coefficient du viriel
<b>AAPM</b>	: Acétates alditols partiellement méthylés
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>AG</b>	: Arabinogalactanes
<b>AG-I</b>	: Arabinogalactanes type 1
<b>AG-II</b>	: Arabinogalactanes type 2
<b>AGP</b>	: Arabinogalactane-protéines
<b>AGX</b>	: Arabinoglucuronoxylanes
<b>AP</b>	: Activité phagocytaire
<b>Ara</b>	: Arabinose
<b>Ara/Xyl</b>	: Rapport arabinose/xylose
<b>ATR</b>	: Réflexion totale atténuée
<b>AX</b>	: Arabinoxylanes
<b>AXOS</b>	: Arabinoxyl-oligosaccharides
<b>BSTFA</b>	: Bis-(triméthysilyl)-trifluoroacétamide
<b>C</b>	: Concentration de polymère
<b>C*</b>	: Concentration critique de recouvrement
<b>C**</b>	: Concentrations critiques d'enchevêtrement
<b>CAM</b>	: Crassulacean Acid Metabolism
<b>CEAHP</b>	: Chromatographie échangeuse d'anions haute performance
<b>CG/SM</b>	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse
<b>CGZC</b>	: Complexe chito-oligomère-zinc
<b>CHX</b>	: Hétéroxylanes
<b>Cm</b>	: Centimètre
<b>CP</b>	: Capacité de phagocytose
<b>CPG/SM</b>	: Chromatographie phase gaz couplée à la spectrométrie de masse
<b>csb</b>	: Conformationally sensitive band
<b>CTPB1</b>	: <i>Cudrania tricuspidata</i> Polysaccharide 1
<b>D</b>	: Destructif
<b>DAP</b>	: Détecteur ampérométrique pulsé
<b>DM</b>	: Degré de méthylation
<b>DMSO</b>	: Diméthylsulfoxyde
<b>dn/dc</b>	: Incrément d'indice de réfraction

<b>DO</b>	: Densité optique
<b>Dp</b>	: Degré de polymérisation
<b>DPPH</b>	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
<b>DQF</b>	: Double quantum filtré
<b>DRI</b>	: Signal de diffusion de la lumière
<b>dv</b>	: Différence de vitesse entre les deux couches
<b>dz</b>	: Distance séparant les deux couches de fluides contiguës
<b>Egg-box</b>	: Disposition en boîte d'œuf
<b>ERO</b>	: Espèces réactifs de l'oxygène
<b>F</b>	: Force de frottement visqueux
<b>FOS</b>	: Fructo-oligosaccharides
<b>Fuc</b>	: Fucose
<b>g</b>	: Gramme
<b>G'</b>	: Module de viscosité
<b>G''</b>	: Module d'élasticité
<b>Gal</b>	: Galactose
<b>GalA</b>	: Acide galacturonique
<b>GaM</b>	: Galactomannanes
<b>GAX</b>	: Glucuronoarabinoxylanes
<b>GGM</b>	: Galactoglucomannanes
<b>Glc</b>	: Glucose
<b>GlcA</b>	: Acide glucuronique
<b>GM</b>	: Glucomannanes
<b>GOS</b>	: Galacto-oligosaccharides
<b>GX</b>	: Glucuronoxylanes
<b>HBSS</b>	: Hanks Balanced Salt Solution
<b>HGA</b>	: Homogalacturonane
<b>HPSEC</b>	: Chromatographie d'exclusion stérique
<b>HSQC</b>	: Cohérence hétéro-nucléaire quantique-unique
<b>IC 50</b>	: Concentration inhibitrice de 50%
<b>IE</b>	: Impact électronique
<b>IgG</b>	: Immunoglobulines G
<b>IgM</b>	: Immunoglobulines M
<b>INU</b>	: Inuline
<b>Ip</b>	: Indice de polydispersité
<b>IR</b>	: Rayon infrarouge

<b>IR-TF</b>	: Infrarouge à transformée de Fourier
<b>I<math>\alpha</math></b>	: Allomorphe $\alpha$
<b>I<math>\beta</math></b>	: Allomorphe $\alpha$
<b>k</b>	: Constante de temps
<b>kDa</b>	: Kilo dalton
<b>M</b>	: Molaire
<b>M/G</b>	: Rapport mannose/galactose
<b>m/m</b>	: Masse-Masse
<b>m/v</b>	: Masse/volume
<b>M/z</b>	: Masse-Charge
<b>Man</b>	: Mannose
<b>mg</b>	: Milligramme
<b>MGX</b>	: Méthylglucuronoxylanes
<b>m-HDP</b>	: Méta-hydroxydiphényl
<b>mL</b>	: Millilitre
<b>mM</b>	: Millimolaire
<b>mm</b>	: Millimètre
<b>Mn</b>	: Masse molaire en nombre
<b>MRS</b>	: Man Rogosa Sharpe
<b>Mw</b>	: Masse molaire en poids
<b>n</b>	: Indice de fluidité
<b>N</b>	: Non quantitatif
<b>n<sub>0</sub></b>	: Indice de réfraction du solvant
<b>Na</b>	: Nombre d'Avogadro
<b>NK</b>	: Natural killer
<b>nm</b>	: Nanomètre
<b>OA</b>	: Oses acides
<b>OMS</b>	: Organisation mondiale de la santé
<b>ON</b>	: Oxyde nitrique
<b>oop</b>	: Out of plane
<b>OT</b>	: Oses totaux
<b>P</b>	: Partiel
<b>PBS</b>	: Phosphate Salin Buffer
<b>PEP</b>	: Phosphoénol-pyruvate carboxylase
<b>pH</b>	: Potentiel hydronium
<b>p-NP</b>	: Nitrophénol

<b>ppm</b>	: Partie par million
<b>PS1</b>	: Polysaccharide hydro-soluble extrait des bulbes d' <i>Urginea noctiflora</i>
<b>PSALK</b>	: Polysaccharide alcali-soluble extrait des bulbes d' <i>Urginea noctiflora</i>
<b>PSF</b>	: Polysaccharide hydro-soluble des feuilles de <i>Plantago notata</i>
<b>PSP</b>	: Polysaccharide hydro-soluble des épis de <i>Plantago notata</i>
<b>PSPN</b>	: Polysaccharide hydro-soluble des graines de <i>Plantago notata</i>
<b>PSR</b>	: Polysaccharide hydro-soluble des racines d' <i>Urginea noctiflora</i>
<b>PSUF</b>	: Polysaccharide hydro-soluble des feuilles d' <i>Urginea noctiflora</i>
<b>Q</b>	: Quantitatif
<b>RF</b>	: Radiation de radiofréquence
<b>RG</b>	: Rhamnogalacturonanes
<b>Rg</b>	: Rayon de giration
<b>RG-I</b>	: Rhamnogalacturonanes type 1
<b>RG-II</b>	: Rhamnogalacturonanes type 2
<b>R<sub>h</sub></b>	: Rayon hydrodynamique
<b>Rha</b>	: Rhamnose
<b>Rib</b>	: Ribose
<b>RMN</b>	: Résonance magnétique et nucléaire
<b>Rpm</b>	: Rotation par minute
<b>S</b>	: Surface en contact avec le fluide (m <sup>2</sup> )
<b>SEC/MALLS</b>	: Chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de lumière
<b>T</b>	: Terminale
<b>TFA</b>	: Acide trifluoroacétique
<b>TMCS</b>	: Triméthylchlorosilane
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Facteur de nécrose tumorale
<b>TSX</b>	: Graines de tamarin
<b>UA</b>	: Uronic acid (= acide uronique)
<b>UV</b>	: Ultra-violet
<b>v/v</b>	: Volume/volume
<b>XCGZC</b>	: Chito-oligomère-xylane zinc
<b>XG</b>	: Xyloglucanes
<b>XOS</b>	: Xylo-oligosaccharides
<b>Xyl</b>	: Xylose
<b><math>\gamma</math></b>	: Déformation
<b><math>\gamma_0</math></b>	: Amplitude de la déformation
<b><math>\delta</math></b>	: Déphasage ou angle de perte

$\Delta R_0$	: Rapport de Rayleigh
$\eta$	: Viscosité dynamique
$\eta_r$	: Viscosité relative
$\eta_{red}$	: Viscosité réduite
$\eta_{spe}$	: Viscosité spécifique
$\Theta$	: Angle d'observation par rapport à la lumière incidente
$\lambda$	: Longueur d'onde
$\lambda_0$	: Longueur d'onde du faisceau incident
$\sigma$	: Contrainte
$\sigma_0$	: Amplitude de la contrainte
$\nu$	: Vibration
$\omega$	: Fréquence
$\tau$	: Contrainte de cisaillement
$\$$	: Dollart
$\overline{MW}$	: Masse molaire moyenne en poids du polymère
$\dot{\gamma}$	: Taux de cisaillement " shear rate "
$[\eta]$	: Viscosité intrinsèque
$^{\circ}C$	: Degré Celsius
$\mu L$	: Microlitre
$\mu m$	: Micromètre

# 1 Introduction

Le Sahara (الصحراء الكبرى *al-Ṣaḥrā' al-Kubrā*) est le plus vaste désert chaud et aride de la planète avec une surface de 8,5 millions de km<sup>2</sup>. Il est localisé sur toute la partie nord du continent africain et s'étend sur plus de 5000 km d'ouest en est. Son climat, caractérisé par des précipitations très faibles et des températures extrêmes, est à l'origine de l'émergence d'une flore et d'une faune spécifiques et parfois endémiques à cet environnement. Comme c'est souvent le cas, cette adaptation des organismes à un environnement singulier s'est accompagnée de l'apparition de nouvelles fonctions biologiques et de métabolites spécifiques. Loin d'être dénué de vie végétale et malgré son aspect très minéral, le Sahara n'échappe pas à cette règle et la caractérisation de sa flore a déjà permis d'identifier de nombreuses espèces décrites nulle part ailleurs. L'inventaire de cette biodiversité fragile est en partie motivé par la recherche de nouveaux principes actifs qui peuvent, à terme, devenir un des leviers permettant la préservation des espèces de cet environnement. En effet, de nombreuses plantes Sahariennes sont utilisées par les populations locales en médecine traditionnelle pour leurs propriétés thérapeutiques. Le changement de style de vie de ces populations et l'utilisation de pratiques thérapeutiques modernes est à l'origine de la disparition progressive de ces usages et d'une partie des connaissances ethnobotaniques accumulées au cours des siècles. Leur recensement et l'identification des composés végétaux à l'origine de ces pratiques est donc d'un intérêt de premier ordre en vue de la préservation de cette flore et de son éventuelle exploitation. Appliquer aux polysaccharides, ce constat est particulièrement vérifié dans le contexte des plantes issus d'environnements désertiques. En effet, les plantes se développant dans les climats chauds et arides doivent faire face à des périodes de dormance parfois très longues et lutter contre le manque d'eau. Cette adaptation, fruit de l'évolution, a doté ces plantes d'un certain nombre de particularités physiologiques leur permettant de limiter les déperditions d'eau et d'accumuler les substances de réserve. Les polysaccharides jouent un rôle de premier plan dans cette adaptation. Ces polymères de très grande taille pouvant inclure dans leur structure plusieurs monosaccharides différents (pentoses et hexoses) liés par des liaisons *O*-glycosidiques sont pour la plupart hydrophiles du fait de leurs nombreuses fonctions hydroxyle.

Cette forte affinité pour l'eau leur confère le statut d'hydrocolloïdes aux propriétés épaississantes, gélifiantes ou stabilisantes et est largement exploitée en industrie dans des secteurs très divers allant de l'industrie agro-alimentaire à la peinture en passant par le traitement des eaux usées ou la production d'encres et de peintures. Les rôles physiologiques de ces polysaccharides sont le maintien de la structure des tissus végétaux (cellulose, hémicellulose ou pectines par exemple) ou le stockage de substrats carbonés (amidon ou galactomannane). Ces deux fonctions biologiques ont longtemps été les seules attribuées aux polysaccharides. Cependant il est désormais acquis que ces biopolymères peuvent également être porteurs d'activités biologiques et être fortement impliqués dans certaines voies de signalisation cellulaire. L'inventaire des structures existantes est encore très incomplet et son exploration est souvent associée à l'identification de nouveaux polysaccharides porteurs d'activités biologiques et donc à la compréhension de relations structures-fonctions, permettant ainsi d'expliquer les usages de certaines plantes en médecine traditionnelle. Dans ce contexte, le Ministère des Affaires Etrangères et du Développement International (MAEDI) et le Ministère de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Français en partenariat avec le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Algérien ont financé une étude dans le cadre d'un programme Hubert Curien Tassili d'une durée de trois ans visant à rechercher la présence de polysaccharides valorisables chez plusieurs plantes terrestres collectées dans le Sahara Septentrional Est Algérien. Ce programme s'intitule : « Etude physico-chimique et biochimique des polysaccharides extraits d'une sélection de plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans le Sahara Septentrional Est Algérien ». Dans ce projet (PHC Tassili 15MDU933, Campus France 33195UK), une partie du travail a été organisée sous la forme d'une thèse en cotutelle entre le Laboratoire de protection des écosystèmes en zone arides et semi arides (ECOSYS) de l'Université Kasdi Merbah (Ouargla, Algérie) et l'Institut Pascal (UMR CNRS 6602) de l'Université Clermont Auvergne (Clermont-Ferrand, France). Il a consisté à détecter, extraire, purifier et caractériser les polysaccharides présents dans les tissus de deux plantes Sahariennes : *Plantago notata* Lagasca (*Plantaginaceae*) et *Urginea noctiflora* Batt. et Trab. (*Liliaceae*). L'objectif initial était double. Il s'agissait, d'une part, à explorer le potentiel de ces plantes comme source de polysaccharides de structure originale et, d'autre part, à corrélérer ces structures à des activités biologiques et des propriétés techno-fonctionnelles potentiellement valorisables.



Le choix de ces deux plantes comme objet d'étude ne s'est pas fait au hasard et a été motivé par une étude ethnobotanique préalablement réalisée par le Laboratoire ECOSYS dans la région de Ghardaïa. Le manuscrit, fruit de trois ans de thèse adossés au projet Tassili, 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 faisant l'objet de cette étude. La structure et la compartimentation des polysaccharides végétaux pariétaux et plus particulièrement celle des xylanes a ensuite été traitée. Les différentes propriétés biologiques et physico-chimiques de ces macromolécules ont enfin été détaillées.

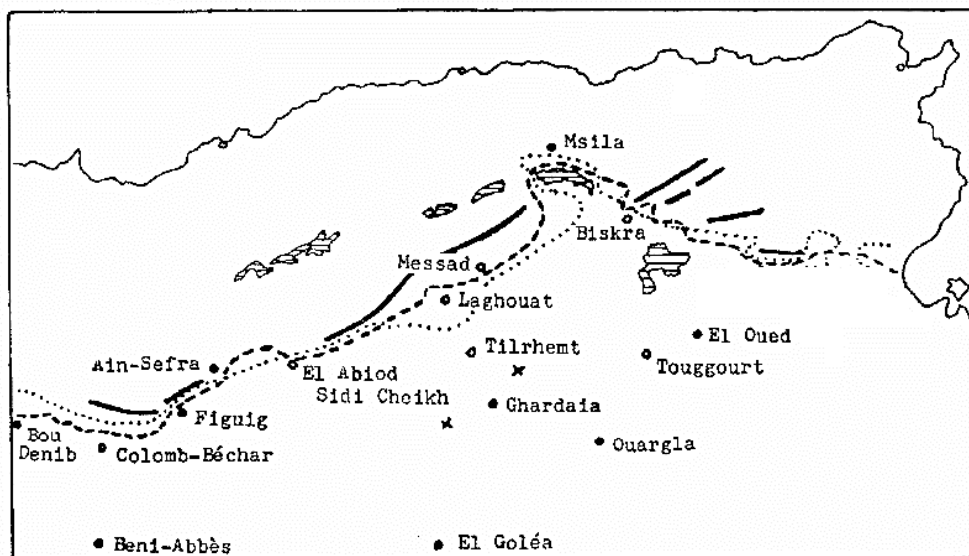
Une seconde partie intitulée matériel et méthodes décrit les principales techniques utilisées dans cette étude.

Enfin, un troisième chapitre intitulé, résultats commentés, présente et discute les résultats obtenus pour les deux extraits de plantes selon la même méthodologie de travail. Dans un premier temps, cette méthodologie a consisté à mettre au point des protocoles d'extraction des polysaccharides, à caractériser leurs structures puis à établir leurs propriétés physico-chimiques et leurs propriétés biologiques.

## 2 Etat de l'art

### 2.1 Généralités sur les plantes sahariennes

La répartition des végétaux à la surface du globe est conditionnée par trois facteurs principaux, à savoir (i) l'eau, (ii) la température et (iii) la lumière. Lorsque ces trois conditions sont suffisamment bien remplies, le tapis végétal atteint son plein développement (Ozenda, 1977). Le terme « désert » est réservé aux régions où le facteur limitant est l'eau ce qui conduit à des sécheresses extrêmes (Ozenda, 1983). Les biogéographes ont divisé le Sahara en six unités fondamentales ; le Sahara Septentrional, le Sahara Méridional, le Sahara Central, les Montagnes Sahariennes, le Sahara Occidental et le Sahara Atlantique (Le Houerou, 1990) (*Figure 1*). Le Sahara Septentrional Algérien est soumis à une forme extrême du climat méditerranéen. Il appartient au plus grand désert chaud du monde, le Sahara, qui représente 10 % de la surface du continent africain. Il est caractérisé par son extrême aridité. Le tapis végétal est discontinu et très irrégulier. Les plantes utilisent surtout les emplacements où le ravitaillement en eau est le moins défavorable (Ozenda, 1977 ; Le Houerou, 1995). La végétation y est très clairsemée, les arbres sont aussi rares que dispersés et les herbes n'y apparaissent que pendant une période très brève de l'année quand les conditions deviennent favorables (Chopra et al., 1960). Selon le mode d'adaptation à la sécheresse, la flore saharienne peut être divisée en deux catégories de plantes. Les premières, qualifiées de plantes éphémères, ou encore « achebs », n'apparaissent qu'après la période des pluies et effectuent tout leur cycle végétatif en un à quatre mois avant que le sol ne soit desséché. Les secondes sont les plantes permanentes ou vivaces qui peuvent faire preuve d'une vie ralentie durant de longues périodes et sont dotées de mécanismes d'adsorption racinaire et de rétention d'eau performants (Le Houerou, 1995 ; Ould El Hadj et al., 2003 ; Chehma et Djebbar, 2008). Les principales familles botaniques auxquelles appartiennent la plupart des plantes médicinales des régions arides sont les Amaryllidacées, les Asclépiadacées, les Cactacées, les Capparidacées, les Chenopodiacées, les Composées, les Cucurbitacées, les Labiées, les Légumineuses, les Liliacées, les Ombellifères et les Solanacées (Chopra et al., 1960). Le Sahara Septentrional Algérien se caractérise par la dominance des espèces Saharo-arabiques xérophiiles (organismes extrémophiles vivant dans des milieux très pauvres en eau) (Quezel 1983 ; Maiza et al., 1993 ; Hammiche et Maiza, 2006). L'étude et la caractérisation des zones arides ont, entre autres, pour but de déterminer le potentiel de la végétation naturelle ainsi que les possibilités d'y introduire des cultures utiles pour l'homme.



**Figure 1.** Limites du Sahara Septentrional en Algérie. ---- : Crêtes principales de l'Atlas Saharien. ..... : la limite Septentrional de maturation de dattes. - . - . : Limite méridionale de la nappe d'Alfa. x : Stations d'Alfa (Ozenda, 1977).

### 2.1.1 Plantes médicinales du Sahara et Ethnobotanique

Les ressources végétales spontanées du Sahara constituent une flore riche en espèces de plantes supérieures dont une partie est utilisée par les populations locales comme plantes médicinales (Ozenda, 1983). Ces plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, constituent une source potentielle de nouveaux principes actifs d'origine naturelle, au regard des usages dans la médecine populaire (Bourmita et al., 2013 ; Fakchich et Elachouri, 2014). L'Algérie est un exemple typique de pays méditerranéen ayant une longue tradition médicale basée sur l'utilisation de plantes médicinales (Boughrara et Belgacem, 2016). L'Algérie est caractérisée par une flore riche en plantes médicinales et aromatiques, en raison de sa diversité climatique et topographique et est considérée comme l'un des pays arabes les plus riches en matière de diversité végétale avec 3164 espèces de plantes vasculaires (Benarba et al., 2015). Au Sahara, l'intérêt porté à la médecine traditionnelle s'explique tout d'abord par le fait qu'elle est une partie intégrante de la culture des populations qui y recourent. Il s'explique également par le fait que la richesse et la diversité de la flore du Sahara constitue une source potentielle de principes actifs et constituent un atout pour la recherche scientifique (Ghourri et al., 2012).

Le monde prend de plus en plus conscience du potentiel médical des ressources naturelles qui fournissent des matières premières nécessaires à la fabrication des médicaments à base de plantes et des produits cosmétiques naturels. Malgré ces divers usages, les plantes médicinales du Sahara Algérien sont très peu exploitées malgré leurs potentialités, leur rôle dans la médecine traditionnelle et la préservation de la biodiversité (Cheriti et al., 2005). Les informations phyto-chimiques disponibles sur les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle du Sahara Septentrional Est algérien concernent des propriétés anti-oxydantes (Ge et al., 2009 ; Liang et al., 2011 ; Liu et al., 2017), prébiotiques (He et al., 2016 ; Mueller et al., 2017), anti-diabétiques (Tong et al., 2008 ; Zou et al., 2010 ; Guo et al., 2017) et immunomodulatrices (Wu et al., 2016 ; Bo et al., 2017 ; Sun et al., 2017).

#### *2.1.1.1 Importance et utilisations*

Au fil des siècles, les humains ont utilisé les plantes pour la nourriture et pour leurs propriétés pharmacologiques (Li et Xing, 2016 ; Tandon et Yadav, 2017 ; Muddathir et al., 2017 ; Petroni et al., 2017). Ces plantes contiennent une variété de métabolites secondaires susceptibles d'être des agents biologiques (Wink, 2007 ; Monzote, 2010 ; Zárate et al., 2008 ; Aidi Wannes et Marzouk, 2016 ; Sadat-Hosseini et al., 2017). Différentes méthodes d'utilisation des plantes médicinales ont été décrites, tels que la macération, l'infusion, les tisanes, les poudres et les compresses (Sofowora, 2010 ; Ziani et al., 2015). L'ethnobotanique est l'étude des relations entre l'être humain et les plantes (Martinez, 2009 ; Ur Rhaman et al., 2016 ; Upasani et al., 2017). Elle a permis, par exemple, l'identification de plusieurs composés actifs grâce à l'inventaire de plus de 46 espèces du Cameroun (Telefo et al., 2011) ou 106 espèces Algériennes (Ouelbani et al., 2016) dans le cadre d'investigations ethnobotaniques, renforçant l'importance de la pharmacovigilance appliquée aux herbes médicinales. Comprendre les « connaissances de nos ancêtres et l'apprentissage de la nature » devrait être le paradigme pour les années à venir (Verpoort, 2017). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80 % de la population des pays en voie de développement se soignent avec les plantes médicinales (Moshi et Mhame, 2013 ; Yaya et Kengne, 2014 ; Picking, 2017). Parmi les 252 médicaments essentiels pour les soins de santé de base, 11% sont d'origine végétale (Hajjaj et Bahlouli, 2016). Sur les 422000 plantes à fleurs signalées dans le monde, environ 50000 ont été utilisées comme plantes médicinales. Parmi elles, seules 5000 ont été testées phyto-chimiquement afin d'identifier des composés actifs qualifiés de principes actifs (Wagner et Wolff, 2012 ; Bibi et al., 2014).

L'utilisation d'extraits bruts et de principes actifs isolés à partir de plantes médicinales est considéré par de nombreux auteurs comme plus acceptable et soutenable (Mediani et al., 2016 ; Barkaoui et al., 2017). Cette considération s'explique en partie par les faibles coûts de production, la disponibilité, l'accessibilité et la faible toxicité des végétaux (Yehya et al., 2016 ; Eddouks et al., 2017). La présence de principes actifs dans les plantes dépend de facteurs extrinsèques liés au milieu (sol, et surtout climat) et de facteurs intrinsèques propres à une espèce ou à une lignée (Chopra et al., 1960). Ainsi même si une plante dispose du patrimoine génétique lui conférant la capacité de synthétiser un principe actif donné elle ne sera en mesure de le faire que dans des conditions climatiques bien précises. De même, au sein d'une même espèce on peut constater des différences individuelles marquées dans l'aptitude à élaborer un principe actif donné. (Chopra et al., 1960). On peut distinguer les plantes à alcaloïdes, les plantes à essences et les plantes à mucilages (Hota, 2007). Les plantes à essence sont caractérisées par leur teneur en huiles essentielles (caractère xérophytique). Elles sont plus nombreuses dans les habitats arides que dans les régions humides car les huiles essentielles forment un film qui abaisse la tension de vapeur (Lawal et Ogunwande, 2013 ; Al-Masri, 2015 ; Zuzarte et Salgueiro, 2015). Les espèces dont les organes végétatifs renferment des mucilages sont également plus abondantes dans les zones arides. En effet, ces substances jouent un rôle dans la rétention de l'eau (Bhatt et al., 2016 ; Kalegowda, 2017 ; Okamoto et Yano, 2017). La formation de gommages chez certaines espèces xérophiles dépend du manque d'humidité de l'atmosphère et du sol (Chopra et al., 1960). Le mucilage s'accumule chez certaines espèces dans l'enveloppe des graines (tégument), dans la couche cellulaire la plus externe de l'épiderme et dans les cellules souches appelées cellules mésenchymateuses. Ils représentent de 3% à 10% de la masse de la graine (Ziolkowska, 2012 ; Francoz et al., 2015 ; Roulard et al., 2016 ; Santos Fernandez et Salas-Mellado, 2017). Le **Tableau 1** dresse un inventaire non exhaustif mais relativement varié de différentes activités biologiques relevées au sein d'extraits de plantes sahariennes.

**Tableau 1.** Activités biologiques de différents principes actifs issus de plantes sahariennes (source personnelle).

	<b>Espèces</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Principes actifs</b>	<b>Activités biologiques</b>	<b>Références</b>
<b>Plantes à alcaloïdes</b>	<i>Peganum harmala</i> L. ( <i>Zygophyllaceae</i> )	Graines Tiges	$\beta$ -carbolines (harmine, harmaline, harmane)	Anti-inflammatoire Anti-cancéreuse	Bensalem et al. (2014) Bournine et al. (2017)
	<i>Atriplex halimus</i> ( <i>Amaranthaceae</i> )	Feuilles Tiges	Bisbenzylisoquinolines (néothalfine et thaliatrine)	Anti-oxidante	Benhammou et al. (2009) Emam (2011)
	<i>Ziziphus Lotus</i> ( <i>Rhamnaceae</i> )	Racines	Cyclopeptides (lotusine A1 et lotusine D2)	Anti-diabétique	Ghedira et al. (1993)
	<i>Genistaquadriflora</i> Munby ( <i>Fabaceae</i> )	Feuilles Tiges	Quinolizidines Piperidines	Anti-bactérienne Anti-fongique	Kacem et al. (2014)
	<i>Colchicum autumnale</i> L. ( <i>Liliaceae</i> )	Feuilles Tiges	Démécolcine	Immunomodulatrice	Fabricant et Farnsworth (2001) Soltani et al. (2017)
	<i>Lupinus tassilicus</i> Maire ( <i>Fabaceae</i> )	Graines	Epilupine Multiflorine	Anti-oxidante Anti-bactérienne	Ainouche et al. (1996)
	<i>Hammada scoparia</i> Pomel ( <i>Amaranthaceae</i> )	Feuilles Tiges	Carnéguine <i>N</i> -méthylisosalsoline	Anti-oxidante Antibactérienne	Bouaziz et al. (2016a)
<i>Fumaria officinalis</i> ( <i>Fumariaceae</i> )	Feuilles Tiges Fleurs	Isoquinolines (stylopine, srotopine et bicuculline)	Anti-oxidante Antibactérienne	Khamtache-Abderrahim et al., (2016)	

**Tableau 1 (suite).**

	<b>Espèces</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Principes actifs</b>	<b>Activités biologiques</b>	<b>Références</b>
<b>Plantes à essences</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. ( <i>Lamiaceae</i> )	Feuilles	Monoterpènes oxygénés	Insecticide	Zoubiri et Baaliouamer (2011)
	<i>Artemisia judaica</i> L. ( <i>Asteraceae</i> )	Feuilles Tiges Fleurs	Monoterpènes oxygénés, pipéritone, camphre, cinnamate d'éthyle	Anti-fongique Anti-inflammatoire	Abu-Darwish et al. (2016)
	<i>Artemisia herba alba</i> ( <i>Asteraceae</i> )	Feuilles Fleurs	$\alpha$ -thujone, $\beta$ -thujone, trans- sabinyl acetate, 1,8-cinéole et Camphre	Anti-oxydante Anti-microbienne	Mighri et al. (2010)
	<i>Zygophyllum album</i> L. ( <i>Zygophyllaceae</i> )	Feuilles Tiges Fleurs	$\beta$ -damascenone, $\beta$ - decalactone, $\alpha$ -inone, hydroxytoluène butylé, 3- nonen-2-one, safranale, etc.	Diurétique Anti-diabétique	Tigrine-Kordjani et al. (2006)
	<i>Ruta chalepensis</i> ( <i>Rutaceae</i> )	Feuilles Fleurs	2-nonanone, 2-undécanone, 1-nonène, $\alpha$ -limonène	Anti-microbienne	Haddouchi et al. (2013) Mejri et al. (2010)
	<i>Elaeoselinum asclepium</i> ( <i>Ombellifères</i> )	Tiges Fleurs	$\alpha$ -pinène, $\beta$ -pinène, myrcène et $\beta$ -phellandrène	Anti-bactérienne Anti-oxydante	Bouhekrit et al. (2016)
	<i>Lavandula dentata</i> L. ( <i>Lamiaceae</i> )	Feuilles Fleurs	8-cinéole, cis-verbénole, p- cymene-8-ol, fenchone, myrtenale, pinocarvone, $\alpha$ - terpineole, etc.	Anti-bactérienne Anti-fongique	Dob et al. (2005)
	<i>Genista quadriflora</i> Munby ( <i>Fabaceae</i> )	Tiges Feuilles Fleurs	Sesquiterpénoïdes	Anti-bactérienne Anti-fongique	Kacem et al.(2016)

**Tableau 1 (suite).**

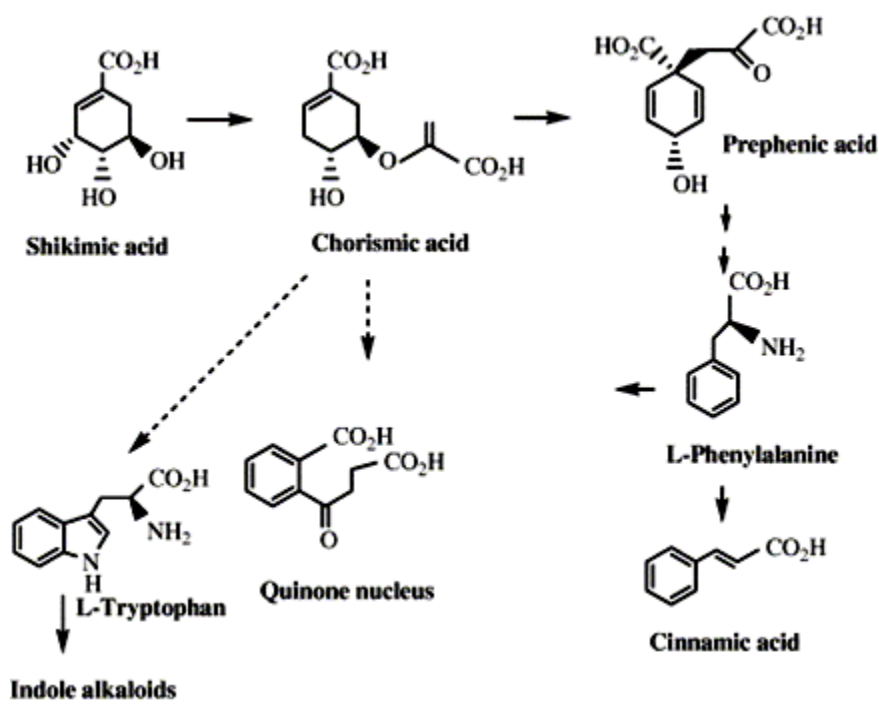
	<b>Espèces</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Principes actifs</b>	<b>Activités biologiques</b>	<b>Références</b>
<b>Plantes à miclages</b>	<i>Astragalus armatus</i> Lam ( <i>Fabaceae</i> )	Graines	Galactomannane	Anti-oxydante Anti-complément	Boual et al. (2015b)
	<i>Plantago major</i> L. ( <i>Plantaginaceae</i> )	Graines	Hétéroxylane	Anti-complément	Samuelsen et al. (1999a)
	<i>Aloe barbadensis</i> Miller ( <i>Liliaceae</i> )	Feuilles	Mannane acétylé	Anti-oxydante Anti-inflammatoire	Prajapati et al. (2014) Akaberi et al. (2016) Minjares-Fuentes et al. (2017)
	<i>Opuntia ficus indica</i> ( <i>Cactaceae</i> )	Cladodes	Pectine Arabinogalactane	Anti-oxydante	Bayar et al. (2016) Lefsih et al. (2016)
	<i>Cereus triangularis</i> ( <i>Cactaceae</i> )	Cladodes	Arabinogalactane	Anti-oxydante Prébiotique	Petera et al. (2015) Petera (2016)
	<i>Trigonella foenum-graecum</i> ( <i>Fabaceae</i> )	Graines	Galactomannane	Anti-oxydante Hémolytique	Ktari et al. (2017b)



### 2.1.1.2 Phytochimie et effets des métabolites végétaux

Le système métabolique d'une plante peut être considéré comme étant constitué de processus régulés dans lesquels se produisent des conversions biochimiques, un transfert de masse et la production de métabolites primaires et secondaires (Longo, 2003 ; Gurib-Fakim, 2006). Le métabolisme primaire est associé à des processus de vie fondamentaux communs à toutes les plantes telles que la photosynthèse. Les métabolites primaires sont produits et convertissent des entités moléculaires, nécessaires dans les voies anaboliques, pour construire, maintenir et reproduire la cellule vivante (Easwar Rao et al., 2017). Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires représentent des caractéristiques qui peuvent être exprimées en termes de différenciations écologiques, taxonomiques et biochimiques (Verma et Shukla, 2015). La grande diversité moléculaire des métabolites secondaires dans le règne végétal représente une ressource biogénique extrêmement riche pour la découverte de nouveaux principes actifs (Zhou et al., 2012 ; Gorelick et Bernstein, 2014). Les métabolites primaires et secondaires peuvent être classés en fonction de leur structure chimique comme glucides, lipides, acides aminés, peptides, protéines, enzymes, et bases aminées (purines et pyrimidines). Les organismes autotrophes et donc les plantes utilisent souvent un faible nombre de composés pour synthétiser une très large variété de métabolites secondaires. A titre d'exemple, l'acide shikimique (**Figure 2**) est à l'origine d'une grande chimio-diversité puisqu'il est à l'origine de la synthèse de nombreux acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, et tryptophane) ainsi que d'acides organiques tels que les acides benzoïque et gallique et d'aldéhydes comme la vanilline et le benzaldéhyde (Ghosh et al., 2012 ; Cardoso et al., 2014). Les glucides sont produits par photosynthèse à partir de l'eau et du dioxyde de carbone par la plante. On les retrouve sous la forme d'oses simples et de polysaccharides. Ils représentent une grande partie de la biomasse végétale, comme la cellulose qui fait partie de la paroi cellulaire et l'amidon comme polysaccharide de réserve (Basu et al., 2017). Les sucres peuvent s'associer à une grande variété de composés pour former des glycosides dont ils augmentent la solubilité dans l'eau. Ces glycosides sont de leur structures très variable. Leurs activités pharmacologiques varient en fonction de la partie aglycone (Tabasum et al., 2017). Les glucides possèdent également des activités biologiques telles que des activités immunomodulatrices, anti-tumorales, anti-coagulantes, hypoglycémiques et anti-viraux (Wang et al., 2017b). Les métabolites secondaires d'origine végétale ne présentent pas toujours des propriétés pharmacologiques bénéfiques (Hammiche et al., 2013 ; Gupta, 2016).

De point de vue écologiques, la production de ces métabolites secondaires est un moyen de défense chimique utilisé par les plantes (Ahmad et al., 2006 ; Takshak et Agrawal, 2015). Sur environ 1500000 plantes étudiées, la plupart d'entre elles contiennent des substances toxiques (Ameni et al., 2015 ; Mounanga et al., 2015).



**Figure 2.** Synthèse de métabolites secondaires à partir de l'acide shikimique (Gurib-Fakim, 2006).

Néanmoins, il est difficile de faire la distinction entre un médicament efficace et un poison mortel. En effet, certaines plantes utilisées de longue date en thérapie ont été par la suite décrites comme potentiellement toxiques (Gupta, 2016 ; Mebs et al., 2017). Parmi ces plantes on peut citer la consoude (*Symphytum officinale*) qui cause des lésions hépatiques aiguës (Furuya et Hikichi, 1971 ; Hirono et al., 1978; Stegelmeier, 2011) et le Yohimbe (*Corynanthe Yohimbe* famille des *Boraginaceae*) qui est utilisé comme complément alimentaire et aphrodisiaque, mais qui à des doses élevées, est soupçonné capable de provoquer une insuffisance rénale voire la mort (Gurib-Fakim, 2006).

### 2.1.1.3 Facteurs généraux influençant les activités biologiques

L'activité biologique d'une biomolécule est liée à ces propriétés physicochimiques et ces caractéristiques structurales (Soumyanath, 2005 ; Wagner et Wolff, 2012).

*In vivo* ou en tests cliniques un principe actif doit soit (i) passer les membranes cellulaires semi-perméables pour atteindre son site d'action lorsque sa cible cellulaire est intracellulaire (Kabera et al., 2014), soit (ii) agir directement sur des récepteurs membranaires pour activer des cascades biologiques propres à la cellule. Dans le premier cas, le franchissement des membranes dépend en grande partie de sa solubilité qui détermine également son degré d'absorption. *In vitro*, ces barrières sont absentes. Les activités biologiques *in vitro* ne représentent donc qu'une étape de l'évaluation d'un composé ou d'un extrait végétal. L'évaluation de la solubilité des extraits et principes actifs végétaux peut être déterminée via des procédés d'extraction qui séparent les constituants lipophiles des composés hydrosolubles (Kayser, 2006). En règle générale, les formes ionisées bioactives sont plus hydrosolubles (Gurib-Fakim, 2006). Dans le second cas, il est important d'avoir une bonne complémentarité stérique et électronique entre le ligand (récepteur) et la biomolécule cible. Ainsi, les dimensions moléculaires, les distances interatomiques, les dispositions des électrons et les propriétés stéréochimiques du ligand et de la cible sont décisives dans la détermination de l'activité biologique (Gurib-Fakim, 2006).

#### 2.1.1.4 Principales familles botaniques

La flore saharienne apparaît comme très pauvre une fois ramenée à l'importante surface qu'elle occupe (Ozenda, 1977). Le couvert végétal spontané des zones sahariennes est totalement dépendant de leurs caractéristiques climatiques très rudes, très irrégulières et très contraignantes (Quézel et Santa, 1963). On qualifie d'endémique une espèce végétale spécifique à une zone géographique donnée. L'endémisme est particulièrement développé dans les régions qui sont géographiquement isolées telles que certaines îles. Les caractères biologiques spéciaux du Sahara et l'existence de vastes espaces impropres à la vie constituent des barrières à la dissémination des espèces. De ce fait, l'endémisme y est particulièrement développé (Ozenda, 1977). La flore de l'Algérie, presque exclusivement Saharienne, comprend environ 2840 espèces dont 247 (8,6%) peuvent être considérées comme endémiques (Quézel, 1964). La répartition de ces espèces endémiques est très irrégulière selon les familles. On y trouve des : Composées (42 esp), Ombellifères (12 esp), Caryophyllées (25 esp), Crucifères (12 esp), Légumineuses (23 esp), Graminées (10 esp), Labiées (22 esp), Plumbaginées (10 esp), Scrofulariacées (13 esp), Liliacées (6 esp), Géraniacées et Campanulacées (5 esp), Cistacées et Orabanchacées (4 esp), Iridacées et Dipsacées (3 esp), Polygonacées, Chenopodiacees, Fumariacées, Convolvulacées, Rubiacées et Valérianiacées (2 esp).

17 familles possèdent en Algérie une seule espèce endémique. L'endémisme apparaît comme tout particulièrement diversifié au sein des genres présents en Algérie. En effet, sur 122 genres possédant en Algérie des taxa endémiques, 26 seulement comportent plus de 3 espèces. 15 genres ont 2 espèces endémiques, et 79 avec une seule (Quezel, 1964). Sur les quelques 250 espèces endémiques de l'Algérie, la quasi-totalité, soit plus de 230, appartiennent à des lignées méditerranéennes caractérisées par une composition floristique spontanée variant en fonction de la saison et de la végétation (Quezel, 1964).

#### *2.1.1.5 Physiologie et répartition*

La répartition de la végétation saharienne est intimement liée à la formation géomorphologique des sols, à leurs caractéristiques physico-chimiques, ainsi qu'à la disponibilité de l'eau (Ozenda, 1977). Malgré l'hostilité des conditions sahariennes, le couvert végétal subsiste grâce à des adaptations morphologiques, physiologiques et anatomique (Houari et al., 2013). En effet, la physiologie et les caractéristiques anatomiques des plantes spontanées vivaces leurs permettent de diminuer leurs pertes par évaporation en réduisant leur la surface foliaire et/ou le nombre de feuilles (ainsi elles deviennent minuscules parfois transformées en épines, ou même complètement aphyllées). La vitesse d'évaporation est également fortement diminuée chez ces plantes par la formation de cuticules épaisses et d'assises cellulaires sclérifiées ou huileuses sur les stomates (Houari et al., 2013). Les plantes Méditerranéennes ont par ailleurs développé des systèmes racinaires profonds et étendus, permettant d'aller rechercher l'eau dans la profondeur du sol. Les tiges de nombreuses plantes Méditerranéennes sont également fortement sclérifiées. Chez de très nombreux cactus et euphorbes, on remarque l'existence de côtes longitudinales sur les tiges qui permettent de créer des ombres passagères évitant à certaines parties de la surface d'éviter régulièrement une exposition trop directe au soleil. Une autre stratégie consiste à stocker de l'eau dans les cellules des plantes. Elle a été adoptée par les plantes aux feuilles charnues ou bien par les plantes dites "grasses", comme les sedums ou les cactus. La présence de poils chez les plantes de Méditerranée telles que le chêne pubescent ou le ciste cotonneux est aussi interprétée comme une adaptation à la sécheresse. Ces derniers reflètent la lumière, et permettent d'accrocher et de capter les gouttes de rosée le matin. Le chêne vert et l'olivier présentent ces poils sur leur face inférieure, ou ils protègent l'entrée des stomates permettant ainsi un degré supplémentaire de régulation de la transpiration. L'adaptation physiologique à la sécheresse est présentée par la régulation de l'ouverture des stomates par lesquels la plante réalise ses échanges gazeux tels que l'absorption du CO<sub>2</sub> nécessaire à la photosynthèse.

En se fermant lors de fortes chaleurs, les stomates limitent les pertes en eau pour la plante sans perturber la photosynthèse du fait d'un métabolisme adapté (plantes de type C4 ou Crassulacean Acid Metabolism ou CAM). La photosynthèse chez les plantes CAM est différée dans le temps. Durant les heures fraîches et humides de la nuit, les stomates sont ouverts. Les pertes d'eau par transpiration sont limitées et le CO<sub>2</sub> est incorporé par la phosphoénol-pyruvate carboxylase (PEP carboxylase) dans des molécules à 4 carbones comme le malate qui s'accumule dans des compartiments vacuolaires. Les stomates restent fermés ensuite durant la journée, et ce CO<sub>2</sub> est libéré par la malate déshydrogénase puis incorporé par la RUBisco au cycle de Calvin (métabolisme des sucres en C3).

## 2.1.2 Famille des *Plantaginaceae*

### 2.1.2.1 Présentation et physiologie

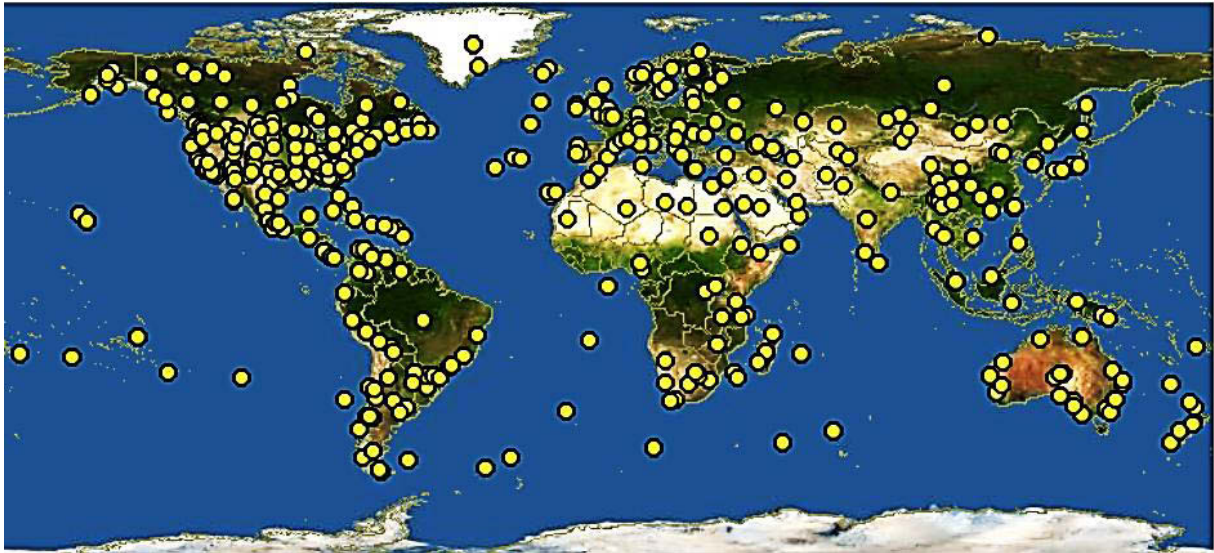
La famille des *Plantaginaceae* est la famille des plantes herbacées, rarement ligneuses à la base, portant des feuilles en rosette basale opposées ou alternes avec une inflorescence en épis denses plus ou moins allongés (Quézel et Santa, 1963). Elle comprend habituellement trois genres, à savoir (i) le plus vaste, *Plantago* qui regroupe plus de 260 espèces, (ii) *Littorella* qui compte 3 espèces (dont *Littorella uniflora* et *L. americana*) et (iii) *Bougeria* qui est représenté par 1 seule espèce (Lewalle, 1978 ; Wolff et Schaal, 1992). La représentation saharienne de cette famille botanique est constituée presque exclusivement par le genre *Plantago* (Plantain) (Ozenda, 1977 ; Quézel et Santa, 1963). Le genre *Plantago* qui fait l'objet de cette thèse est divisé en deux sous-genres ; sub-genre *Plantago* à feuilles alternes et sub-genre *Psyllium* à feuilles opposées (Taskova et al., 2002 ; Tutel et al., 2005). Le genre *Plantago* (*Plantaginaceae*) est cosmopolite, concentré dans les régions tropicales tempérées et à haute altitude (Gazer et Shalabi, 2016). Les espèces de *Plantago* sont réparties dans toutes les régions phytogéographiques et considérées, soit comme mauvaises herbes en culture, soit comme fourrage à destination des animaux dans les milieux plus arides tels que les déserts et les oasis. La plupart des plantes appartenant à ce genre sont annuelles ou vivaces, ou plus rarement sous-arbustives (Gazer et Shalabi, 2016). Les feuilles et les graines des espèces de la famille des *Plantaginaceae* sont utilisées en poudres et en compresses en pharmacopée traditionnelle pour le traitement des inflammations, des constipations et pour la cicatrisation des blessures (Gonçalves et Romano, 2016). A titre d'exemples les graines de *Plantago ovata* Forsk., et de *Plantago psyllium* L., riches en polysaccharides (mucilages) très hydrophiles, sont utilisées pour leurs propriétés laxatives.

Les feuilles et les graines de *P. asiatica* L. et *P. depressa* Willd., s'utilisent en pharmacopée chinoise comme des expectorants, des diurétiques, des agents antimicrobiens et anti-inflammatoires (Zhao et al., 2014). Les industries nutraceutiques et pharmaceutiques utilisaient certaines espèces de *Plantago* comme des aliments fonctionnels et suppléments alimentaires pour améliorer la fonction intestinale (e.g. Ispaghul psyllium, vendu comme complément alimentaire, DJ Form). Pour réduire l'utilisation d'antibiotiques et améliorer la santé, certaines espèces, dont *Plantago lanceolata*, sont également utilisées dans l'alimentation animale (Tamura et Nishibe, 2002 ;Mazzutti et al., 2017). Le grand plantain, *Plantago major* L. a été utilisée comme plante médicinale traditionnelle pendant des siècles et est l'une des herbes médicinales les plus répandues dans le monde. Ses feuilles sont utilisées pour favoriser la cicatrisation des plaies (Samuelsen, 2000).

### 2.1.2.2 Genre *Plantago*

#### 2.1.2.2.1 Taxonomie et diversité des espèces

Le plantain est une plante vivace herbacée originaire de Méditerranée, d'Europe centrale et des régions tempérées d'Asie ainsi que d'Amérique du Nord (**Figure 3**). Sa dénomination botanique provient de « planta » qui signifie la plante des pieds et de « ago », « je pousse », autrement dit qui pousse sous la plante des pieds. Le genre *Plantago* est le plus vaste de la famille des *Plantaginaceae*. Au Sahara, il comprend les espèces *P. mauritanica* Maire., *P. psyllium* L., *P. amplexicaule* Cav., *P. major* L., *P. coronopus* L., *P. serraria* L., *P. crassifolia* Forsk., *P. maritima* L., *P. subulata* L. *P. surpentina* (Mangol) Villars., *P. tunetana* Murbec., *P. albicans* L., *P. lagopus* L., *P. lanceolata* L., *P. ciliata* Desf., *P. Bellardii* All., *P. notata* Lag., *P. akkensis* Coss., *P. Loeffingii* L., *P. ovata* Forsk. (Ozenda, 1977 ; Quézel et Santa, 1963). Les espèces les plus utilisées en médecine traditionnelle sont *P. major*, *P. lanceolata*, *P. media*, *P. pumilia*, *P. coronopus*, *P. argentia* et *P. lagopus* produisent de mucilage autour de leurs graines (Trivedi, 2009) (**Figure 4**).

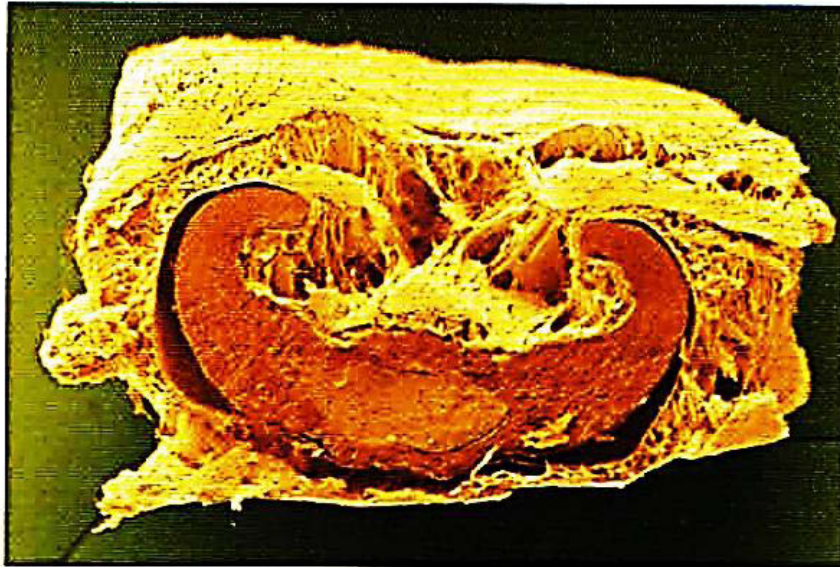


**Figure 3.** Répartition mondiale du genre *Plantago* (<http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Plantago>).



**Figure 4.** Exemples d'espèces appartenant au genre *Plantago*, (A)*P. major*, (B)*P. lanceolata* et (C) *P. media* (source personnelle).

Le genre *Plantago* L. est bien connu pour son homogénéité. La structure de la fleur, en particulier, est parfaitement constante parmi les plus de 260 espèces qu'il comporte. Seule, la disposition des feuilles (alternes ou opposées) et le port des individus (plantes en rosette ou à tige ramifiée) a permis de distinguer les deux sous-genres *Plantago* et *Psyllium*. A l'intérieur de ces sous-genres et plus spécialement dans le sub-genre *Plantago*, il est souvent assez délicat de classer les différentes espèces. Le sub-genre *Plantago* a été divisé en 18 sections et le sub-genre *Psyllium* ne contient qu'une seule section (Gorenflot et Bourdu, 1962). Le mucilage des graines (**Figure 5**) de espèces de genre *Plantago* (*Psyllium*, Ispaghul) s'emploie contre la constipation chronique et des troubles dysentériques.



**Figure 5.** Graine de *P. psyllium* entière entourée par une couche mucilagineuse après imbibition dans l'eau (Svoboda et al., 2000).

Il semble que l'efficacité du Plantain soit presque entièrement due à la grande quantité de mucilage qu'il contient. Les enzymes digestives n'exercent qu'une action très limitée sur le mucilage, il traverse donc l'intestin grêle sans être modifié et tapisse au passage la muqueuse, agissant comme émoullient et lubrifiant (Iserin, 2001). Il recouvre les muqueuses enflammées et ulcérées et les protège contre l'irritation causée par les liquides et les gaz. En outre, ce mucilage exerce une action inhibitrice sur les bactéries grâce à sa nature colloïdale qui lui confère un remarquable pouvoir d'absorption des toxines provenant des bactéries et d'autres sources. Les graines de Plantain donnent d'excellents résultats dans les cas de dysenterie amibienne ou bacillaire, et de diarrhée chronique provoquée par l'irritation de l'appareil gastro-intestinal. Les graines du plantain (*Plantago major*) sont recommandées contre les diarrhées et les inflammations du côlon. Obako (un extrait tiré de *Plantago asiatica*) est un agent diurétique utilisé en Chine pour soigner la diarrhée et la bronchite (Iserin, 2001). Le **Tableau 2** illustre quelques-uns des activités biologiques reportées dans la littérature de différentes espèces de *Plantago* présentes dans le Sahara Algérien.



**Tableau 2.** Effets pharmacologiques et composition de plusieurs extraits issus de quelques espèces du genre *Plantago* appartenant à la flore Algérienne (source personnelle).

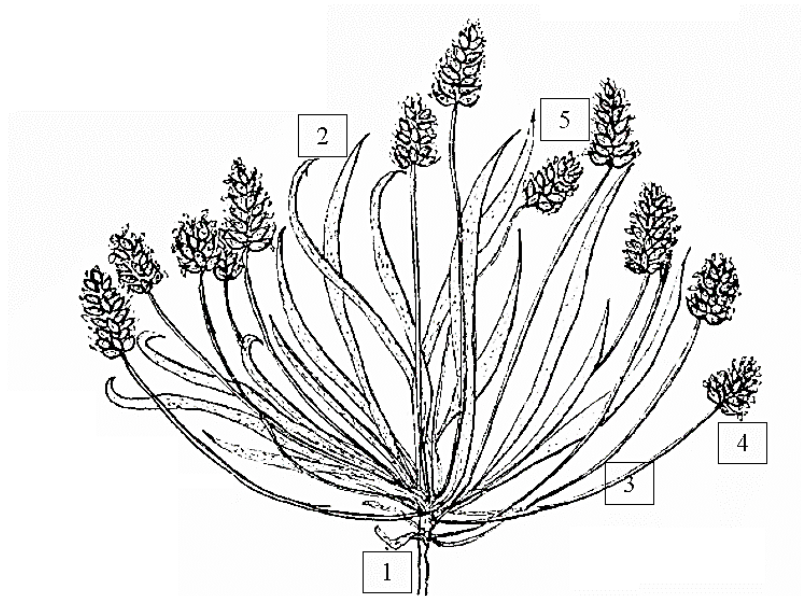
Espèces	Activités biologiques	Parties utilisées	Composition des extraits	Références
<i>P. ovata</i>	Laxative Hypocholestérolémiant Anti-diabétique	Graines	Mucilage Polysaccharide	Ross (2005) Van Craeyveld et al. (2009) Pawar et Varkhade (2014)
<i>P. major</i>	Cicatrisante Anti-diarrhéique Anti-coagulante	Graines	Mucilage Polysaccharide	Ling et al. (2009) Lim (2013) Lim (2014) Behbahani et al. (2017)
<i>P. lanceolata</i>	Anti-inflammatoire Anti-bactérienne Diurétique Anti-asthmatique	Feuilles	Iridoides glucosylés Cafféoyl phényléthanoïdes glycosylés, Polysaccharides	Allen et Hatfield (2004)
<i>P. psyllium</i>	Laxative Antipyrétique Diurétique Cicatrisante	Feuilles Graines	Mucilage Actéosides Isoactéosides	Li et al. (2005) Gonçalves et Romano (2016)
<i>P. albicans</i>	Immunomodulatrice Anti-obésité Anti-oxydante	Feuilles Graines	Phényléthanoïdes glycosylés Polyphénols Flavonoïdes	Zhao et al. (2014) Samout et al. (2016)

#### 2.1.2.2.2 *Plantago notata* Lagasca

*Plantago notata* Lagasca est une plante herbacée annuelle, à feuilles allongées (**Figure 6 et Figure 7**). Les nervures principales sont parallèles, à pétiole peu distinct et les fleurs blanches, sont groupées en épis à l'extrémité des hampes dépourvues de feuilles. La bractée et les sépales à longs poils, donnent à l'épi un aspect laineux. Les sépales sont sans nervure (Ozenda, 1977).



**Figure 6.** *Plantago notata* (*Plantaginaceae*) récoltée dans la région d'Oued Nechou dans la région de Ghardaïa (Boual, 2014).



**Figure 7.** Schéma représentant les différentes parties de la plante *Plantago notata* (*Plantaginaceae*). (1) tiges, (2) feuilles, (3) hampes florales, (4) épis, (5) graines (Ozenda, 1977).

## **Position systématique :**

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** *Plantaginaceae*

**Genre :** *Plantago*

**Espèce :** *Plantago notata* (Lagasca)

## **Répartition géographique et utilisations traditionnelles :**

*P. notata* Lagasca est présente au Sahara septentrional (Biskra, M'Zab) (Ozenda, 1977). Elle est aussi signalée en Espagne, en Afrique du Nord, dans le Sud-Est de l'Asie et en Iran. La poudre est employée comme cicatrisante des blessures, pour les traitements des inflammations de la gorge et des ulcères. Elle est également utilisée en macération pour le traitement des constipations (Voisin, 1987 ; Iserin, 2001).

### *2.1.3 Famille des Liliaceae*

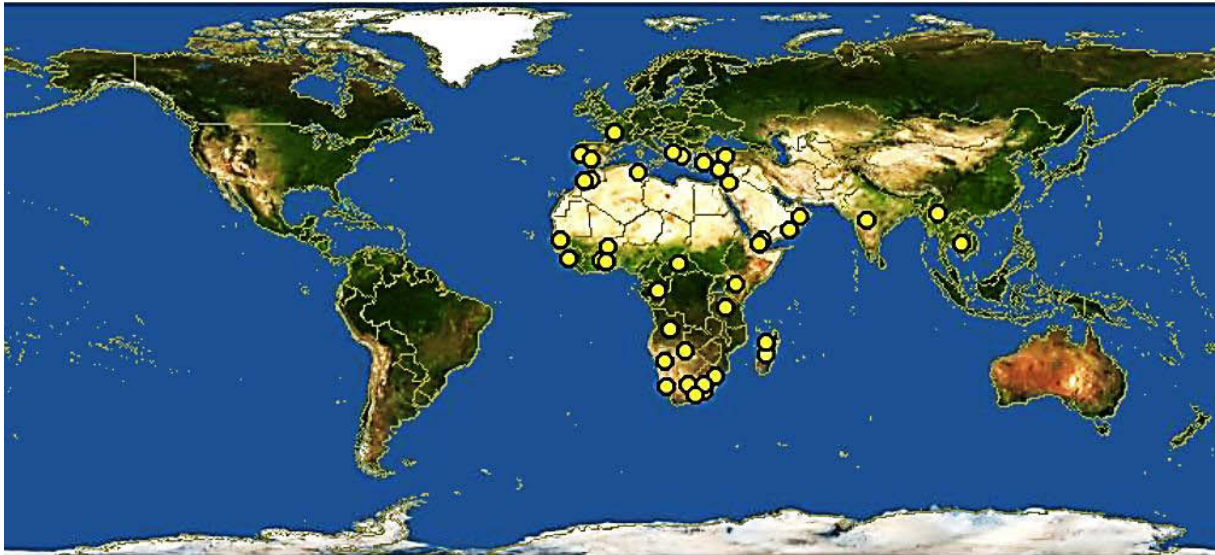
#### *2.1.3.1 Présentation et physiologie*

La famille des *Liliaceae* est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs. Elle comprend 250 genres et 3000 espèces qui sont des monocotylédones très largement distribuées. La plupart sont herbacées possèdent des bulbes, des cormes (bulbes formés d'une tige renflée entourée d'écailles) ou des rhizomes. Un certain nombre d'espèces sont xérophytiques et quelques-unes sont charnues comme l'aloès. Les inflorescences sont généralement racémiques, mais les tulipes, par exemple, sont célibataires. Les fleurs sont régulières et parfaites (Twentyman et Ffhom, 1984). Cette famille tient une place importante dans la flore méditerranéenne et dans celle les régions steppiques des divers continents (Ozenda, 1977). La famille des *Liliaceae* est représentée au Sahara par les genres suivants ; *Colchicum* L., *Merendera* Ramod., *Asphodelus* L., *Asparagus* L., *Androcymbium* Willd., *Urginea* Steinh., *Battandiera* Maire., *Aphyllanthes* L., *Asphodeline* Rchb., *Simethis* Kunth., *Anthericum* L., *Fritillaria* L., *Tulipa* L., *Gagea* Salisb., *Scilla* L., *Dipacdi* Medik., *Ornithogalum* L., *Bellivallia* Lapeyr., *Muscari* Mill., *Ruscus* L., *Smilax* L. et *Allium* L. (Ozenda, 1977 ; Quézel et Santa, 1963).

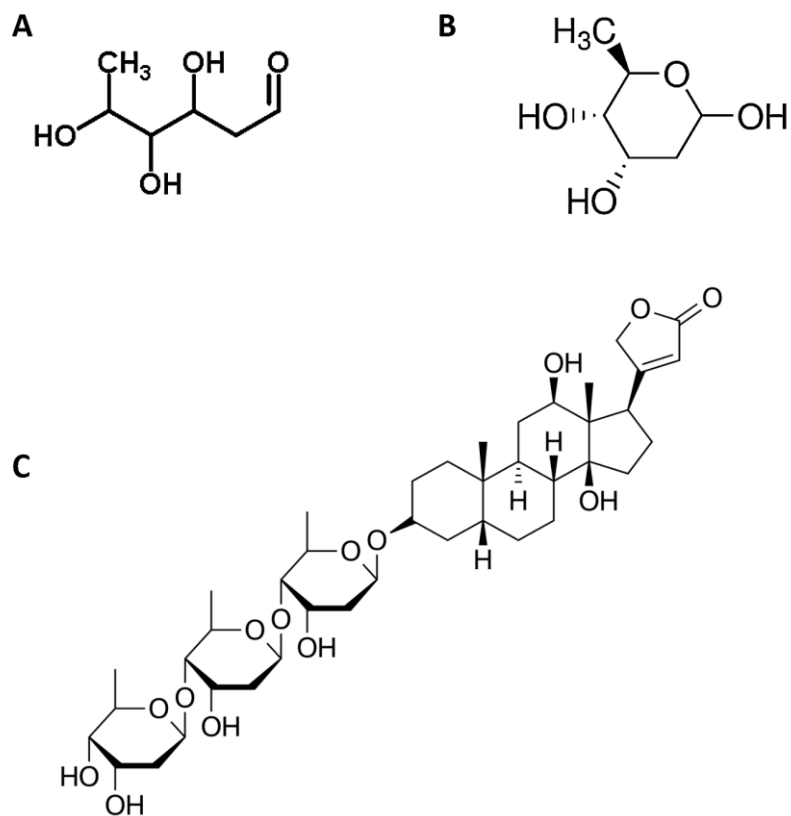
### 2.1.3.2 Genre *Urginea*

#### 2.1.3.2.1 Taxonomie et diversité des espèces

Ce genre est répandu dans toute la région méditerranéenne, en Afrique, en Iran et en Inde (**Figure 8**). Les études ethnopharmacologiques ont indiqué qu'indépendamment de la zone de croissance, les espèces d'*Urginea* sont utilisées pour traiter les troubles cardiovasculaires, respiratoires, articulaires et les problèmes cutanés. Ces espèces contiennent des composés glycosylés qualifiés de glycosides cardiaques comme principes actifs majeurs. En outre, des composés phénoliques, des phytostéroïdes, des protéines et de l'acide oxalique ont également été isolés de ces espèces (Bozorgi et al., 2017). Les glycosides cardiaques sont des composés caractérisés par la présence d'une partie glycosidique et d'une partie aglycone qui est un stéroïde tétracyclique. Ils sont classés en deux groupes les cardénolides et les bufadiénolides bien que leurs rôles et structures soient très proches (Krenn et al., 2000). La partie glucidique (mono- ou oligosaccharidique) de la molécule est liée par un hydroxyle en C-3 à la partie aglycone (Moodley et al., 2007). La majorité des monosaccharides trouvés dans les glycosides cardiaques sont très spécifiques. Ce sont les 2,6-didésoxyhexoses, tel que D-digitoxose, L-oléandrose ou le D-diginose (**Figure 9A et B**). Les glycosides cardiaques sont utilisés comme médicaments pour stimuler le muscle cardiaque et agir sur les tissus conducteurs (y compris les tissus neuraux) en modifiant le fonctionnement de la dépolarisation de la pompe à  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  membranaire (Marx et al., 2006). Un exemple commercialisé en pharmacopée de ces glycosides cardiaques est la digoxine de *Digitalis lanata* (**Figure 9C**), qui appartient d'ailleurs dans les classifications récentes aux *Plantaginaceae* (Koorbanally et al., 2004 ; Knittel et al., 2015).

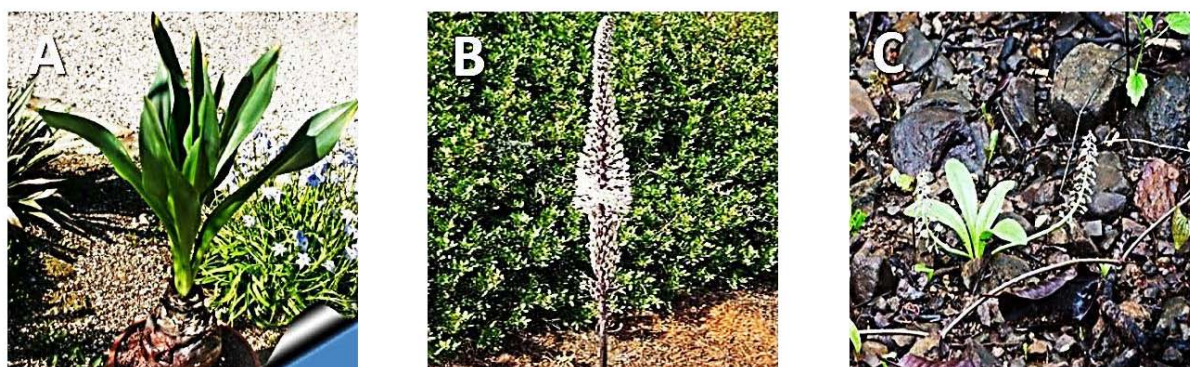


**Figure 8.** Répartition mondiale du genre *Urginea* (<http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Urginea>).



**Figure 9.** Structures chimiques des (A) 2,6-didésoxyhéxoses dont (B) le D-digitoxose ; structure de la (C) digoxine commercialisée comme glycoside cardiaque (source personnelle).

Le genre *Urginea*, est un genre bien connu en Afrique avec environ 40 espèces actuellement identifiées et portant le nom vernaculaire « slangkop ». On peut par exemples citer des espèces majeures comme *U. scilla*, *U. maritima* et *U. indica* (**Figure 10**). A noter que ce nom verniculaire est souvent étendu aux autres *Liliaceae*. Ce nom est dérivé de l'apparence de l'inflorescence pointue, qui, à distance, ressemble à un serpent élevant sa tête. Le genre *Drimia* est souvent confondu avec le genre *Urginea* car les deux genres ont des bulbes scintillants et présentent des bufadiénolides (appartenant à la famille des stéroïdes)(Pohl et al., 2001). Dans le genre *Urginea*, les pétales et les étamines sont en grande partie libres les uns des autres et ils se répandent, non repliés vers l'arrière. Les espèces appartenant au genre *Urginea* sont des plantes bulbeuses typiques avec une seule épingle à fleurs qui émerge avant les feuilles du printemps. Ces espèces poussent dans une grande variété de sols, y compris les sols sablonneux, de l'argile, de la dolomie, des sols calcaires, des sols alluviaux sur les rives et les plaines inondables de lacs. Les parties aériennes disparaissent en hiver, mais les ampoules pérennes survivent (Pretorius et al., 2005).



**Figure 10.** Exemples d'espèces appartenant au genre *Urginea*, (A)*U. scilla*, (B)*U. maritima* et (C) *U. indica* (source personnelle).

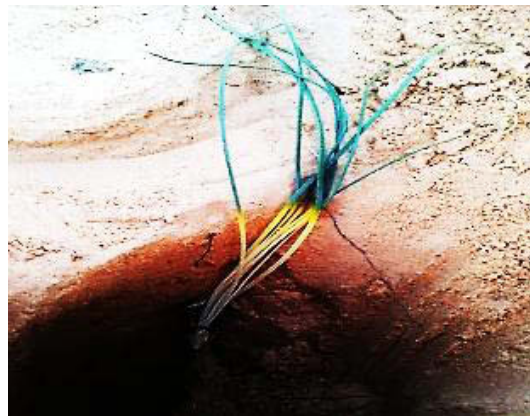
Le **Tableau 3** illustre quelques-uns des activités biologiques reportées dans la littérature de différentes espèces d'*Urginea* présentes dans le Sahara Algérien.

**Tableau 3.** Effets pharmacologiques et composition de plusieurs extraits issus de quelques espèces du genre *Urginea* trouvées dans le Sahara Algérien (source personnelle).

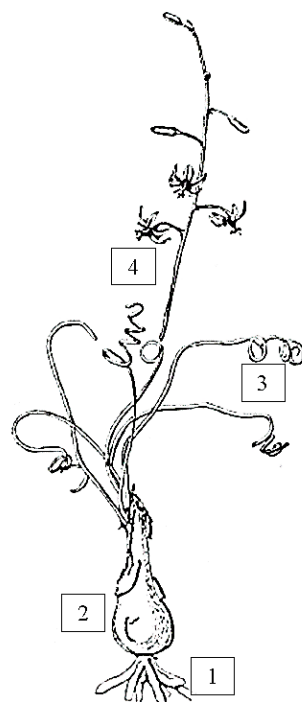
Espèces	Activités biologiques	Parties utilisées	Composition des extraits	Références
<i>U. maritima</i> (L.)	Anti-bactérienne Expectorante Anti-cancéreuse Diurétique	Bulbes	Sinitrines Fructo-oligosaccharides Glycosides cardiaques	Praznik et Spies(1993) Spies et al.(1992) El-Seedi et al. (2013)
<i>U. undulata</i> (Desf.)	Anti-oxydante Anti-bactérienne Anti-inflammatoire	Bulbes	Polyphénols Flavonoïdes	Sharaf et al. (2017)
<i>U. fugax</i> (Moris)	Cardiotonique	Bulbes	Glycosides cardiaques Cardénolides	Krenn et al. (2004)
<i>U. pancracion</i> (Steinh.)	Cardiotonique	Bulbes Feuilles	Glycosides cardiaques Polysaccharides Bufadiénolides	Krenn et Kopp (1998) Bouzidi et al. (2010)

#### 2.1.3.2.2 *Urginea noctiflora*

*Urginea noctiflora* (Batt. & Trab.) est une plante annuelle géophyte à bulbe volumineux profondément enfoncé dans le sol (**Figure 11** et **Figure 12**). Ses feuilles sont étroites et peu charnues, enroulées en tire-bouchon. Les fleurs sont espacées en grappes portées par une hampe dont le périanthe est complètement étalé (Ozenda, 1977). Elle est connue en Algérie sous le nom de « Becis el far », et porte aussi les noms Tiouag, bessim edib et bossille. *Drimia noctiflora* (Batt. & Trab.), est signalée comme synonyme.



**Figure 11.** *Urginea noctiflora* (Liliaceae) récoltée dans la région de Taibet-Ouargla (source personnelle).



**Figure 12.** Schéma représentant les différentes parties de la plante *Urginea noctiflora* (Liliaceae). (1) racines, (2) bulbe, (3) feuilles, (4) fleurs (Ozenda, 1977).



### **Position systématique :**

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Monocotylédones

**Ordre :** Asparagales

**Famille :** *Liliaceae*

**Genre :** *Urginea*

**Espèce :** *Urginea noctiflora* (Batt et Trab.)

### **Répartition géographique et utilisations traditionnelles :**

*Urginea noctiflora* est une espèce endémique du Sahara septentrional où sa distribution est commune. On la trouve également dans le Tademaït et sur les Hamadas l'Oranais et le sud Marocain (Ozenda, 1977). *Urginea noctiflora* est utilisée en poudre et en compresses pour les Traitement des plaies, des maux d'oreilles (Ould El Hadj et al., 2003).

## 2.2 Généralités sur les polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères d'oses de très hautes masses molaires. Ils sont issus de différentes sources et ont été largement étudiés et utilisés pour leurs propriétés technofonctionnelles dans les secteurs pharmaceutiques, cosmétiques, de l'industrie papetière, agroalimentaire, et dans l'extraction pétrolière (Liu et al., 2015). Plus récemment, l'utilisation de polysaccharides comme agents bioactifs, a suscité un intérêt accru pour de nouvelles applications en raison de leur biocompatibilité, de leur biodégradabilité et de leur non toxicité toutes associées à l'identification d'activités biologiques portées par ces composés (Yang et al., 2009 ; Xie et al., 2016). Les sources de polysaccharides sont très diverses. Ils peuvent provenir de plantes supérieures, de champignons, d'algues et de bactéries (Srivastava et Kulshreshtha, 1989). D'un point de vue physiologique, les polysaccharides peuvent être des composés de réserve comme l'amidon, des macromolécules de structure telles que la cellulose ou les hémicelluloses, des exsudats de type mucilage impliqués dans la captation d'eau et/ou la cicatrisation ou encore des médiateurs cellulaires (l'héparine par exemple). L'isolement, la purification et l'utilisation des polysaccharides dépendent de leurs caractéristiques structurales mais également des matrices biologiques où ils sont présents.

Les structures des polysaccharides isolés à de biomasses d'origines diverses sont extrêmement complexes et variées. Elles sont très majoritairement constituées d'hexoses et/ou de pentoses liés les uns aux autres par des liaisons *O*-glycosidiques. On distinguera les homopolysaccharides constitués d'un seul type d'oses des hétéropolysaccharides constitués de plusieurs oses. Ces polymères peuvent être linéaires mais également ramifiés. Quand plusieurs monosaccharides sont présents au sein de ces structures c'est l'ose majoritaire suivi du suffixe « ane » qui donne son nom au polysaccharide. Les oses plus minoritaires seront associés ensuite à ce nom. A titre d'exemples, les galactomannanes sont constitués d'une chaîne principale de mannose (ose majoritaire) substituée par des résidus galactose (Shi, 2016). Les polysaccharides peuvent posséder un ou plusieurs groupements aglycones comme des groupements phosphate, sulfate, amine ou certains acides organiques de type succinate, pyruvate ou acétate mais aussi des protéines (Raveendran et al., 2013). On parlera dans ce dernier cas de protéoglycanes si la quantité de protéines ne dépasse pas en masse 30%. Les polysaccharides peuvent être classés en deux groupes en fonction de leur source. Les polysaccharides naturels obtenus à partir de divers organismes (**Tableau 4**) et les polysaccharides semi-synthétiques produits par la modification chimique ou enzymatique de macromolécules naturelles (Zong et al., 2012).

### 2.2.1 Biochimie des polysaccharides

Les polysaccharides possèdent de nombreux groupements hautement réactifs (groupes acétamide, amine, carboxyle et/ou hydroxyle) qui peuvent être exploités dans diverses voies de fonctionnalisation (Wang et al., 2017a). Ils se caractérisent par une hydrophilie élevée due à la présence de nombreux groupements hydroxyle dans leur structure. De nombreuses réactions chimiques telles que l'oxydation, la sulfatation, l'estérification, l'amidation ont ainsi été réalisées visant à créer des dérivés avec des propriétés déterminées/adaptées (Karaki et al., 2016). L'analyse structurale peut donner des informations précieuses pour comprendre les fonctions biologiques des polysaccharides, mais la diversité et l'irrégularité des chaînes rendent délicate la compréhension des relations structure-fonction (Dumitriu, 2005).

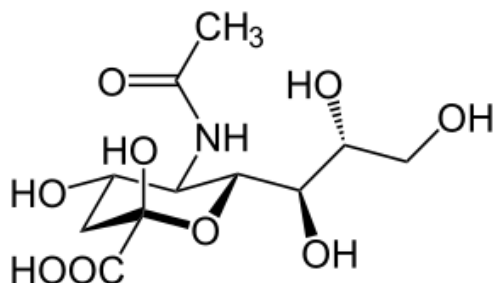
**Tableau 4.** Exemples de grandes familles de polysaccharides et structures associées.

Sources	Polysaccharides	Liaisons osidiques	Oses majoritaires
Animales	Chitine et chitosane	$\beta$ -(1,4)	D-GlcNAc et D-GlcN
	Héparine	$\beta$ -(1,4), $\alpha$ -(1,6)	L-IdoA (2S), D-GlcN (6S)
	Hyaluronane	$\beta$ -(1,3)	D-GlcA et D-GlcNAc
	Sulfate de chondroïtine	$\beta$ -(1,3)	D-GlcA et D-GalNAc (4S, 6S)
Végétale	Agar, agarose	$\beta$ -(1,3), $\alpha$ -(1,4)	D-Gal, L-AnGal, L-Gal (+S2, S4 et S6) <sup>1</sup>
	Alginate	$\beta$ -(1,4)	D-ManA, L-GulA
	Amidon	$\alpha$ -(1,4) et $\alpha$ -(1,6)	D-Glc
	Arabinogalactane I	$\beta$ -(1,4), $\alpha$ -(1,3), $\alpha$ -(1,5)	D-Gal, L-Ara
	Arabinogalactane II	$\beta$ -(1,3), $\beta$ -(1,4), $\alpha$ -(1,3), $\alpha$ -(1,6)	D-Gal, L-Ara, D-GlcA
	Arabinoxylane	$\beta$ -(1,4), $\alpha$ -(1,2) et $\alpha$ -(1,3)	L-Ara, D-Xyl, (D-GlcA)
	$\beta$ -glucane	$\beta$ -(1,3), $\beta$ -(1,4) et $\beta$ -(1,6)	D-Glc
	Carraghénane	$\beta$ -(1,3), $\alpha$ -(1,4), $\beta$ -(1,2)	D-Gal, D-AnGal (+S2, S4 et S6)
	Cellulose	$\beta$ -(1,4)	D-Glc
	Galactomannane	$\beta$ -(1,4) et $\alpha$ -(1,6)	D-Gal, D-Man
	Glucomannane	$\beta$ -(1,4) et $\beta$ -(1,3)	D-Glc, D-Man, D-GlcAc
	Pectine	$\alpha$ -(1,4)	D-GalA, D-MeGalA
	Ulvane	$\beta$ -(1,4), $\alpha$ -(1,4), $\alpha$ -(1,3), $\alpha$ -(1,2)	D-GlcA, L-Rha 3S, L-IdoA, D-Xyl (2S)
	Xylane (hémicellulose)	$\beta$ -(1,4)	D-Xyl
Bactérienne	Xyloglucane	$\beta$ -(1,4) et $\alpha$ -(1,6)	D-Glc, D-Xyl
	Curdlane	$\beta$ -(1,3)	D-Glc
	Gellane	$\beta$ -(1,4)	D-Glc, L-Rha, D-GlcA
	Pullulane	$\alpha$ -(1,4) et $\alpha$ -(1,6)	D-Glc
Fongique	Xanthane	$\beta$ -(1,4), $\alpha$ -(1,3), $\alpha$ -(1,2),	D-Glc, D-Man (6Ac), D-GlcA, PyrA
	Krestine	$\beta$ -(1,4), $\beta$ -(1,3), $\beta$ -(1,6)	D-Glc
	Lentinane	$\beta$ -(1,3), $\beta$ -(1,6)	D-Glc
	Schizophyllane	$\beta$ -(1,3), $\beta$ -(1,6)	D-Glc
	Scléroglucane	$\beta$ -(1,3), $\beta$ -(1,6)	D-Glc

### 2.2.1.1 Structure des glucides

Les glucides sont des molécules organiques caractérisées par la présence de chaînons carbonés porteurs de groupements hydroxyle, et de fonctions aldéhyde ou cétonique, et éventuellement de fonctions carboxyle ou amine (Quentin et al., 2015). Ils incluent les sucres simples ou monosaccharides (ou oses), les polysaccharides et leurs dérivés. Ces composés sont les principales substances nutritives de la plupart des organismes, notamment sous la forme de glucose. Ils fournissent l'énergie et les carbones nécessaires pour la biosynthèse de protéines, d'acides nucléiques, de lipides et d'autres glucides (Sánchez, 2006). La diversité structurale et fonctionnelle des glucides leur confère des propriétés physicochimiques et biologiques extrêmement variées. Par conséquent, la résolution de leurs structures et la compréhension fine des mécanismes dans lesquels ils sont impliqués constituent un challenge pour la glycobiologie (Fenoradosoa, 2009). Les monosaccharides sont des aldéhydes et des cétones de formule empirique  $(CH_2O)_n$ . Ils présentent une chaîne carbonée non ramifiée, avec des liaisons simples entre les atomes de carbone, une fonction aldéhyde en C1 (aldoses) ou cétone en C2 (cétoses) et une fonction alcool sur chacun des autres carbones. On les nomme également trioses, tétroses, pentoses, hexoses, etc., en fonction du nombre de carbones (respectivement 3, 4, 5 et 6). La qualification d'un ose combine deux préfixes : aldopentose, cétohexose, etc. Les oses sont divisés en quatre catégories : (i) les oses neutres, (ii) les acides uroniques, (iii) les acides sialiques et (iv) les osamines (Quentin et al., 2015). Les oses acides sont les produits d'oxydation des hexoses par des déshydrogénases spécifiques. La fonction alcool primaire est oxydée en acide carboxylique. Les acides D-glucuronique et D-galacturonique sont des constituants habituels des polysaccharides pariétaux tels que la pectine, des mucilages acides et de la plupart des sécrétions polysaccharidiques (partie 2.2.2). L'acide glucuronique participe aux processus d'élimination des substances étrangères à l'organisme (xénobiotiques), qu'elles soient ou non toxiques. Certains oses acides sont moins fréquents dans les structures polysaccharidiques. On peut citer, à titre d'exemple, l'acide L-guluronique (forme carboxylée du L-gulose) constitutif de l'alginate (ou acide alginique sous sa forme acide) qui est un copolymère linéaire d'acide  $\beta$ -D-mannuronique et d'acide  $\alpha$ -L-guluronique (**Tableau 4**) (Taubner et al., 2017).

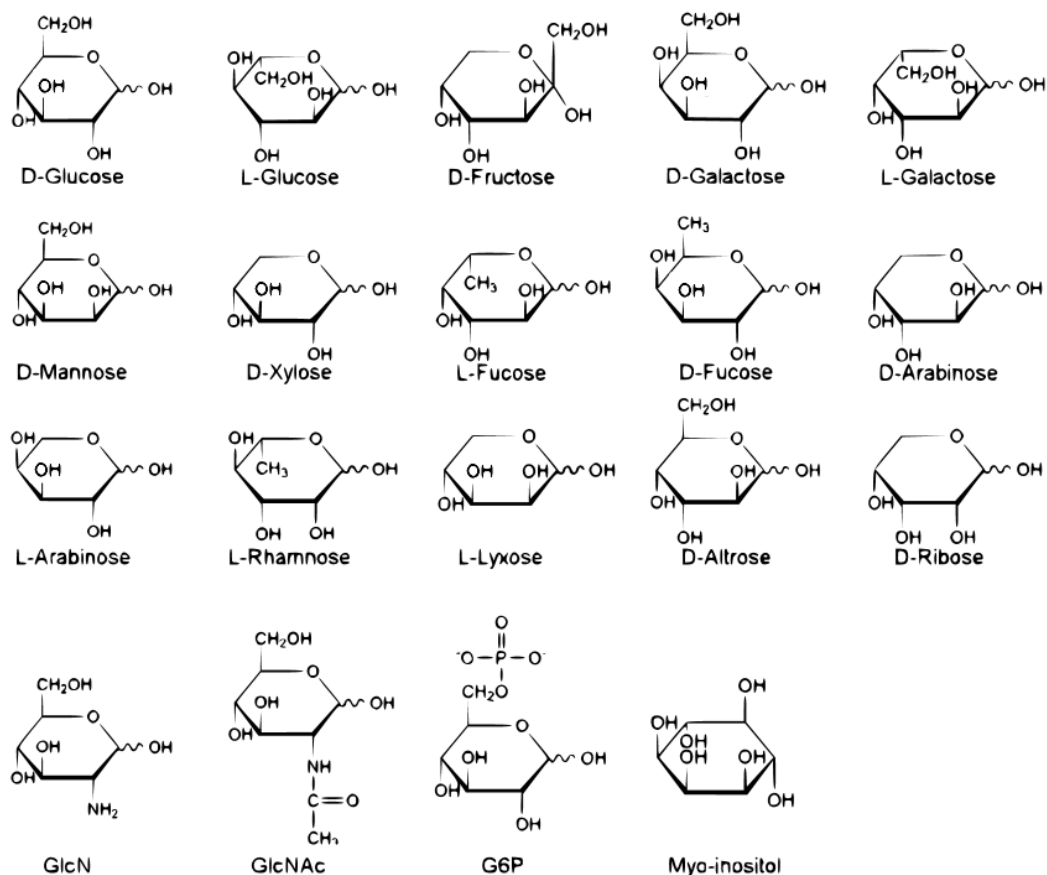
De même, on qualifie d'acide sialique (**Figure 13**) un dérivé de monosaccharide à 11 atomes de carbone présents chez tous les organismes vivants (surtout les animaux) et dont toutes les fonctions biologiques ne sont pas encore connues. L'acide sialique est issu de la condensation de l'acide pyruvique et du N-acétyl-D-mannosamine (Zubay et al., 1995).



**Figure 13.** Structure de l'acide sialique (source personnelle).

Les osamines (ou sucres aminés) sont des oses dont une fonction hydroxyle (-OH) est substituée par un groupement amine (-NH<sub>2</sub>) qui est fréquemment acétylé. Les osamines les plus répandues sont les hexosamines, dérivés du glucose ou du galactose par substitution du C-2, la glucosamine étant la plus répandue dans les milieux biologiques (par exemple au sein du chitosane désacétylé, **Tableau 4**). On trouve également en moindre abondance la galactosamine, la mannosamine, et la méglumine (1-désoxy-1-(méthylamino)-D-glucitol). Lorsque le groupement aminé a été acétylé (amidation) les sucres aminés sont qualifiés de N-acétylosamine comme la N-acétylgalactosamine ou la N-acétylglucosamine. Les osamines cumulent les propriétés des oses (réducteurs, formation de cycle) et des amines (caractère basique). On les trouve dans des polysaccharides tels que la chitine (**Tableau 4**), et sa forme désacétylée le chitosane, des champignons, autres crustacés et arthropodes, des peptidoglycanes bactériens (muréine) ou encore certains glycosaminoglycanes (Tasi, 2002). La **Figure 14** donne plusieurs exemples de monosaccharides retrouvés dans le monde du vivant, qu'ils soient libres ou constituants de polymères (oligo- et polysaccharides, protéoglycanes, glycoprotéines, etc.). Les osides résultent de la combinaison, par l'intermédiaire de liaisons dites O-glycosidiques, de plusieurs molécules d'oses. On distingue les hétérosides dont l'hydrolyse libère des oses et des composés non glucidiques (aglycone) et les holosides dont l'hydrolyse ne libère que des oses.

Les holosides sont séparés en deux sous familles : (i) les oligosides et (ii) les polyosides dont la différence se situe au niveau du nombre de monomères formant le polymère (Tasi, 2002). Ainsi les polyosides auront un nombre de monosaccharides supérieurs à 10 (degré de polymérisation  $D_p > 10$ ) alors que le  $D_p$  des oligosaccharides sera compris entre 2 et 10. On notera toutefois que certains auteurs utilisent encore le terme d'oligosaccharides pour désigner des polymères dont le  $D_p$  peut aller jusqu'à 20-25. Ces derniers suscitent depuis quelques années l'intérêt de la communauté scientifique pour leurs propriétés biologiques (cible récurrente d'activité biologique pour des  $D_p$  7, parfois appelé le « Magical  $D_p$  for activities »). A titre d'exemple, les oligosaccharides de chitosane de masse moléculaire inférieure à 10 kDa et solubles dans l'eau peuvent être facilement absorbés par l'intestin, entrant rapidement dans le sang (Xu et al., 2017). Ils sont alors susceptibles de développer de nombreuses activités biologiques telles que l'immuno-stimulation, des effets antimicrobiens ou encore des activités antitumorales (Xu et al., 2017). D'autres oligosaccharides tels que les  $\beta$ -D-(2→1) oligofructanes (FOS) présentent des activités prébiotiques très intéressantes (Singh et al., 2016).



**Figure 14.** Quelques exemples d'unités monosaccharides constitutives d'un certain nombre de polymères du vivant (adaptée de Deng et al., 2015).

Ces composés sont considérés comme des ingrédients alimentaires fonctionnels qui peuvent être utilisés comme fibre alimentaire et prébiotique, avec des effets bénéfiques significatifs sur la santé humaine (Lopes et al., 2016). Rappelons brièvement ([partie 2.3.2.1.2](#)) que les prébiotiques sont des oligosaccharides non digestibles, stimulant la croissance de bactéries bénéfiques du tractus digestif et améliorant la santé de l'hôte (Maaiwa et al., 2016). Enfin, on peut également citer l'activité des héparines de (très) faibles poids moléculaires qui présentent des propriétés anticoagulantes importantes et un fort potentiel de régulation dans des phénomènes angiogéniques (Achour et al., 2016).

### *2.2.1.2 Potentiel de la glycomique au 21<sup>ème</sup> siècle*

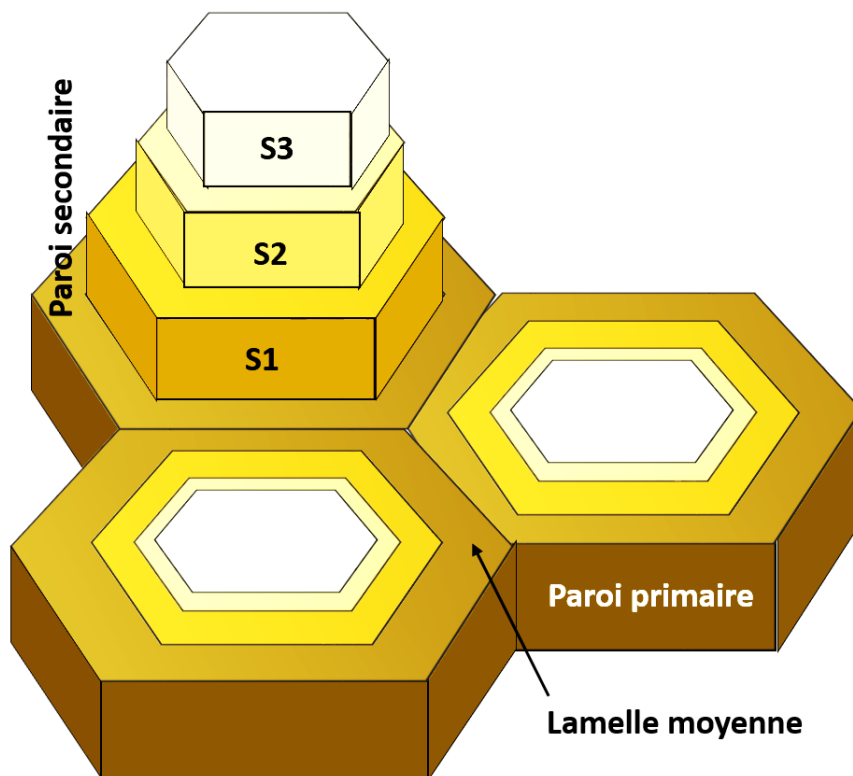
Le glycome désigne en biologie l'effectif total des glucides d'une cellule, d'un tissu ou d'un organisme, que ces sucres soient libres, polymérisés ou constitutifs de molécules complexes. Le glycome est probablement l'une des entités les plus complexes du monde vivant, bien au-delà du protéome, du transcriptome ou du génome. La glycomique est une nouvelle science holistique qui a pour mission le développement d'approches et d'outils analytiques globaux, dédiés au profilage et à la caractérisation structurale de l'ensemble des chaînes glucidiques exprimées dans un type cellulaire ou un fluide biologique à un instant « t » et dans des conditions données (Faid, 2008). Depuis que le génome humain est décodé, les scientifiques se sont surtout (et pourtant) intéressés à la nouvelle frontière que constitue la protéomique. La glycomique fonctionnelle s'avère cependant prometteuse et constitue le nouveau challenge des prochaines décennies pour l'identification de la variété moléculaire des polysaccharides et la compréhension de leurs rôles dans des fonctions biologiques. Ainsi, certains médicaments déjà sur le marché, telle que l'héparine, se sont révélés efficaces et mettent en avant l'importance des oligo- et polysaccharides au sein de nombreux mécanismes d'action biologique (Martin, 2004). La recherche et/ou le design de nouveaux médicaments grâce à la glycomique ouvre(nt) de nouvelles possibilités de traitement, sur un nombre très large d'activités biologiques ([partie 2.3.2](#)). Dans cette étude, l'intérêt s'est porté en particulier sur des polysaccharides extraits de plantes du Sahara, nécessitant une bonne compréhension (localisation, structure et rôle) des polysaccharides constitutifs des végétaux.

## 2.2.2 Les polysaccharides végétaux

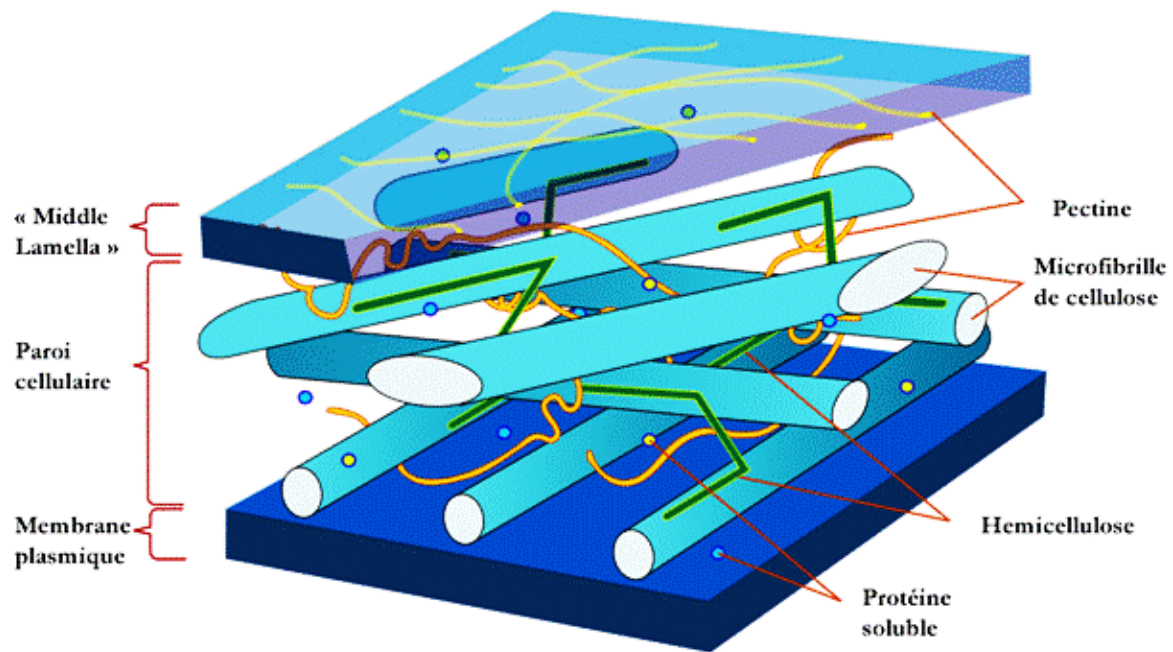
L'étude des polysaccharides végétaux passe en premier lieu par la prise de conscience de la très grande variabilité structurale en partie liée à leurs nombreuses fonctions biologiques. Le plus souvent séparés en trois catégories, on distingue (i) les polysaccharides de réserve (amidon, galactomannane) (ii) des polysaccharides de structure (celluloses, hémicelluloses, pectines) et (iii) des exsudats, gommés ou mucilages (gomme arabique) (Warrand, 2004). Notons que la différence entre gommés et mucilages reste aujourd'hui encore ambiguë puisque les premières sont plutôt collantes et proviennent de la surface des arbres alors que les seconds sont des hydrocolloïdes visqueux issus de graines ou de tissus souples (Voragen et al., 1995). Les polysaccharides constituant ces mucilages sont souvent polaires et très hydrophiles, de très haute masse molaire, hautement ramifiés et composés de différents monosaccharides (Peters, 2016). Le rôle physiologique du mucilage n'est pas négligeable puisqu'il permet à la plante d'absorber et stocker des quantités hydriques importantes. En cas de besoin, la libération progressive de l'eau vers d'autres tissus est possible en période de sécheresse. Inversement, en présence de quantités d'eau trop importantes, le gonflement du mucilage peut entraîner l'éclatement des tissus (Fabrice, 2008). Les mucilages extraits à partir de plantes du même genre que *Plantago notata* sont décrits comme des arabinoxylyanes (AX) ou des hétéroxylyanes. On peut notamment citer les travaux de Samuelsen et al. (1999), Yin et al. (2016b) et Yu et al. (2017) sur des espèces comme *Plantago ovata*, *Plantago major* ou *Plantago asiatica*. Ces derniers ont pu identifier, notamment par des extractions aqueuses à pH neutre (parfois couplées à des traitements alcalins), et caractériser des structures complexes, fortement ramifiées, contenant des proportions variables de L-Ara, D-Xyl, L-Rha, D-GalA ou encore D-GlcA. Les rendements d'extraction étaient toutefois assez faibles (< 10% m/m). Ces caractérisations structurales, qui ne sont que quelques exemples parmi les nombreux mucilages étudiés chez les Plantaginacées, illustrent bien le positionnement des mucilages dans la catégorie des polysaccharides de la paroi végétale. On pourra également rappeler le cas d'arabinogalactanes issus de conifères du genre *Larix* (Larch) classés à la fois comme gomme et comme hémicellulose. Il en est de même pour certains xyloglucanes extractibles à partir de graines de tamariniers par des traitements aqueux à chaud à pH neutre et/ou alcalin (Ebringerová et al., 2005). Par la suite, l'organisation de la paroi végétale sera présentée par type et famille de polysaccharides. Pour rappel, la structure de la paroi végétale varie selon les espèces végétales, l'âge et le type de tissus concernés.



De manière générale, on la considère comme une superposition de plusieurs couches de lignine, de celluloses, hémicelluloses et pectines. C'est l'association de ces polymères qui va fournir des propriétés mécaniques et physico-chimiques à la paroi. La **Figure 15** présente schématiquement la segmentation de la paroi cellulaire chez les végétaux supérieurs. La **Figure 16** montre également les interactions fortes entre les différents constituants de la paroi cellulaire des végétaux cités précédemment. Globalement, la partie squelettique de la paroi est composée de deux types de fibres polysaccharidiques : (i) les microfibrilles de cellulose, responsables de la rigidité de la paroi et (ii) les chaînes d'autres polysaccharides appelés collectivement hémicelluloses. Ces différentes chaînes de polysaccharides peuvent s'assembler suivant deux grands schémas architecturaux, constituant les deux grands types de paroi végétale.



**Figure 15.** Schématisation de la paroi cellulaire (adaptée de Muschitz, 2009).

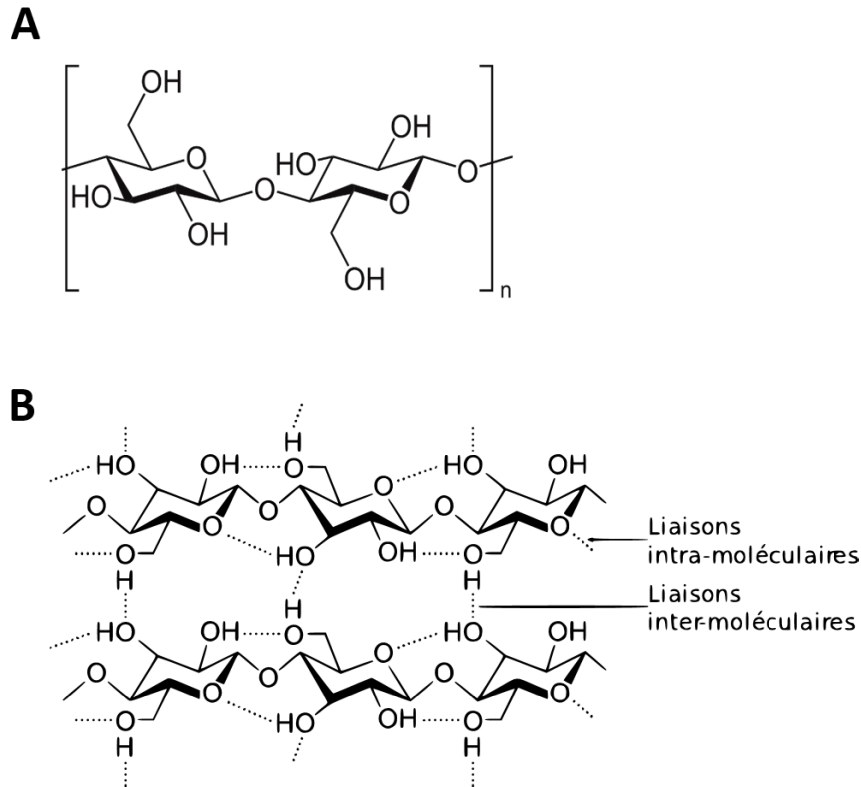


**Figure 16.** Représentation schématique des interactions des principaux polysides constituant la paroi d'une cellule végétale (Pérez et Mazeau, 2005). *La lamelle moyenne est essentiellement composée de pectines. La séparation paroi cellulaire-lamelle moyenne se fait grâce à des composés pecto-cellulosiques. La matrice complexe de protéines solubles, pectines, celluloses et hémicelluloses renforce la paroi.*

Le type I est rencontré chez la plupart des plantes dicotylédones et certaines monocotylédones (Dabin, 2008). La paroi végétale de type I est caractérisée par des quantités à peu près égales de xyloglucanes (XG) et de celluloses. Les XG se fixent aux chaînes de glucanes de la cellulose, permettant d'orienter la microfibrille, en jouant sur la distance séparant deux microfibrilles adjacentes, ou se lient entre eux. Le réseau XG-cellulose est de plus encapsulé dans un maillage de pectines (homogalacturonane) présentant une forte méthylestérification. Les pectines (partie 2.2.2.3) forment la partie amorphe de la paroi et comblent les espaces intracellulaires. Le type II est rencontré chez certaines plantes monocotylédones. Ce type présente une architecture semblable au type I, à cela près que les XG sont remplacés par des glucuronoarabinoxylanes (GAX). Ces structures sont en général pauvres en pectines mais des contributions de charges sont apportées par les résidus glucuroniques de la chaîne de GAX. De plus, ces parois contiennent généralement peu de protéines structurales en comparaison avec le type I. Les parois de type II peuvent cependant accumuler une forte réticulation en développant avec l'âge des réseaux de phénylpropanoïdes (Dabin, 2008).

### 2.2.2.1 Les celluloses

Polymère considéré comme le plus abondant sur terre (plus de 50% de la biomasse terrestre), il est le constituant principal de la paroi cellulaire des végétaux (Saxena et Brown, 2005). A titre d'exemple, le coton est constitué de fibres de cellulose pratiquement pures. La cellulose est un homoglycane formé par l'enchaînement de résidus D-Glcp liés en  $\beta$ -(1,4) (**Figure 17**). Cette jonction rigide confère au polymère une structure secondaire en feuillet permettant l'établissement de réseaux de liaisons hydrogènes intra- et intermoléculaire. Ces liaisons hydrogènes combinées avec des forces de Van der Waals entraînent une cristallisation des chaînes de polymères pour former des fibres tridimensionnelles. Du fait de cette cristallinité, la cellulose est extrêmement résistante et insoluble dans l'eau malgré le caractère hydrophile des monomères qui la composent. Les molécules de cellulose peuvent contenir plus de  $1.10^4$  résidus Glcp et atteindre un poids moléculaire de  $2 \times 10^5$  g/mol pour une longueur de 6 à 8  $\mu\text{m}$  (Somerville, 2006 ; Ruff, 2008). 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 néosynthétisées s'associent en microfibrilles rigides et cristallines de 3  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (Cosgrove, 2005 ; Somerville, 2006). 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. Le degré de polymérisation (DP) des celluloses varie fortement en fonction des origines et des traitements subis pour leurs obtentions. Par exemple, du coton natif présentera des DP allant jusqu'à 12000 alors que le DP sera de 3050 pour de la pâte de hêtre ou de 2750 pour de la cellulose bactérienne (Klemm et al., 1998). Isogai (1994) a mis en évidence 4 états polymorphiques (I à IV) de la cellulose sur la base de la diffraction aux rayons X. La cellulose I (cellulose native), elle-même constituée de 2 allomorphes (I $\alpha$  et I $\beta$  (le plus stable)) cristallisés, est caractérisée par un arrangement parallèle des chaînes moléculaires. La cellulose II provient de la cellulose I après un traitement irréversible par de la soude. Cette forme de cellulose est caractérisée par un arrangement antiparallèle des chaînes dans une maille cristalline. La cellulose III est obtenue par des 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. Enfin, 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.



**Figure 17.**(A)Structure de la cellulose et (B) organisation des liaisons hydrogènes intra- et interchaînes (source personnelle). Deux unités Glcp successives sont décalées de  $180^\circ$  l'une par rapport à l'autre ce qui explique la linéarité de la macromolécule, stabilisée par ces liaisons hydrogènes. Le principal type de liaison hydrogène intrachaîne a lieu entre le groupe hydroxyle du C-3 d'une unité Glcp et l'oxygène du cycle du monomère adjacent. On assiste également à la création de liaisons hydrogènes entre l'hydrogène (OH) du groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$  du C-6 d'une unité Glcp et l'oxygène du groupement OH porté par le C-2 de l'unité glucose adjacente. Concernant les liaisons intermoléculaires, elles apparaissent essentiellement entre l'hydrogène (OH) du groupe  $\text{CH}_2\text{OH}$  et l'oxygène de l'hydroxyle en C-3 d'une unité glucose porté par une autre chaîne.

### 2.2.2.2 Les hémicelluloses

Les hémicelluloses, représentant en moyenne jusqu'à 50% de la biomasse des plantes vivaces, suscitent l'intérêt de la communauté scientifique et des industriels dans un contexte de bioraffinage des matières végétales (Ruff, 2008). De nature hétéropolymérique (glucomannanes, glucuronoxylanes, glucuronoarabinoxylanes, arabinoxylanes, xyloglucanes), il existe également quelques hémicelluloses homopolymériques comme des mannanes, xylanes et  $\beta$ -glucanes (Habibi, 2004 ; Moine, 2005). Les hémicelluloses peuvent donc être divisées en quatre grandes classes, à savoir (i) les xylanes, (ii) les mannanes, (iii) les xyloglucanes et (iv) les  $\beta$ -glucanes à liaisons mixtes (Ruff, 2008).

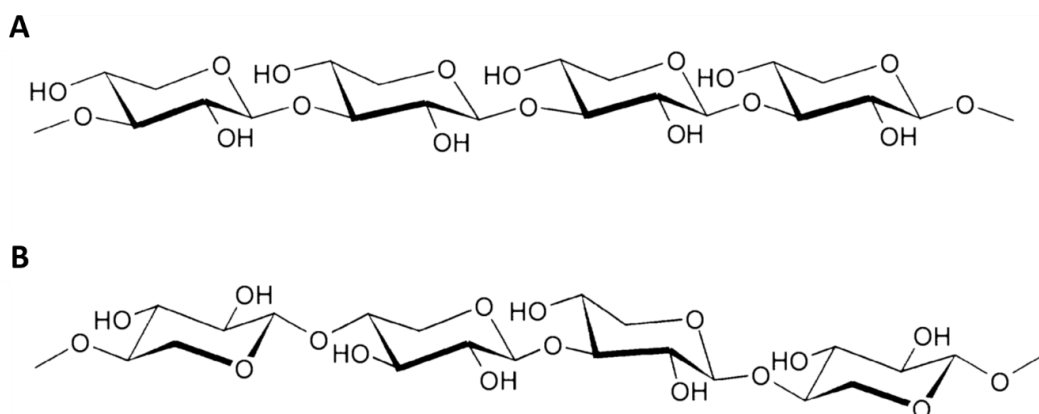
Constituées de monosaccharides neutres (Xyl, Ara, Man, Glc, Gal) et d'acides uroniques (GlcA, 4-Me-GlcA), les hémicelluloses sont extractibles et solubilisables à pH alcalin (Selvendran et al., 1985). Les hautes concentrations alcalines combinées à de fortes températures permettent d'obtenir d'excellents rendements d'extraction, souvent au détriment de la cellulose qui subit une transformation allomorphique vers la forme II.

#### 2.2.2.2.1 Xylanes

Les xylanes sont des hétéropolymères constitués d'une chaîne principale de D-Xylp liés en  $\beta$ -(1,4), plus ou moins branché par des chaînes oligosaccharidiques ou des résidus terminaux (Aouar, 2007). On dénombre des résidus tels que L-Ara, D-GlcA, D-Glc, D/L-Gal, L-Rha ou même 4-O-Me. Les xylanes peuvent être séparés en plusieurs catégories, à savoir (i) les homoxylyanes et (ii) les hétéroxylanes qui incluent les glucuronoxylanes, les (arabino)glucuronoxylanes, les (glucurono)arabinoxylanes, les arabinoxylanes et les hétéroxylanes complexes (Ebringerová et al., 2005). Le **Tableau 5** donne une assez bonne vision de l'origine, composition et variabilité structurale des xylanes dans la littérature.

##### 2.2.2.2.1.1 Homoxylyanes

Les véritables homoxylyanes purs sont présents chez des algues comme *Palmariales*, *Caulerpa*, *Pryopsis* ou *Nemaliales* (Ebringerová et al., 2005). Ils sont constitués d'un squelette de D-Xylp liés en  $\beta$ -(1,3) ou d'une alternance  $\beta$ -(1,3)/ $\beta$ -(1,4) (**Figure 18**). Ils jouent essentiellement un rôle structural dans l'architecture (Ebringerová et Heinze, 2000). De faibles quantités de groupements phosphate, sulfate et quelques fragments peptidiques ont également été rapportés dans ces structures (Deniaud et al., 2003).



**Figure 18.** Structures principales des homoxylyanes de type (A) $\beta$ -(1,3)-D-xylane et (B) $\beta$ -(1,3,1,4)-D-xylane (Ebringerová et al., 2005).

**Tableau 5.** Origine et diversité structurale des xylanes dans la littérature (source personnelle).

Type	Sources	Structure principale	Monosaccharides	Références
Homoxylanes	Pâte de Kraft	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp	Xyl	Grace et al. (2012)
	Guar	$\beta$ -(1,4)- D-Xylp	Xyl	Sajjan et Salimath. (1986)
	<i>Mauritia flexuosa</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp	Xyl	Cordeiro et al. (2015)
Glucuronoxylanes	<i>Euterpe oleraceae</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp GlcA	Xyl, GlcA	Cantu-Jungles et al. (2016)
	<i>Mahonia aquifolium</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp 4-O-Me-GlcA	Xyl, 4-O-Me-GlcA	Kardosova et al. (2002)
	Pâte de Kraft	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp 4-O-Me- $\alpha$ -D-GlcA	Xyl, 4-O-Me- $\alpha$ -D-GlcA	Pinto et al. (2005)
(Arabino)glucuronoxylanes	<i>Cryptomeria japonica</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp 4-O-Met- $\alpha$ -D-GlcA	Xyl, Ara, GlcA, 4-O-Me-GlcA	Yamasaki et al. (2012)
	Céréales	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp 4-O-Me- $\alpha$ -D-GlcA-B-L-Araf	Xyl, Ara, GlcA, 4-O-Me-GlcA	Gírio et al. (2010)
	Bois de hêtre	L-arabino-4-O-méthyl-D- glucurono-D-xylane	Xyl, Ara, GlcA, 4-O-Me-GlcA	Strnad et al. (2013)

Tableau 5 (suite).

Type	Sources	Structure principale	Monosaccharides	Références
(Glucurono)arabinoxylanes	<i>Ananas comosus</i> (L.) Merrill	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp	Xyl,Ara,Gal,GlcA	Simas-Tosin et al. (2013)
	<i>Livistona chinensis</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp 4-O-Me- $\alpha$ -D-GlcA $\alpha$ -Fucp-(1→2)-Araf	Xyl, Ara, Rha, Fuc, Gal, Glc, GlcA	Maurer-Menestrina et al. (2003)
	<i>Phyllostachys aurea</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp T- $\alpha$ -L-Araf $\alpha$ -D-GlcA	Xyl, Ara, GlcA	Zelaya et al. (2017)
Arabinoxylanes	<i>Plantago asiatica</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp $\beta$ -(1,2,4)-D-Xylp $\beta$ -(1,3,4)-D-Xylp	Xyl, Ara	Yin et al. (2012b)
	Aleurone de blé	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp	Xyl, Ara	Malunga et al. (2017)
	<i>Plantago ovata</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp L-Araf- $\alpha$ -(1→3)- $\beta$ -D-Xylp	Xyl, Ara,	Fischer et al. (2004)

Tableau 5 (suite).

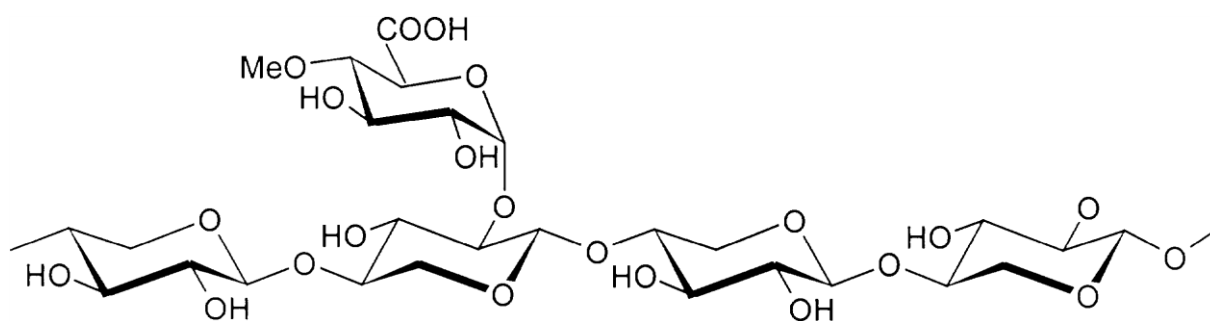
Type	Sources	Structure principale	Monosaccharides	Références
Hétéroxylyanes complexes	<i>Plantago notata</i>	$\beta$ -(1,3)/(1,4)-D-Xylp $\alpha$ -L-Araf-(1,3)- $\beta$ -D-Xylp $\beta$ -D-Xylp-(1,2)- $\beta$ -D-Xylp	Xyl, Rha, Ara, GalA	Benaoun et al. (2017)
	<i>Sophora subprostrata</i>	B-(1,4)- D-Xylp L-Araf-(1→5)-L-Araf(1→ 4-O-Me-D-GlcA(1→ D-GlcA(1→	Xyl, Ara, 4-O-Me-GlcA, GlcA	Dong et al. (1999)
	<i>Plantago major</i>	$\beta$ -(1,4)-D-Xylp $\beta$ -D-Xylp, $\alpha$ -L-Araf $\alpha$ -L-Araf-(1→3)- $\beta$ - D-Xylp $\alpha$ - D-GlcpA-(1→3)- $\alpha$ -L-Araf	Xyl, Ara, GlcA, GalA, Gal, Glc	Samuelsen et al. (1999)



### 2.2.2.1.2 Hétéroxylyanes

#### **Glucuronoxylanes :**

La plupart des glucuronoxylanes (GX) possèdent des résidus 4-*O*-Me- $\alpha$ -D-GlcA branchés en position *O*-2 des chaînes principales de Xylp. En moyenne, les unités Xylp sont ramifiées tous les 9 à 10 résidus (Pujol et al., 2016). Ce type structurel est en général noté MGX (**Figure 19**). Ebringerová et al., 2005 reportent également la présence de GlcA non méthylés au sein des chaînes latérales de 4-*O*-Me- $\alpha$ -D-GlcA. En général, le ratio Xyl : MeGlcA varie entre 4 : 1 et 16 : 1 en fonction des espèces concernées (mais surtout des protocoles d'extraction et de purification utilisés). La présence d'unités  $\alpha$ -D-Gal a également été reportée dans la littérature, notamment au sein de l'espèce *Eucalyptus globulus* (Evtuguin et al., 2003). Ebringerová et Heinze (2000) ont également rappelé dans leur revue la présence d'unités additionnelles T-Rhap et T-Araf sur les chaînes latérales de GX de plantes médicinales (*Althaea officinalis*, *Rudbeckia fulgida*, *Hibiscus cannibinus*).



**Figure 19.** Structure principale des 4-*O*-méthylglucuronoxylanes (Ebringerová et al., 2005).

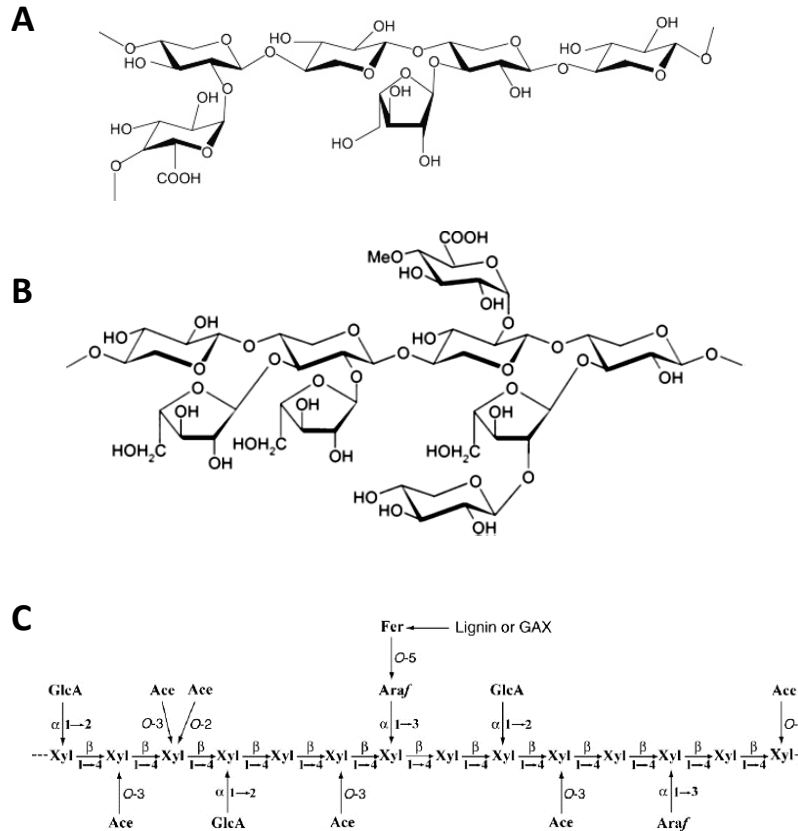
Ils notent aussi la présence de groupements acétyle (3-13%), qui sont d'ailleurs souvent éliminés lors des procédures d'extraction alcaline. Les unités Xylp sont concernées par ces acétylations à des degrés variables, allant de 0,3 à 0,6, sans motif de répétition. De nombreux MGX ont été identifiés au sein de fruits et d'organes de stockage d'espèces telles que *Luffa cylindrica* (Vignon et Grey, 1998), *Phoenix dactylifera* (Ishurd et al., 2003), *Opuntia ficus-indica* (Habibi et al., 2002), *Cydonia cylindrica* (Vignon, 1997) ou encore *Simmondsia chinensis* (Watanabe et al., 1999).

### (Arabino)glucuronoxylanes et (glucurono)arabinoxylanes :

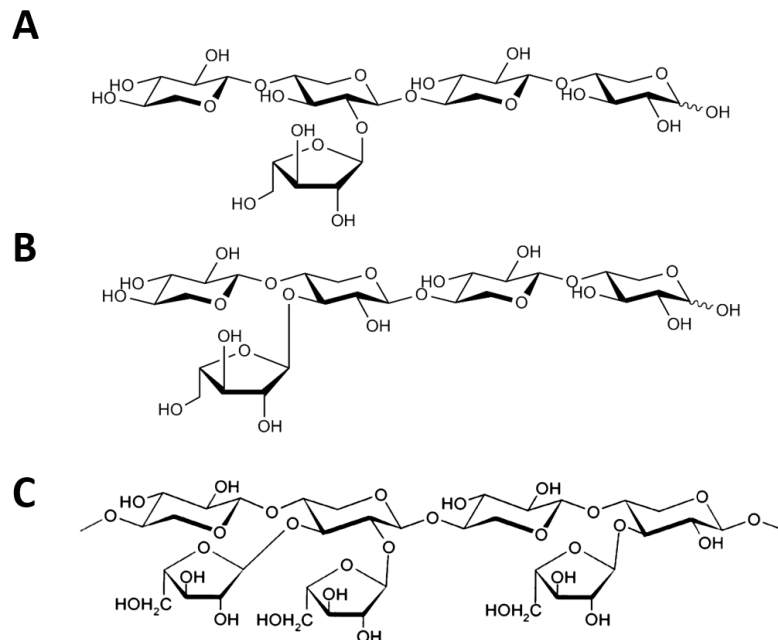
Les (arabino)glucuronoxylanes (AGX) et (glucurono)arabinoxylanes (GAX) possèdent des résidus MeGlcA et  $\alpha$ -L-Ara attachés en positions *O*-2 et *O*-3 respectivement sur la chaîne principale de Xylp, ainsi que quelques groupements acétyle situés de part et d'autre du polymère. Les AGX sont en général retrouvés au sein des conifères et sont souvent plus substitués (MeGlcA notamment) que les MGX des feuillus. On retrouve également les AGX au sein de la paroi cellulaire des tissus riches en lignine de certaines graminées et céréales (Ebringerová et Heinze, 2000). En contraste, les GAX contiennent pour la plupart 10 fois moins de résidus MeGlcA que d'unités  $\alpha$ -L-Araf avec parfois des Xylp doublement substitués. On les retrouve essentiellement dans le tissu non-endospermique des graines de céréales (blé, son de riz). La présence de chaînes disaccharidiques supplémentaires, *i.e.*  $\beta$ -D-Xylp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ ) (Stephen, 1983) ou  $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ ) (Ishii, 1997), complète ces différences structurales entre AGX et GAX. De manière générale, la **Figure 20** présente quelques exemples de structures reportées dans la littérature pour les AGX et GAX.

### Arabinoxylanes :

Les arabinoxylanes (AX) sont très couramment identifiés au sein de nombreux céréales, qui vont du blé au riz en passant par le seigle, l'orge, le sorgho ou encore le lin (Hoffman et al., 1992 ; Izydorczyk et al., 1998 ; Han, 2000 ; Nandini et Salimah, 2001 ; Naran et al., 2008). On les retrouve également au sein de plantes comme les pousses de bambou (Ebringerová et al., 2005) ou dans le mucilage des enveloppes externes de graines du genre *Plantago* (Saghir, 2008). On classe les AX comme des polysaccharides neutres mais aussi légèrement acides, bien que ces derniers devraient dans ce cas être inclus dans le groupe des GAX. Les AX ont un squelette linéaire mono- et di-substitué par des résidus  $\alpha$ -L-Araf en positions *O*-2 et *O*-3 des unités Xylp (**Figure 21**). On trouve également associés à cette structure des acides phénoliques (acides férulique et coumarique) souvent estérifiés en position *O*-5 des Araf (Rao et Muralikrishna, 2001). Les AX (en particulier de céréales) peuvent être divisés en deux grands groupes, à savoir les (i) non extractibles à l'eau et (ii) les extractibles à l'eau. Les hydrosolubles sont faiblement connectés à la surface de la paroi cellulaire et sont une partie mineure des AX totaux. Les non-extractibles représentent quant à eux la partie la plus abondante des AX et se trouvent dans la paroi cellulaire liés à d'autres composants par des liaisons covalentes et non covalentes (Sánchez-Bastardo et al., 2017). Dans les faits, cette distinction est plus complexe et doit prendre en compte le degré de substitution (qui affecte la solubilité), la masse molaire et les motifs de répétition.



**Figure 20.** Structures principales (A) des arabinoglucuronoxylanes (résineux) (Zvievly, 2013), (B) des arabinoglucuronoxylanes hydrosolubles (Ebringerová et al., 2005) et (C) des glucuronoarabinoxylanes (canne de maïs) (Dhugga, 2006).



**Figure 21.** Structures principales d'arabinoxylanes (A) monosubstitués en position O-2 (source personnelle), (B) monosubstitués en position O-3 (source personnelle) et (C) disubstitués en positions O-2 et O-3 des résidus Xyl $\beta$  par des unités  $\alpha$ -L-Araf (Ebringerová et al., 2005).

On peut alors séparer les AX en trois groupes plus restrictifs, *i.e.* (i) les AX monosubstitués insolubles dans l'eau, (ii) les AX solubles dans l'eau avec des ratios Ara/Xyl compris entre 0,5 et 0,9 et des séquences plus courtes de Xylp di-substitués et (iii) les autres AX solubles avec des ratios Ara/Xyl pouvant monter jusqu'à 1,2 et un nombre plus conséquent de résidus Xylp di-substitués (Nilsson et al., 1996).

### **Hétéroxylyanes complexes :**

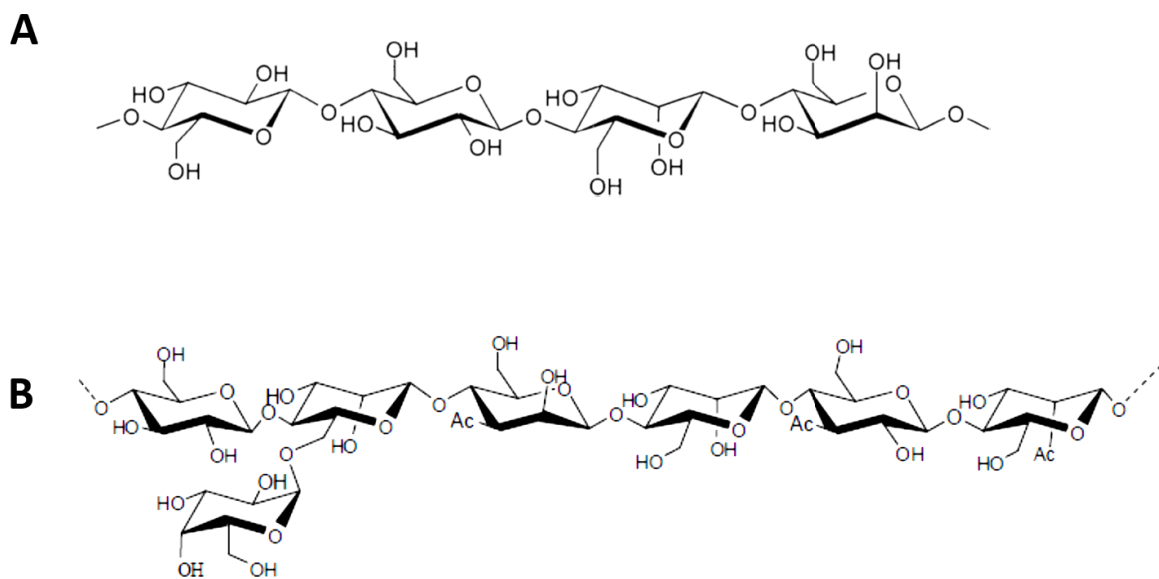
Les hétéroxylyanes (CHX), présents dans les céréales, les graines, les exsudats ainsi que les mucilages, possèdent des structures très complexes qui rendent difficiles l'élucidation de leurs structures (Stephen, 1983). L'enchaînement classique de résidus D-Xylp liés en  $\beta$ -(1,4) est plus ou moins décoré par des monosaccharides terminaux et des chaînes oligosaccharidiques. Sont identifiées en général dans la littérature des substitutions par des résidus  $\alpha$ -L-Araf,  $\beta$ -D-Xylp,  $\alpha$ -D-Glcp en position(s) O-2 et/ou O-3, avec une variabilité très importante en termes de motifs de répétition, degrés de substitution, etc. Le **Tableau 6** illustre cette forte hétérogénéité structurale des ramifications des CHX. De nombreux CHX sont décrits dans la littérature, *e.g.* extraits des espèces de *Litsea* (Ebringerová et Hromádková, 1999) ou du genre *Plantago* comme *P. ovata* (Pawar et Varkhade, 2014), *P. notata* (Benaoun et al., 2017), *P. asiatica* (Yin et al., 2016b) ou *P. major* (Fischer et al., 2004). A titre d'exemple non exhaustif, un CHX composé d'un motif de répétition et d'enchaînement liés en  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp/ $\beta$ -(1,3)-D-Xylp a été caractérisé, ainsi que ses nombreuses chaînes latérales de  $\beta$ -D-Xylp (sous la forme de xylo-trisaccharides liés en 1,4 et de xylo-oligosaccharides de DP 6 à 11) mais aussi de  $\alpha$ -L-Araf (Samuelsen et al., 1999).

**Tableau 6.** Exemples de chaînes oligosaccharidiques décorant des hétéroxylyanes (source personnelle).

<b>Chaînes oligosaccharidiques</b>	<b>Références</b>
$\beta$ -d-Galp-(1→5)- $\alpha$ -l-Araf-(1→	Saulnier et al. (1995)
L-Galp-(1→4)- $\beta$ -D-Xylp-(1→2)- $\alpha$ -L-Araf-(1→	Saulnier et al. (1995)
$\alpha$ -L-Araf-(1→3)- $\beta$ -D-Xylp-(1→	Samuelsen et al. (1999)
$\alpha$ -D-GlcpA-(1→3)- $\alpha$ -L-Araf-(1→	Samuelsen et al. (1999)
$\alpha$ -L-Araf-(1→3)- $\beta$ -D-Xylp-(1→)- $\alpha$ -L-Araf-(1→	Samuelsen et al. (1999)
$\alpha$ -L-Araf(1→5)-L-Araf-(1→	Dong et al. (1999)
(1→2)-4-O-Me- $\alpha$ -D-GlcpA	Evtuguin et al. (2003)

#### 2.2.2.2.2 Mannanes

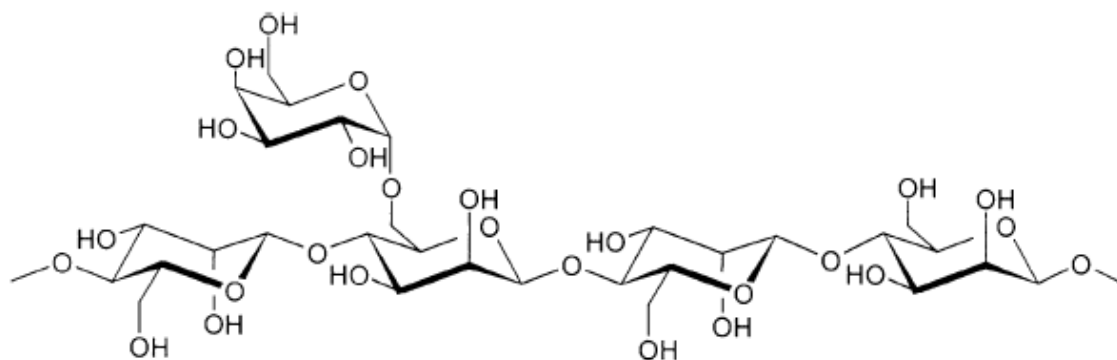
Les mannanes peuvent être séparés en deux groupes comprenant (i) les galactomannanes (GaM) et (ii) les glucomannanes (GM) et galactoglucomannanes (GGM). Les premiers, présents au sein de nombreuses graines végétales sont considérés comme des polysaccharides de stockage et non directement associés aux hémicelluloses. Les GM et GGM possèdent, quant à eux, un squelette carboné composé à la fois des résidus D-Man<sub>p</sub> liés en  $\beta$ -(1,4) et D-Glc<sub>p</sub> liés en  $\beta$ -(1,4) (**Figure 22**). Les chaînes latérales peuvent être composées de résidus  $\alpha$ -D-Galp liés en position O-6 sur la chaîne principale de mannane, en différentes proportions selon les types de polymères. Si l'on considère la valeur seuil de 15% d'unité Galp, il est ainsi possible de distinguer les GM des GMM (Stephen, 1983). On notera également la présence de groupements acétyle qui substituent les positions O-2 et O-3 des Man<sub>p</sub>. Sans être de nature cristalline, ces macromolécules possèdent une conformation proche de la cellulose avec le même polymorphisme.



**Figure 22.** Structure des (A) glucomannanes et (B) galactoglucomannanes (Mounguengui, 2008 ; De Cherisey, 2015).

Les GM et GMM, qui ont été très étudiés dans les années 1960, sont des composants communs au sein de la paroi cellulaire végétale. Chez le bois tendre, ils sont les constituants principaux de l'hémicellulose au sein de la paroi cellulaire secondaire tandis qu'ils sont beaucoup moins présents chez les feuillus.

Thomas et al. (1983) ont également suggéré leur présence avec des xylanes et fucogalactoxyloglucanes dans la paroi cellulaire primaire de plantes supérieures. Les GMM sont en général la famille dominante dans les bois de résineux (De Cherisey, 2015). Extractibles en conditions alcalines, les GM et GMM de la paroi cellulaire secondaire présentent souvent un degré de substitution faible par des Galp à l'inverse de ceux extraits en condition aqueuse à pH neutre où les proportions de Glcp et Galp sont beaucoup plus importantes (Sjöström, 1993 ; Schröder et al., 2001). La proportion entre Glcp, Galp et Manp est beaucoup plus pondérée pour des GM et GMM issus de la paroi cellulaire primaire (Thomas et al., 1983). Cette diversité se reflète également au travers de travaux assez récents (Hongshu et al., 2002) qui ont mis en évidence des GM hémicellulosiques contenant 26-64% de Man et 1,4-2,2% de Gal au sein d'une graminée vivace (*Boehmeria nivea*). Les graminées sont pourtant plutôt décrites pour une prédominance des xylanes au sein de l'hémicellulose dans la littérature (Ebringerová et Heinze, 2000). En outre, il semble important de rappeler que les mannanes sont également des substances de réserve chez les graines de nombreux végétaux (endospermes de graines chez les légumineuses). On les trouve également dans les bulbes de certaines plantes comme c'est le cas pour la gomme Konjac. Il en va de même pour les GaM extractibles à partir de graines (par exemple chez le genre *Astragalus*). Bien évidemment, ils ne sont pas à considérer comme des hémicelluloses même s'ils sont structurellement proches (Hoch, 2007). Brièvement, le GM Konjac (issu d'*Amorphophallus konjac*) se compose d'une séquence de Manp séparés par des unités Glcp avec des groupements acétyl tous les 6-19 résidus Glcp (Nishinari et al., 2006 ; Petera, 2016). Les GaM se composent également d'une séquence de Manp avec des branchements d'unités  $\alpha$ -Galp en position O-6 (**Figure 23**).



**Figure 23.** Structure générale des galactomannanes (Ebringerová et al., 2005).

Ces derniers sont séparés en plusieurs catégories en fonction du rapport M/G (qui correspond au ratio D-Manp/D-Galp). Ce rapport ainsi que la taille des chaînes macromoléculaires varient en fonction des espèces végétales, des conditions climatiques, de la variété, de l'âge, des conditions de culture mais aussi d'extraction (Bouzouita et al., 2007 ; Moreira et al., 2008 ; Dakia, 2009). Le **Tableau 7** donne quelques exemples de sources de GaM extraits de graines.

**Tableau 7.** Exemples de sources de galactomannanes extraits de graines (source personnelle).

Nom (gomme)	Sources	Ratio M/G	Références
Fenugrec	<i>Astragalus armatus</i> <i>Trigonella foenum-graecum</i> <i>Leucaena leucocephala</i>	≈ 1/1	Boual et al. (2015b) Lurian et al. (2017) Mittal et al. (2016)
Guar	<i>Astragalus gombo</i> <i>Cyamopsis tetragonoloba</i> <i>Prosopis juliflora</i> <i>Sesbania marginata</i>	≈ 2/1	Chouana et al. (2017) Gresta et al. (2017) Rincón et al. (2014) Buckeridge et Dietrich, (1996)
Tara	<i>Schizolobium amazonicum</i> <i>Caesalpinia spinosa</i> <i>Cassia obtusifolia</i> <i>Cordyceps sinensis</i>	≈ 3/1	De Padua et al. (2017) Santander et al. (2011) Feng et al. (2017) Nie et al. (2013a) Wang et al. (2017a)
Caroube	<i>Bauhinia monandra</i> <i>Caroube</i>	≈ 4/1	Nwokocha et al. (2017a) Gillet et al. (2014)
Casse	<i>Delonix regia</i> <i>Senna tora</i>	≈ 5/1	Nwokocha et al. (2017b) Pawar et Lalitha (2014)

#### 2.2.2.2.3 Xyloglucanes

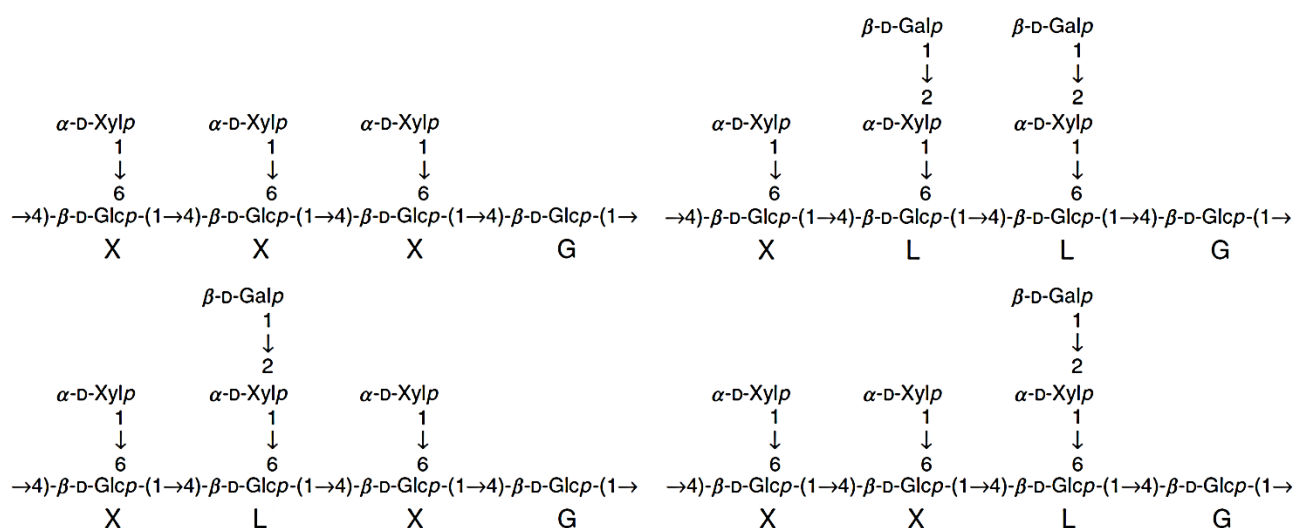
Les XG sont des polysaccharides présents au sein de la paroi cellulaire des plantes supérieures. Classés parmi les hémicelluloses, ils sont les plus abondants en masse dans la paroi végétale primaire de la plupart des plantes vasculaires, « englués » au sein de la matrice faite de pectines et d'hémicelluloses qui entourent les microfibrilles de celluloses.

Plus précisément, les XG représentent environ 20-25% de la paroi cellulaire primaire dans les angiospermes dicotylédones (*e.g. Sycamore, Arabidopsis thaliana*), moins de 5% chez les graminées (angiospermes monocotylédones), environ 10% dans la paroi des bulbes d'oignons (angiospermes monocotylédons) et jusqu'à 10% dans la paroi cellulaire primaire de certains conifères (gymnospermes) (Ebringerová et al., 2005). On les trouve également dans certaines graines d'arbres et végétaux, *e.g. Tamarindus, Hymenia* ou *Impatiens*, et sont dans ce cas plutôt classés comme des polymères de stockage. Ils possèdent alors des masses molaires proches du million de g/mol (Ralph et al., 1994).

La forte relation structurale entre celluloses et XG au sein des parois cellulaires végétales rend difficile leur extraction et nécessite des conditions alcalines fortes, souvent en combinaison avec l'utilisation d'agent chaotropique (Fry, 1989). Dans la littérature, c'est l'existence d'interactions hydrogène fortes et de nombreuses liaisons covalentes fixant les XG dans les cellules, *e.g.* (i) des esters avec les groupements carboxyle des pectines, (ii) des liaisons alcali-résistante avec les pectines/xylanes/ $\beta$ -glucanes ou (iii) des éthers benzyliques avec des composés phénoliques, qui a été mise en cause pour expliquer ces phénomènes (Tenkanen et Siika-aho, 2000 ; Kabel et al., 2003). On peut toutefois noter (et en contradiction) que si les XG sont présents dans des graines (stockage), ils sont plus facilement extractibles, notamment par des traitements aqueux à chaud. Constituée d'une chaîne principale de  $\beta$ -(1,4)-D-glucose, la structure des XG présente également des substituions d'une partie des résidus Glc en position O-6 par des résidus  $\alpha$ -D-xylose. Cette structure est globalement conservée au sein de tous les XG même si on observe des différences (résidus supplémentaires notamment) en fonction des sources végétales (Nishinari et al., 2009). Encore aujourd'hui, ce sont les XG des graines de tamarin (TSX) qui restent les plus étudiés. On reporte d'ailleurs quatre types d'unités de répétition qui diffèrent en nombre mais aussi par rapport aux résidus Gal substituant les unités Xyl (Nishinari et al., 2009). Ces variations structurales vont modifier la fonctionnalité et les propriétés physico-chimiques des XG ; en particulier les résidus Gal mais aussi d'autres résidus supplémentaires (Fuc, Ara), impactant ainsi sur la solubilité des polymères (Nishinari et al., 2009). Plusieurs espèces ont été reportées dans la littérature pour leur contenu en XG, à savoir *Ipomoea pupurea*, *Ocimum basiculum*, *Capsicum annum*, *Lycopersicon esculentum* ou *Plantago major*. Hoffman et al. (2005) ont identifié précisément la structure de plusieurs XG extraits de différentes plantes.



A titre d'exemple, ils ont montré que l'unité de répétition chez *Lactuca sativa* ou *Daucus carota* était de type XXXG avec une unité de répétition  $\alpha$ -D-Xylp,  $\beta$ -D-Galp-(1,2)- $\alpha$ -D-Xylp et des ramifications de type  $\alpha$ -L-Fucp-(1,2)- $\beta$ -D-Galp-(1,2)- $\alpha$ -D-Xylp. La **Figure 24** synthétise la structure chimique des unités de répétition au sein des XG étudiés dans ces travaux. Au sein des espèces *Solanaceae*, les auteurs ont plutôt identifié des structures de type XXGG (Vincken et al., 1996 ; Vincken et al., 1997). De manière générale, on peut retenir que la paroi cellulaire primaire contient essentiellement des XG de type XXXG avec des trisaccharides ramifiés au squelette principal (Vincken et al., 1997 ; Yamagaki et al., 1997). Au sein des graines, on retrouve également des XG de type XXXG où environ 30% des Xylp possèdent un résidu  $\beta$ -D-Gal attaché en position O-2 (Ebringerová et al., 2005). La plupart des XG n'auront pas de résidu Fuc et Gal mais pourront présenter des unités  $\alpha$ -L-Araf attachés en position O-2 sur certains Xylp des chaînes latérales, comme c'est le cas dans les travaux de Huisman et al. (2000) et Vierhuis et al. (2001).

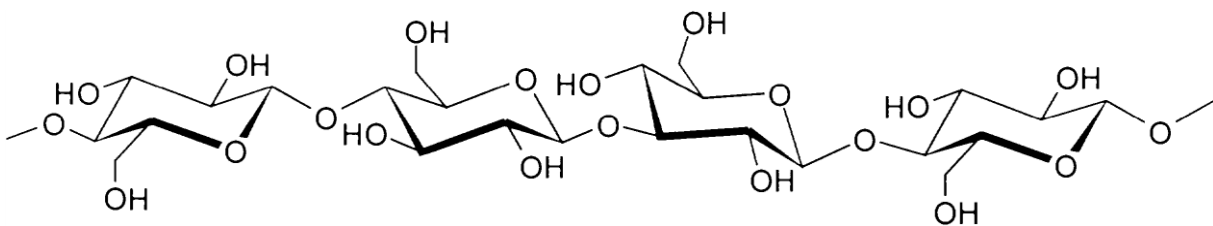


**Figure 24.** Structure des unités de répétition des xyloglucanes (Nishinari et al., 2009).

#### 2.2.2.2.4 $\beta$ -D-glucanes à liaisons mixtes

Les  $\beta$ -D-glucanes à liaisons mixtes sont uniques aux plantes monocotylédones de l'ordre des Poales. Ils font partie de la composition hémicellulosique des grains de céréales au sein des parois cellulaires subaleurone et endospermique (Wood et al., 2003). Ils ont également été identifiés au sein de tissus non-endospermique de graminées monocotylédones (Ramesh et Tharanathan, 1999). A titre indicatif, on peut noter l'existence de structure proche (lichénane) au sein du lichen *Cetraria islandica* (Wood et al., 1994).

Ce dernier se compose d'ailleurs de séquences cellotriosyle (78%), de segments de cellotétraose (4%) et de plus longs segments cellulose (18%) (Ruff, 2008). La caractérisation structurale des  $\beta$ -D-glucanes a été très largement étudiée depuis ces dernières décennies. Ils sont composés d'unités D-Glcp reliées par des liaisons  $\beta$ -(1,3) et  $\beta$ -(1,4) en général à hauteur de 30 et 70% respectivement. Les motifs de répétition des séquences  $\beta$ -(1,4), similaires aux séquences cellotriosyle et cellotétraosyle de la cellulose, sont séparées par des unités  $\beta$ -(1,3) (**Figure 25**). Le ratio cellotriose/cellotétraose varie selon les espèces de 2,1-2,4 à 4,2-4,5 (Ebringerová et al., 2005), de même que la masse molaire (0,065 à  $3 \times 10^6$  g/mol) et la viscosité intrinsèque des polymères (Vaikousi et al., 2004). En comparaison avec les  $\beta$ -D-glucanes extractibles à l'eau, les alcali-solubles présentent souvent un ratio cellotriose/cellotétraose bien plus important. C'est d'ailleurs ce ratio et l'enchaînement des unités  $\beta$ -(1,3) et  $\beta$ -(1,4) qui vont donner au polymère une certaine flexibilité voire même une tendance à l'agrégation (Ebringerová et al., 2005).

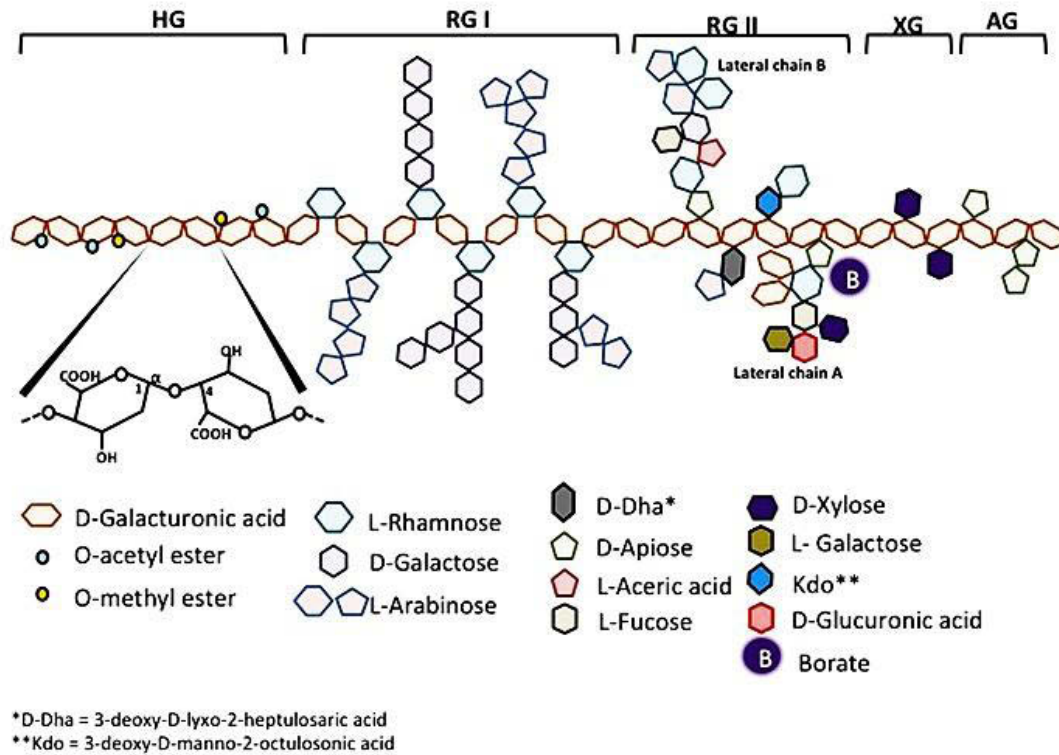


**Figure 25.** Structure principale des  $\beta$ -glucanes (Ebringerová et al., 2005).

### 2.2.2.3 Les pectines

Chez les végétaux supérieurs, les pectines représentent environ 30% de la masse des parois primaires de dicotylédones (Carpita et al., 1993 ; Pérez 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 ; Pérez 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). On retrouve également des pectines dans la matrice des parois primaires et en plus faibles quantités dans les parois secondaires des cellules (Peters, 2016).

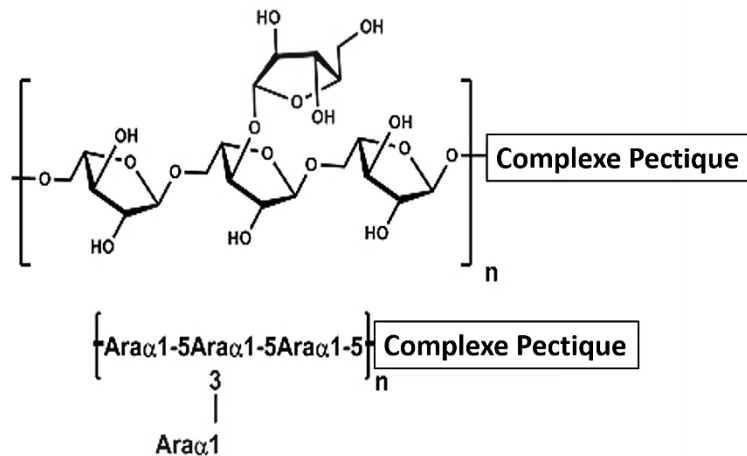
On peut séparer les pectines en plusieurs catégories (**Figure 26**), à savoir (i) les pectines acides, comme les homogalacturonanes et les rhamnogalacturonanes (RG) de type I et II et (ii) les pectines neutres, comme les arabinanes, galactanes et arabinogalactanes (AG) qui sont associés aux RG de manière covalente (Yamada, 1996 ; Pérez et al., 2003).



**Figure 26.** Organisation générale des structures pectiques (Leclere et al., 2013). **AG** : arabinogalactane, **HGA** : homogalacturonane, **RG** : rhamnogalacturonane, **XG** : xylogalacturonane.

### 2.2.2.3.1 Arabinanes

Les arabinanes sont composés d'unités L-Araf reliés en  $\alpha$ -(1,5) et sont plus ou moins branchés en fonction de leur origine en positions O-2 et O-3 (O'Neill et al., 1990). Dans les faits, très peu d'arabinanes purs ont été décrits dans la littérature, par exemple, dans les fruits de *Ziziphus jujuba* ou les racines de *Bupleurum falcatum* (Yamada et al., 1985 ; Yamada et al., 1988). Conventionnellement, on considère que les arabinanes n'existent pas véritablement dans la nature mais sont plutôt liés à des galactanes dans les complexes pectiques comme le montre la **Figure 27**. Ils sont probablement libérés au cours d'hydrolyses enzymatiques et/ou acides (légères) lors de procédés d'extraction (Ebringerová et al., 2005).

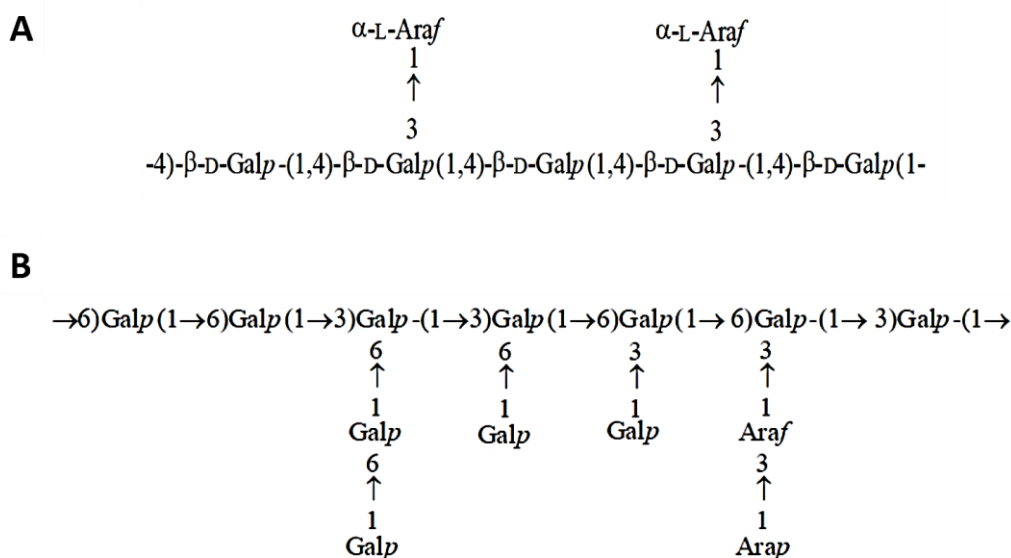


**Figure 27.** Structure principale des arabinanes, liés de manière covalente à des complexes pectiques (source personnelle).

#### 2.2.2.3.2 Arabinogalactanes de type I et II

Les arabinogalactanes de type I et II (AG-I et AG-II) correspondent respectivement à des arabino-4-galactanes et arabino-3,6-galactanes. On peut parfois trouver également le terme AG-III correspondant à des polysaccharides possédant des chaînes latérales d'arabinogalactanes, souvent associées à des protéines, groupe désormais qualifié sous la dénomination AGP (Fincher et al., 1983 ; Stephen, 1983 ; Varner et Lin ; 1989 ; O'Neill et al., 1990). Les AG-I sont composés d'un squelette principal de D-Galp liés en  $\beta$ -(1,4) et sont ramifiés par des résidus  $\alpha$ -L-Araf en position O-3 (**Figure 28A**). Ils sont les premiers constituants des complexes pectiques RG-I (rhamnogalacturonanes de type I). Les AG-I hydrosolubles sont bien représentés dans de nombreux tissus végétaux tels que les feuilles, les tiges, les racines, les fruits et les gommes. La présence de monosaccharides supplémentaires dans ces structures est en général associée à des contaminations par d'autres polysaccharides pendant les phases d'extraction et de purification (Peters, 2016). On peut citer par exemple les travaux de Tischer et al. (2002) qui ont expliqué la présence de Fuc, Ara, Xyl, Man, Gal et Glc au sein d'un AG-I à cause d'une contamination par de l'acide tragacanthique, riche en fucose et xylose au moment de l'extraction. On retrouve les AG-I le plus souvent dans les pectines de citrons, de pommes ou de patates (Paulsen, 2001) mais aussi des sources telles qu'*Opuntia ficus-indica* (Habibi et al., 2004), *Astragalus gummifer* (Tischer et al., 2002), *Glinus oppositifolius* (Inngjerdigen et al., 2005) ou *Phoenix dactylifera* (Amin et Kandeel, 1972). Les travaux de Tanaka et al. (2010) reportent également l'identification d'un AG-I extrait de *Cereus peruvianus* d'une masse molaire conséquente ( $9 \times 10^5$  g/mol).

Les AG-II présentent quant à eux une squelette de D-Galp liés par des enchainements  $\beta$ -(1,3)/ $\beta$ -(1,4). La chaîne principale est également substituées en position O-6 par des mono- et/ou oligosaccharides composés d'unités Ara ou Gal (**Figure 28B**). De manière générale, les AG-II sont beaucoup plus branchés que les AG-I. Ils sont également fréquemment liés aux RG-I, en position O-4 des unités L-Rha. On retrouve les AG-II chez des végétaux du genre *Larix* mais aussi chez d'autres résineux. Ils ont été identifiés par exemple dans les feuilles de *Stevia rebaudiana* (Oliveira et al., 2013), les feuilles de *Nerium indicum* (Dong et Fang, 2001), les racines de *Herba Asari* (Li et al., 2012), les baies de *Viscum album* (Wagner et Jordan, 1988) ou dans les feuilles de *Plantago major* L (Samuelsen, 1998). Dans l'ensemble, ils sont localisés dans le lumène des rayons ligneux et des trachéides (Ebringerová et al., 2005).



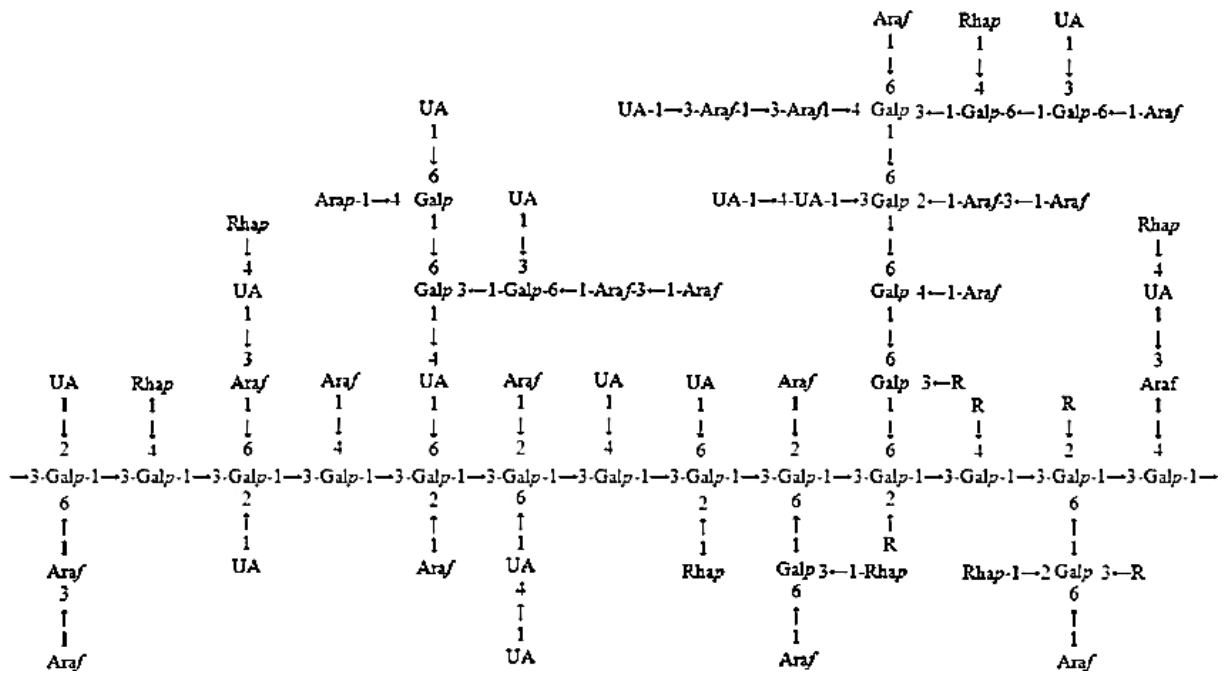
**Figure 28.** Exemples de structures d'arabinogalactanes de **(A)** type I (Mohnen, 2008) et **(B)** type II (Haq et Adams, 1961).

Enfin, les AGP ne sont pas véritablement considérés comme des polysaccharides de la paroi végétale mais plus comme des gommés ou exsudats, et jouent le plus souvent un rôle dans des mécanismes de défense naturelle (Verbeken et al., 2003). Ils préviennent ainsi des infections microbiennes et de la déshydratation (Peters, 2016). Ils sont aussi impliqués dans la croissance et le développement des plantes, la signalisation cellulaire, l'embryogenèse ou la mort cellulaire programmée (Majewska-Sawka et Nothnagel, 2000).

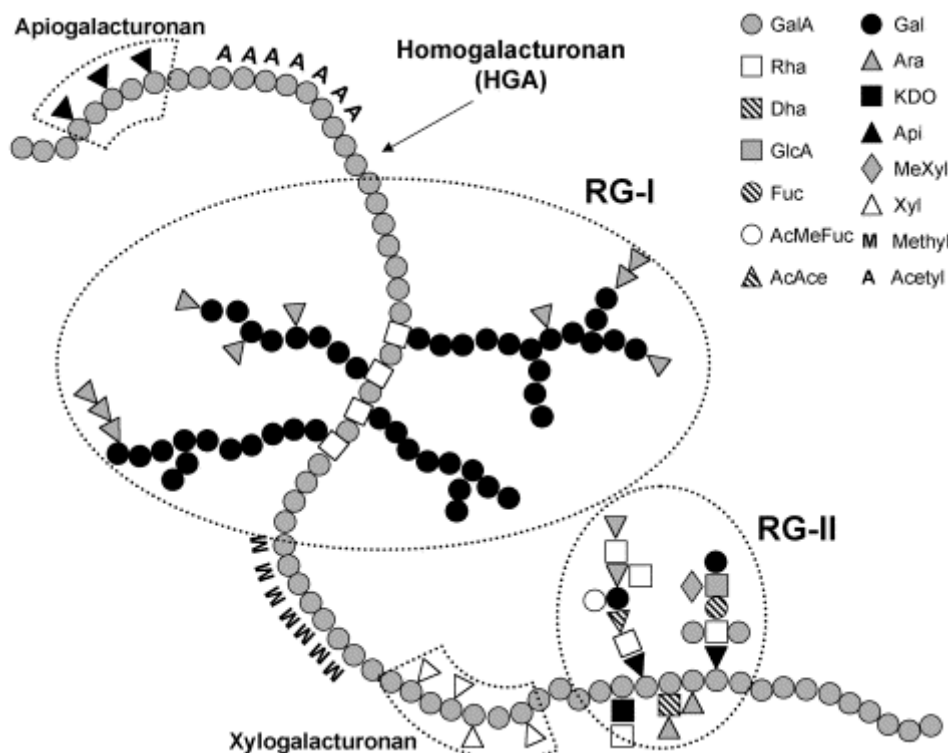
Ils contiennent jusqu'à 10% de protéines (Li et al., 2012) et présentent pour la partie polysaccharide une complexité structurale similaire à celle des AG-II. On pourra ainsi retrouver des substitutions sur la chaîne principale par des résidus variés mais aussi au sein des chaînes secondaires, *e.g.* *Araf*, *Rhap*, *Fucp*, *MeGlcAp*, *GlcAp* (Voragen et al., 2009). Fincher et al. (1983) ont décrit également des chaînes de *Manp*, *Xylp* et *Glcp*. On peut noter que la présence d'unités *Arap* semble être une caractéristique spécifique des AG-II (Oliveira et al., 2013). Les AGP sont des glycoprotéines glycosylées riches en hydroxyprolines classées en deux catégories, *i.e.* (i) les AGP « classiques » et les (ii) AGP « non classiques » (Du et al., 1996). Les premières contiennent dans la partie protéique de l'hydroxyproline, de l'alanine, de la sérine, de la thréonine ou encore de la glycine. A l'inverse, les secondes présentent des compositions plus particulières avec la présence de cystéine ou d'asparagine (Mollard et Joseleau, 1994 ; Mau et al., 1995). En général, c'est plutôt la partie polysaccharidique des AGP qui a tendance à être étudiée dans la littérature. On peut ainsi citer un certain nombre de gommes telles que la gomme arabique ou la gomme adragante (Tischer et al., 2002a, Tischer et al., 2002b) dont les structures sont extrêmement complexes et très variables selon les sources, conditions de culture, méthodes d'extraction et de purification, etc. (**Figure 29**).

#### 2.2.2.3.3 « Vraies pectines »

Les pectines ou acides pectiques décrivent les polymères contenant des résidus GalA. Longtemps considérés comme uniquement composés de résidus GalA, il s'avère que leurs structures sont bien plus complexes (Ebringerová et al., 2005). La partie galacturonane (homogalacturonane) des pectines peut contenir successivement jusqu'à 10 unités (Samuelsen et al., 1996) et de multiples monosaccharides neutres sont désormais associés à la structure complexe des pectines. On considère aujourd'hui que les pectines sont divisées en plusieurs catégories, *i.e.* les (i) homogalacturonanes (HGA), (ii) les rhamnogalacturonanes de type I (RG-I) et (iii) ceux de type II (RG-II), dont les structures diffèrent très significativement. La **Figure 30** présente un schéma général de la structure des pectines. L'organisation de ces sous-catégories pectiques est aujourd'hui remise en question. Le modèle longtemps admis décrit une alternance de zone « lisses » (HGA) et de zones « hérissées » (RG-I) substituées par des chaînes latérales d'oses neutres (Voragen et al., 2009). 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 HGA (Peters, 2016).



**Figure 29.** Structure principale de la gomme arabique d'*Acacia senegal* (adaptée de Nie et al., 2013b). *R* correspond à l'un des résidus suivants : *T-Rhap*, *T-Araf*, *T-Arap*, *T-UA*, *T-Araf* ( $1 \rightarrow 3$ )-*Araf* ( $1 \rightarrow$ ), *T-UA* ( $1 \rightarrow 4$ )-*UA* ( $1 \rightarrow$ ). Toutes les unités Gal et Uronic Acid (UA) sont de formes  $\beta$ , D ; les résidus Ara et Rha sont de forme  $\alpha$ , L. Les UA (= acides uroniques AU) sont soit des unités GlcA soit GalA.



**Figure 30.** Représentation schématique de la structure primaire des pectines (Pérez et al., 2003).

#### 2.2.2.3.3.1 Homogalacturonanes

Également nommés zones lisses, les HGA représentent 50 à 70% de la pectine (Jackson et al., 2007). Il s'agit de chaînes linéaires de 100 à 200 résidus de GalA liés en  $\alpha$ -(1,4). Les HGA possèdent également des groupements méthyle en positions *O*-2, *O*-3 et *O*-6 des GalA. Les HGA sont d'excellents polyanions et échangeurs d'ions et leurs propriétés biologiques et physico-chimiques sont souvent corrélées à leur capacité d'établir des interactions électrostatiques. Le degré d'estérification au sein des HGA est variable (la cellule est capable d'estérifier de manière réversible les groupements carboxylique grâce à une pectine méthylestérase) et on dénombre trois catégories d'acides pectiques en fonction du degré de méthylation (DM), les acides pectiques (i) de DM < 5%, (ii) faiblement méthylés de DM < 50% et (iii) hautement méthylés de DM > 50% (Thakur et al., 1997). On retiendra brièvement que les substances pectiques peuvent former des gels en suivant le mécanisme suivant : (i) formation d'une disposition en boîte d'œuf type « Egg-box » (les segments HGA sont réunis par des ions  $\text{Ca}^{2+}$ , (ii) les ions  $\text{Ca}^{2+}$  prennent part à 9 liaisons de coordinence avec 2 oxygènes des liaisons glycosidiques, 2 oxygènes hétérocycliques, 2 fonctions acides, et 3 fonctions alcools, (iii) cette structure ne peut exister que dans les régions HGA puisque les alcools secondaires, *e.g.* des acétylations, gêneraient sa formation.

#### 2.2.2.3.3.2 Rhamnogalacturonanes de type I

Les RG-1 constituent les zones hérissées et sont composés d'une chaîne principale alternant des résidus  $\alpha$ -(1,4)-D-GalA et  $\alpha$ -(1,2)-L-Rha. Ils représentent un peu moins de 15% de la pectine avec des DP proches de 1000 (Jackson et al., 2007). Les résidus Rha sont très souvent substitués en position *O*-4 par des chaînes latérales très variables portant des unités Gal et Ara. Ebringerová et al. (2005) reportent également quelques branchements en position *O*-3 des Rha. En général, les chaînes latérales d'AG sont de type II même si on trouve occasionnellement du type I. Certains auteurs ont aussi reporté des groupements acétyle en positions *O*-2 et *O*-3 (Perrone et al., 2002) ainsi que des acides phénoliques (acides férulique ou coumarique) au niveau des fonctions hydroxyle en position *O*-6 des résidus Gal ou en position *O*-2 des résidus Ara (Bonnin et al., 2002)

#### 2.2.2.3.3.3 Rhamnogalacturonanes de type II

Les RG-II ont des structures bien plus complexes et diffèrent des RG-I par leur enchaînement linéaire de D-GalpA liés en position  $\alpha$ -(1,4) (Pérez et al., 2003).



Une caractéristique intéressante chez les RG-II est probablement l'existence de résidus rares qui substituent la chaîne principale en position *O*-3, comme par exemple le 2-*O*-méthylfucose, le 2-*O*-méthylxylose, l'acide 2-céto-3-déoxy-D-manno-octulosonique (KDO) ou l'acide 3-déoxy-D-lyxo-2-heptulosarique (DHA) (O'Neill et al., 1990 ; Doco et al., 1997). De masses molaires assez faibles (5 à 10 kDa), ils apportent une certaine flexibilité à la paroi végétale en permettant notamment des liaisons intermoléculaires avec la cellulose (Zykwinska et al., 2005).

### 2.3 Activités des xylanes

Les xylanes provenant de sources naturelles forment une classe importante de composés bioactifs présentant une large gamme d'activités pharmacologiques (da Silva et al., 2012 ; Kumar et al., 2016 ; Meng et al., 2017). Ils sont connus pour leurs activités anti-oxydantes (Wang et al., 2017a), immuno-modulatrices (Shen et al., 2017), antitumorales (Liu et al., 2017a), antidiabétiques (Guo et al., 2017), anticoagulantes (Muschin et al., 2016) et hépatoprotectrices (Zhou et al., 2017). Les polysaccharides possèdent également des propriétés rhéologiques exploitées en industrie et dans le domaine pharmacologique (Funami, 2017). Les activités biologiques et les propriétés rhéologiques de ces polysaccharides sont fortement influencées par leurs structures (composition en monosaccharides, anoméries, liaisons glycosidiques et branchements) et leurs masses moléculaires (Ren et al., 2017). Notons que la compréhension des fonctions précises des polysaccharides dans différents mécanismes biologiques nécessite de développer des techniques performantes de séparation et de purification, qui permettront d'étudier des relations structure-fonction.

Les applications des xylanes au sens large sont très nombreuses et montent en puissance depuis ces deux dernières décennies. Ainsi, on les retrouve dans la conception de films d'emballage, pour le coating de matériaux ou pour une utilisation dans les produits biomédicaux (Li et al., 2011). En raison de leur comportement rhéologique intéressant, les xylanes sont également utilisés comme adhésifs, épaississants ou additifs dans la synthèse des plastiques. Ils permettent ainsi d'améliorer la résistance du matériau aussi bien que sa biodégradabilité (Ünlü et al., 2009). Ils sont par ailleurs étudiés pour leurs propriétés mitogénique et comitogénique, et présentent pour certains des activités au moins aussi bonnes qu'un immunomodulateur commercial, le zymosan (Ebringerová, 1995).

Ces mêmes auteurs reportent aussi l'application des xylanes dans l'industrie alimentaire comme émulsifiant et stabilisant de mousses protéiques. On peut noter que le marché des additifs alimentaires avoisine aujourd'hui les 35 milliards (2015) et dépassera probablement les 55 milliards de \$ en 2024 avec une croissance de 5,5%. On reporte également dans la littérature l'utilisation de ces polymères dans l'industrie du papier, qui représente aujourd'hui un marché de 195 millions de \$ (2015) (Hromadkova et al., 1999). Plus récemment, des xylanes extraits de bois de bouleau ont été utilisés pour synthétiser et/ou modifier des nanoparticules, leur ouvrant la voie aux domaines de la cosmétique et pharmaceutique (système de délivrance d'actifs avec une forte biodisponibilité) (Heinze et al., 2007 ; Daus & Heinze, 2010). Le marché global pharmaceutique représente, quant à lui, plus de 955 milliards de \$ (2015), laissant la place à des marchés de niche (*e.g.* pour des polysaccharides hautement actifs et/ou très spécifiques) ou plus généraux (*e.g.* pour des polysaccharides peu coûteux). Silva et al. (2007) mettent en avant la synthèse de microparticules (parfois même magnétiques) à partir de xylanes extraits d'épis et rafles de maïs pour délivrer des molécules telles que le diclofénac de sodium, l'acide 5-aminosalicylique ou l'acide usnique. Parallèlement, Petzold-Welcke et al. (2014) ont développé des dérivés cationiques de GX présentant un fort potentiel antimicrobien mais aussi floculant. L'étude structurale des xylanes permet de développer de nouvelles approches et outils enzymatiques pour leur déconstruction, notamment dans des concepts de bioraffinerie de certains végétaux. L'étude d'enzymes dégradant les xylanes, encore en plein essor aujourd'hui, fait de ces polysaccharides un objet d'étude à la fois fondamental et applicatif (notamment dans des laboratoires universitaires) (Dodd et Cann, 2009 ; Lyczakowski et al., 2017). On peut aussi citer le potentiel prébiotique de xylo-oligosaccharides (XOS) qui sont couramment utilisés en nutraceutique (Mäkeläinen et al., 2009), en particulier en Asie où certaines formes sont commercialisées (Shandong Longlive Bio-technology co.). Sukri et Mimi Sakinah (2017) ont d'ailleurs publié un papier récent sur la production de XOS à haute valeur commerciale à partir de bois de Meranti. Enfin, c'est probablement aujourd'hui le marché du xylitol (175 kT en 2015) qui domine les applications des xylanes dans le monde. On estime d'ailleurs que la demande croîtra de 6% en 2024 en particulier pour répondre à l'industrie du Chewing gum qui en consomme plus de 60%. Les 40% restants concernent des secteurs « marginaux » dont l'alimentaire et la pharmaceutique.

### 2.3.1 Propriétés physico-chimiques

Les polysaccharides sont couramment utilisés comme épaississants, stabilisants, gélifiants et agents de liaison dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétiques (Bao et al., 2016 ; Funami, 2017). Les xylanes présentent des caractéristiques physico-chimiques très différents comme leurs (i) solubilités dans l'eau, (ii) viscosités, (iii) propriétés gélifiantes ou encore leurs (iv) propriétés d'hydratation, qui sont à l'origine de leurs propriétés fonctionnelles dans l'industrie alimentaire et de nombreux procédés (Saulnier et al., 2007). La relative solubilité des xylanes dans l'eau est un problème récurrent notamment pour la détermination de leurs masses molaires. En effet, en fonction du type et du degré de substitution (souvent supérieur à 30%) des chaînes et ramifications mais aussi des motifs de répétition, les xylanes ont tendance à s'agréger en solution. La présence de groupement acétylène contribue largement à ces phénomènes en permettant de possibles réarrangements chimiques, par exemple avec la lignine ou des composés phénoliques (Ebringerová et al., 2005). La solubilité est également fonction du nombre de liaisons hydrogènes intra- et intermoléculaires présentes à l'origine au sein des xylanes ou générées pendant les procédés d'extraction, de purification et de séchage (Ebringerová et al., 1994). Des traitements de dépolymérisation physico-chimiques permettent de réduire ces interactions et d'augmenter la solubilité des xylanes, mais sont à l'origine de la réduction de leurs masses molaires ( $M_w$ ). Il est donc important de garder à l'esprit que l'évaluation des masses molaires des xylanes se fait très souvent sur un polymère non natif (à savoir dépolymérisé). Notons également que ces mécanismes d'agrégation sont encore mal compris comme l'ont reporté Saulnier et al. (2007). Les  $M_w$  décrites dans la littérature varient en général entre 64 000 g/mol pour des AX et CHX de céréales (Chanliaud et al., 1996) à plusieurs millions de g/mol pour des fractions aqueuses d'AX et d'hétéroxylanes extraits de graines de différentes espèces comme pour le genre *Plantago* (Madgulkar et al., 2015 ; Yin et al., 2016a ; Benaoun et al., 2017). En général, les  $M_w$  sont estimées par chromatographie d'exclusion stérique, couplée à des techniques de diffusion de la lumière (SEC/MALLS). La calibration est réalisée à l'aide de gammes de standards de dextrans, de pullulanes (qui présentent l'avantage d'être isoformes) ou de polystyrènes. Une attention particulière doit être portée aux xylanes chargés tels que les glucuronoxylanes et à la force ionique des solvants utilisés (Su, 2013). Il en va de même pour les chaînes ramifiées d'arabinose qui jouent un rôle prépondérant mais encore assez méconnu dans la solubilité des AX (Yu et al., 2017).

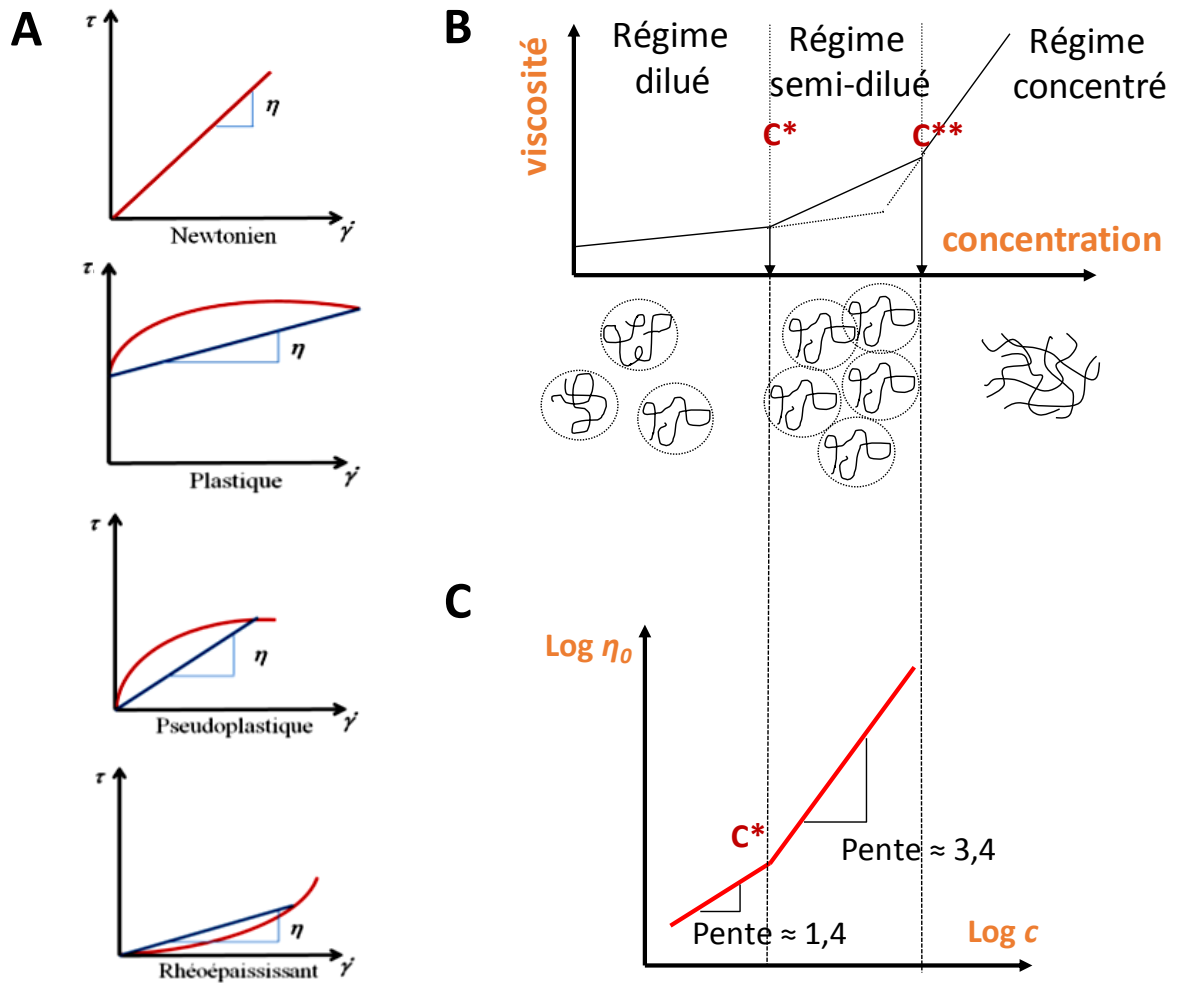
En effet, plusieurs études ont montré que des traitements acides (Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b) ou enzymatiques (Peters, 2016), qui permettent d'éliminer ces chaînes latérales, entraînaient une forte modification du comportement en solution (et rhéologique) des AX. Notons que l'utilisation de système UV permet en parallèle d'identifier d'éventuels contaminants protéiques et polyphénoliques. Le **Tableau 8** reporte l'hétérogénéité des caractéristiques moléculaires de xylanes, qui est fonction à la fois des organismes producteurs mais aussi des protocoles d'extraction, de purification et de préparation.

La viscosité des xylanes en solution, et plus généralement des polymères, est directement relié à des propriétés moléculaires fondamentales comme la conformation moléculaire, la masse molaire, la distribution en masse mais aussi la concentration en polymères. L'étude en régime dilué de polymères en solution permet notamment (en fonction des techniques utilisées) d'accéder à la viscosité intrinsèque en solution, qui représente brièvement le volume hydrodynamique des bâtonnets dans le cas de polymères non chargés ou l'asymétrie des particules dans le cas de macromolécules rigides (Lefebvre et Doublier, 2005). On peut également accéder *via* la SEC/MALLS à des constantes de masses molaires en poids et en nombre ( $M_w$  et  $M_n$ ), au rayon hydrodynamique ( $R_h$ ) et rayon de giration ( $R_g$ ), à l'indice de polydispersité ( $I_p$ ), etc. Les comportements rhéologiques des xylanes sont peu étudiés en comparaison d'autres polysaccharides d'origines variées comme le xanthane (bactérie), l'amidon (végétal) ou les carraghénanes (macro-algue). En général, les xylanes présentent un comportement viscosant des solutions aqueuses à température ambiante qui a tendance à rapidement diminuer à de faibles taux de cisaillement (c'est à dire rhéofluidifiant). Rappelons que la manière dont la viscosité apparente change va permettre de définir le comportement rhéologique d'un polymère en solution. L'évolution de la viscosité apparente avec le taux de cisaillement peut être représentée par des comportements types qui permettent de distinguer quatre catégories de fluide (**Figure 31A**) :

- (i) les fluides newtoniens dont la viscosité est indépendante du taux de cisaillement ;
- (ii) les fluides plastiques ou fluides à seuil où le seuil représente la limite d'énergie qu'il faut franchir afin que l'écoulement ait lieu ;
- (iii) les fluides pseudoplastiques ou rhéofluidifiants qui présentent une diminution de la viscosité avec l'augmentation du taux de cisaillement ;
- (iv) les fluides rhéoépaississants dont la viscosité augmente avec l'augmentation de taux de cisaillement.

**Tableau 8.**Exemples de caractéristiques moléculaires reportés pour différents types de xylanes (source personnelle).

Type	Origine	M <sub>w</sub> (10 <sup>6</sup> g/mol)	M <sub>n</sub> (10 <sup>6</sup> g/mol)	Viscosité intrinsèque (mL/g)	Extraction	Référence																																																												
Arabinoxylane	Son de blé	1	-	-	Ca(OH) <sub>2</sub> , Ba(OH) <sub>2</sub> Eau, NaOH	Edwards et al. (2003)																																																												
	<i>Plantago ispaghula</i>	2,2	-	-			Arabinoxylane	<i>Plantago asiatica</i>	3,8	-	581	Eau, NaOH	Yin et al. (2016a)	Arabinoxylane	<i>Plantago ovata</i>	0,95-1,1	0,65-0,84	740	Eau, KOH	Yu et al. (2017)	Hétéroxylane	<i>Plantago notata</i>	2,3	2,0	715	Eau	Benaoun et al. (2017)	Hétéroxylane	<i>Plantago major</i>	1,2	-	970-1420	Eau	Alizadeh Behbahani et al. (2017)	Hétéroxylane	<i>Maytenus ilicifolia</i>	5,9 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	Eau	Cipriani et al. (2008)	Hétérooxylane acétylé	<i>Agave sisalana</i>	18	-	-	Acétone, Eau	Marques et al. (2010)	Hétérooxylane acétylé	<i>Paulownia elongata</i> <i>Paulownia fortunei</i>	29	-	-	Acide péracétique Me <sub>2</sub> SO	Gonçalves et al. (2008)	Hétéroxylane	<i>Sophora subprostrata</i>	0,44	-	-	Eau, NaOH	Dong et al. (1999)	Xylane	<i>Plantago asiatica</i>	1,15	-
Arabinoxylane	<i>Plantago asiatica</i>	3,8	-	581	Eau, NaOH	Yin et al. (2016a)																																																												
Arabinoxylane	<i>Plantago ovata</i>	0,95-1,1	0,65-0,84	740	Eau, KOH	Yu et al. (2017)																																																												
Hétéroxylane	<i>Plantago notata</i>	2,3	2,0	715	Eau	Benaoun et al. (2017)																																																												
Hétéroxylane	<i>Plantago major</i>	1,2	-	970-1420	Eau	Alizadeh Behbahani et al. (2017)																																																												
Hétéroxylane	<i>Maytenus ilicifolia</i>	5,9 x 10 <sup>-2</sup>	-	-	Eau	Cipriani et al. (2008)																																																												
Hétérooxylane acétylé	<i>Agave sisalana</i>	18	-	-	Acétone, Eau	Marques et al. (2010)																																																												
Hétérooxylane acétylé	<i>Paulownia elongata</i> <i>Paulownia fortunei</i>	29	-	-	Acide péracétique Me <sub>2</sub> SO	Gonçalves et al. (2008)																																																												
Hétéroxylane	<i>Sophora subprostrata</i>	0,44	-	-	Eau, NaOH	Dong et al. (1999)																																																												
Xylane	<i>Plantago asiatica</i>	1,15	-	-	Eau, NaOH	Yin et al. (2016b)																																																												



**Figure 31.**(A) Régimes d'écoulement caractéristiques de différents polymères en solution, (B) régime de concentration pour les polymères et (C) détermination de  $C^*$  en première approche (source personnelle).

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 31B**). 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. Des études ont montré qu'il était également possible d'accéder pour certains xylanes (en particulier des AX de blé) à des concentrations critiques d'enchevêtrement  $C^{**}$  (Saulnier et al., 2007). Dans ces cas de figure, les auteurs reportent une conformation en bâtonnet des AX en solution.

Ce n'est pas le cas pour d'autres hétéroxylanes étudiés où une conformation compacte en pelote a été déterminée (Benaoun et al., 2017). En première approche, on considère souvent l'**Équation 1** pour déterminer rapidement et théoriquement  $C^*$ .

**Équation 1.** 
$$C^* = \frac{1 \text{ à } 4}{[\eta]}$$

Pour de très nombreux polysaccharides en solution (**Figure 31C**), la viscosité spécifique à taux de cisaillement nul est linéairement relié à  $c[\eta]$  et les deux pentes caractéristiques (avant et après la valeur de  $C^*$ ) sont respectivement égales à environ 1,4 et 3,4 (Castelain et al., 1987). On notera d'ailleurs que  $C^*$  diminue quand  $M_w$  ou  $R_g$  augmente. Les propriétés rhéologiques sont généralement affectées par la concentration en polysaccharide, la présence de sels, la température et le pH (Ma et al., 2017). De par leur caractère assez neutre, une partie des xylanes répondent très peu à l'effet des sels lors d'études rhéologiques comme reportés par Farahnaky et al. (2010), Yin et al. (2016a) ou Benaoun et al. (2017). Le **Tableau 9** reporte quelques exemples de l'hétérogénéité des  $M_w$  de xylanes, qui est fonction à la fois des organismes producteurs mais aussi des protocoles d'extraction, de purification et de préparation. Les hydrogels à base de xylanes attirent beaucoup d'attention en raison de leurs propriétés fondamentales telles que la renouvelabilité, la fonctionnalité et la biocompatibilité (Gao et al., 2015). Les hydrogels sont des réseaux tridimensionnels formés à partir de liaisons physiques et/ou chimiques qui ont une hydrophilie élevée mais sont insolubles dans l'eau. Les hydrogels intelligents pour l'environnement, en particulier les hydrogels sensibles à la température et au pH, ont suscité de nombreux intérêts dans les domaines biomédicaux, tels que l'ingénierie des tissus, les biosenseurs et l'administration de médicaments. Parmi ces hydrogels « sensitifs », les hydrogels de xylanes copolymérisés en présence de poly-N-isopropylacrylamide et d'acide acrylique font partie des objets d'étude les plus courants notamment comme système de délivrance orale pour des cibles intestinales (Gao et al., 2016). Sun et al. (2017) reportent également la possibilité de synthétiser des hydrogels de xylanes/poly(acide métacrylique) en présence d'agent de réticulation comme le N-N'-méthylènebisacrylamide. La structure interconnectée et macroporeuse générée présentait un potentiel encourageant en pharmaceutique. L'utilisation des xylanes pour préparer des hydrogels ne se limite pas à des agents (réticulants) chimiques « non green » puisque certains auteurs ont réussi à développer des hydrogels composite en présence de chitosane ( $\beta$ -(1→4)-2-amino-2-déoxy-D-glucopyranose) et à démontrer leur action pour faciliter la régénération osseuse (Bush et al., 2016). Zhang et al. (2014) ont quant à eux mis en évidence les capacités super-absorbantes d'hydrogels de xylanes/montmorillonite.

**Tableau 9.** Exemples de comportement viscosant reportés pour différents types de xylanes (source personnelle).

Type	Origine	Comportement	Extraction	Référence
Arabinoxylane	<i>Plantago asiatica</i>	Rhéofluidifiant, gel faible, effet des sels ( $\text{Ca}^{2+}$ )	Eau, NaOH	Yin et al. (2016a)
Arabinoxylane	<i>Plantago ovata</i>	Rhéofluidifiant, gel faible, Effet de l'acide férulique	KaOH+NaBH <sub>4</sub>	Yu et al. (2017)
Arabinoxylane	Son de blé	Rhéofluidifiant	Eau	Li et al. (2017b)
Arabinoxylane	Maïs	Rhéofluidifiant, gel fort, Effet de l'acide férulique	NaOH	Ayala Soto et al. (2014)
Arabinoxylane	Haricots (Sorgho)	Newtonien	Eau	Kale et al. (2015)
Arabinoxylane	<i>Plantago ovata</i>	Rhéofluidifiant, gel faible	Eau	Farahnaky et al. (2010)
Arabino(GalA)-rhamnoxylane	<i>Plantago ovata</i>	Gel faible	Alcaline	Sandhu et Hudson (1981)
Hétéroxylane acide	<i>Plantago major</i>	Rhéofluidifiant, gel faible	Eau	Behbahani et al. (2017)
Hétéroxylane	<i>Plantago notata</i>	Rhéofluidifiant, gel faible	Eau	Benaoun et al. (2017)

Les xylanes présentent en effet des capacités d'hydratation notables, que ce soit d'absorption de l'eau et/ou de capacité de rétention. Rappelons que cette dernière est définie dans le domaine des fibres alimentaires comme la capacité d'absorption (water binding) et la capacité de rétention (water holding) de l'eau (Fessas, 2005). On peut toutefois noter que la littérature est confuse concernant la description des propriétés d'hydratation des xylanes et en particulier des AX en partie par l'utilisation inadéquate des méthodes de mesure nécessaires à la détermination de la capacité de liaison à l'eau (Saulnier et al., 2007). La mesure des propriétés d'hydratation est d'ailleurs dépendante de nombreux paramètres physicochimiques comme la température, le pH, la force ionique, le type et l'historique du polymère concerné. Enfin, on peut noter les travaux de Shirsand et al. (2009) ou ceux de Pawar et Varkhade (2014) qui ont montré la possibilité de formuler des systèmes de délivrance (superdésintégrant) de médicaments et/ou principes actifs à partir d'hétéroxylanes extraits de *Plantago notata*. Brièvement, il s'agissait dans ces études d'utiliser les hétéroxylanes comme des ingrédients améliorant la désintégration de comprimé/gélule pour une délivrance orale, en milieu liquide aqueux.



### 2.3.2 Propriétés biologiques

Les xylanes présentent un certain nombre d'activités biologiques. Le **Tableau 10** donne un inventaire assez large de quelques propriétés biologiques reportées dans la littérature. Cette partie détaille ensuite quelques exemples concrets d'études d'activités anti-complément, prébiotique, anti-oxydante, immunomodulatrice et anti-cancer.

#### 2.3.2.1.1 Activité anti-complément

Le système du complément est un des systèmes les plus puissants impliqués dans la défense non spécifique de l'organisme (Skerka et Zipfel, 2008). Il est constitué d'un groupe de protéines sériques qui sont activées en cascade. L'activation peut être, entre autres, initiée par des lipopolysaccharides bactériens et des environnements pauvres en acide sialique (voie alterne), ou par des complexes immuns antigène-anticorps contenant des IgM ou des IgG (voie classique). La liaison de lectines liant le mannose présent sur des surfaces microbiennes est également une voie d'activation du complément (voie lectine). Le complexe d'attaque membranaire est le produit final de la cascade d'activation du complément. Il peut endommager la membrane cytoplasmique des bactéries (Samuelsen et al., 1999a). L'activité anti-complément est une activité immunomodulatrice (Wang et al., 2008) qui peut s'étudier *in vitro* (Samuelsen et al., 1999a). L'activation du complément est inhibée par de nombreuses protéines de régulation hydrosolubles ou liées aux membranes ainsi que par certains polysaccharides. A titre d'exemple, l'héparine est un polysaccharide bien connu pour ses activités anti-coagulante et anti-complément fortement dépendantes de la localisation et du taux de ses groupes sulfates (Xu et al., 2007). L'héparine inhibe la fixation membranaire de la protéine C-3 du complément et l'hémolyse lorsque la voie classique de complément est activée par des anticorps anti-hématies (Logue, 1977). Pour atteindre la concentration nécessaire à l'inhibition de complément de manière significative, l'héparine induit des effets secondaires indésirables associés à ses activités anti-coagulantes (Xu et al., 2007). La recherche de substances anti-complément dépourvues d'activités secondaires indésirables est donc nécessaire afin de trouver des alternatives à l'utilisation de ce composé. Samuelsen et al. (1999a) ont par exemple étudié l'activité anti-complément des polysaccharides issus des graines de *Plantago major* L.

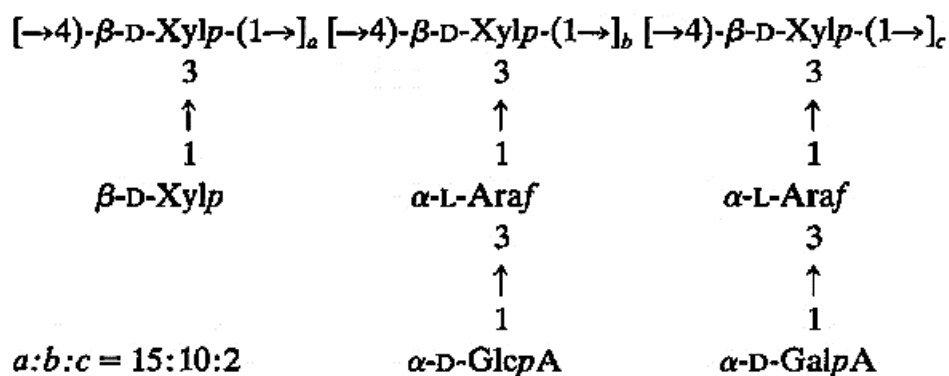
**Tableau 10.** Exemples d'activités biologiques reportés pour différents types de xylanes.

Type	Origine	Propriétés biologiques	Références
Arabinoxylane modifié Arabinoxylane-Acide sinapique (SA-CAX)	Son de maïs	Anti-oxydante	Li et al. (2017d)
Acide hydroxycinnamique-Arabinoxylane (HCA-AXs)	Millet Son de millet	Anti-oxydante	Bijalwan et al. (2016)
Arabinoxylane	Son de blé	Immunomodulatrice	Akhtar et al. (2012)
Arabinoxylane	Son de blé	Anti-cancéreuse	Cao et al. (2011)
Arabinoxylane	Blé	Prébiotique	Neyrinck et al. (2011) Mendis et Simsek (2014)
Arabinoglucuronoxylane	Maïs	Immunomodulatrice Mitogène	Ebringerova et al. (1995)
(Galacto)arabinoglucuronoxylane	<i>Solanum betaceum</i>	Anti-inflammatoire	Do Nascimento et al. (2013)
Arabinoxylane	Son de riz	Anti-virale	Ghoneum et al. (1998)
Arabinoxylane	Drêche de brasserie Graines de céréales	Prébiotique	Coelho et al. (2016)
Arabinoxylane féruloylé	Farine riche en aleurone	Anti-oxydante	Bagdi et al. (2016)
4- <i>O</i> -Me-glucuronoxylane	<i>Fagus sylvatica</i>	Anti-virale	Pujol et al. (2016)
4- <i>O</i> -Me-glucuronoxylane	<i>Mahonia aquifolium</i>	Anti-tussive	Kardosova et al. (2002)
Hétéroxylane	Son de blé	Anti-complément	Hromádková et al. (2013)
Hétéroxylane	<i>Dendrobium officinale</i> (Tiges)	Anti-angiogénèse	Yue et al. (2017)
Hétéroxylane acide	<i>Maytenus ilicifolia</i> (Feuilles)	Anti-ulcère	Cipriani et al., (2008)

**Tableau 10 (suite).**

Type	Origine	Propriétés biologiques	Références
Hétéroxylane acide	<i>Sophora subprostrata</i> (Racines)	Immunostimulant	Dong et al. (1999)
Hétéroxylane	Graines <i>Plantago major</i>	Anti-complement	Samuelsen et al. (1999a)
Xylo-oligosaccharide	Hêtre Bois	Prébiotique	Nieto-Domínguez et al. (2017)
Xylane	<i>Cudrania tricuspidata</i> (Racines)	Immunomodulatrice	Shi et al. (2014)
Xylo-oligosaccharide acide	Bois	Anti-microbienne	Christakopoulos et al. (2003)
Hétéroxylane-chitooligomère-zinc	Epis de maïs	Anti-microbienne Anti-oxydante	Wu et al. (2013)
Xylane acide	<i>Phormium tenax</i>	Prébiotique	Centanni et al. (2017)
Glucuronoxylane sulfaté	<i>Cassia obtusifolia</i> (Graines)	Anti-cancéreuse	Cong et al. (2014)

Cette étude a révélé que les polysaccharides isolés sont des hétéroxylanes constitués d'un squelette de  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp ramifié par des chaînes latérales courtes en position O-2 et O-3. Les chaînes latérales se composent de  $\beta$ -D-Xylp,  $\alpha$ -L-Araf,  $\alpha$ -L-Araf(1 $\rightarrow$ 3) $\beta$ -D-Xylp et  $\alpha$ -D-GlcAp(1 $\rightarrow$ 3) $\alpha$ -L-Araf. L'extrait brut de l'hétéroxylane des graines *Plantago major* L. présente une activité anti-complémentaire intéressante à une concentration de 750  $\mu$ g/mL. Samuelsen et al. (1995) avait déjà reporté le potentiel comme anti-complément d'un xylane lié en (1,4) avec une activité proche de 96,3%, c'est-à-dire à même hauteur le témoin de contrôle positif qui était une solution de pectines d'*Angelica acutiloba* décrites pour leurs propriétés anti-compléments. La relation structure/activation de protéines du complément d'un mucilage extrait de graines de *Plantago asiatica* est également décrite dans la littérature (Yamada et al., 1986). Le glucuronoarabinoxylane (**Figure 32**) partiellement O-acétylé isolé dans cette étude présente des activités notables (500  $\mu$ g/mL). Il est d'ailleurs mis en évidence que l'activité anti-complémentaire est améliorée lorsque le polysaccharide est désacétylé. Les groupements O-acétylé tendent à empêcher l'activation du complément *via* la voie classique, à l'inverse des groupements carboxyle qui sont eux essentiels pour l'activation (Yamada et al., 1986).



**Figure 32.** Structure du glucuronoarabinoxylane isolé des grains de *Plantago asiatica* (Yamada et al., 1986).

### 2.3.2.1.2 Activité prébiotique

La micro-écologie de l'intestin humain est un écosystème complexe et délicatement équilibré, dans lequel habitaient environ  $10^{14}$  bactéries (Wang et al., 2015). La modulation du microbiote intestinal par la consommation d'ingrédients prébiotiques est un concept émergent pour la promotion de la santé intestinale (Khodaei et al., 2016). Le terme prébiotique a été introduit par Gibson et Roberfroid (1995) qui ont défini un prébiotique « un ingrédient alimentaire non digestible qui améliorent la santé de l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité métabolique d'un ou d'un nombre limité de bactéries bénéfiques dans le côlon » (Gibson et Roberfroid (1995) ; Li et al., 2015 ; Rodrigues et al., 2016 ; Li et al., 2017a). Cette définition chevauche partiellement celle des fibres alimentaires, à l'exception de la digestibilité par certaines souches probiotiques. Le concept de prébiotiques est défini par certains critères tels que la résistance à l'acidité gastrique, à l'hydrolyse par des enzymes des tractus digestifs de mammifères et à l'absorption gastro-intestinale. Ces prébiotiques sont fermentés par la microflore intestinale dont ils stimulent sélectivement la croissance et /ou l'activité favorisant le bien-être (le « well being » anglo-saxon) et à la santé de l'hôte (Cani, 2009). En favorisant la croissance des bactéries bénéfiques qualifiées de probiotiques (*Lactobacillus* et Bifidobacteries) notamment ils limitent le développement de souches bactériennes pathogènes ou potentiellement pathogènes comme certaines espèces de *Salmonella* ou *Escherichia coli* (Singdevsachan et al., 2016). Les prébiotiques actuellement disponibles tels que l'inuline et ses dérivés (notamment les fructo-oligosaccharides ou FOS) ainsi que les galacto-oligosaccharides (GOS) sont relativement peu coûteux à fabriquer et ont été largement utilisés comme ingrédients fonctionnels dans les aliments. L'inuline et les FOS dérivés de la racine de chicorée, les arabinoxyloligosaccharides dérivés du son de blé (AXOS) et les xylo-oligosaccharides (XOS) se sont avérés présenter de très bonnes propriétés prébiotiques (Singdevsachan et al., 2016). Le produit d'hydrolyse du xylane est un substrat pour la population de bactéries commensales intestinales, agissant comme prébiotique potentiel. Sa fermentation produit des acides gras à chaîne courte, améliore la santé épithéliale intestinale et régleme le processus métabolique (Singh et al., 2015). Les xylo-oligosaccharides, produits d'hydrolyse du xylane, sont des oligomères de résidus de  $\beta$ -(1,4)-xylose avec divers substituants. Ces oligosaccharides sont stables sur une large gamme de pH allant de 2,5 à 8 à un faible pH gastrique et des températures allant jusqu'à 100°C. Les XOS avec un DP moyen de 3 à 5 sont plus sensibles à la décomposition alcaline par rapport aux XOS à chaînes plus longues ayant un DP de 15.

Les XOS ont une bonne stabilité thermique par rapport aux FOS qui sont plus susceptibles de se décomposer à faible pH et à une température plus élevée (Singh et al., 2015). Dans le traitement des aliments, les XOS sont avantageux par rapport à l'inuline en termes de résistance à la chaleur et à l'acidité, ce qui permet leur utilisation dans des jus de faible pH (Singh et al., 2015). Les différentes bactéries de l'intestin humain, telles que *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., utilisent différents polysaccharides et oligosaccharides comme source d'énergie. Les Bifidobactéries possèdent un degré variable de spécificité pour l'utilisation des xylanes comme substrats et peuvent produire une large gamme de glycosidases indispensables à la dépolymérisation de ces oligosaccharides. Notons également que les Bifidobactéries sont capables de fermenter des xylanes ramifiés ainsi que différents types d'arabinogalactanes. En tant qu'ingrédient alimentaire, les XOS sont non cancérigènes, stimulent la croissance bactérienne et la fermentation, et améliorent l'absorption des minéraux intestinaux (Singh et al., 2015). Hu et al. (2017a) ont étudiés l'effet de l'irradiation par ultrasons sur un hétéroxylane isolé à partir des graines de *Plantago asiatica* L. et ses propriétés prébiotiques lors de la fermentation *in vitro*. La masse molaire du polysaccharide a diminué suite au traitement dépolymérisant, augmentant la disponibilité en fonctions réductrices et oses simples. Les productions d'acides gras à chaînes courtes lors de la fermentation du polysaccharide ont d'ailleurs augmenté de manière significative. Ces résultats ont révélé que l'irradiation par ultrasons pouvait être une méthode de dégradation prometteuse pour la production de xylo-oligosaccharides à (haute) valeur ajoutée. Une endoxylanase fongique de *Talaromyces amestolkiae* a été utilisée pour produire un mélange de xylo-oligosaccharides (XOS) à partir de xylane de bois de bouleau (Nieto-Domínguez et al., 2017). Un rendement notable de XOS neutre a été obtenu (28,8%) après traitement enzymatique, avec une répartition en oligosaccharides essentiellement centrée sur les xylobiose, xylotriose et xylo-tétraose. La forte production d'acide acétique et lactique et l'amélioration de la croissance de bifidobactéries ont été mis en évidence par les auteurs. On peut aussi noter qu'il est possible de produire des XOS à partir de biomasse lignocellulosique, y compris de résidus agroalimentaires et de bois. Rajagopalan et al. (2017) ont rapporté une activité prébiotique sur les *Bifidobacteria* et *Lactobacilli* de XOS extraits à partir de bois dur (acajou notamment). Pour terminer, il est important de mettre également en lumière l'effet d'AX non hydrosolubles, dérivés du blé, sur la modulation de la composition bactérienne intestinale au cours d'une fermentation en culture mixte (Vardakou et al., 2008). Un indice prébiotique de 2,03 a été obtenu après addition de ces oligomères à 1% (m/v).

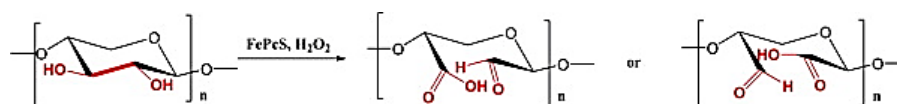
Les auteurs ont aussi constaté une amélioration de cet indice (3,48) en pré-hydrolysant enzymatiquement (endo- $\beta$ -1,4-xylanase) les oligo-AX, indiquant que les oligomères étaient plus facilement utilisés par les bactéries intestinales.

#### 2.3.2.1.3 Activité anti-oxydante

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont composées principalement d'anions superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux hydroxyle (Mengome et al., 2014). Elles sont générées par la respiration cellulaire lorsque les cellules utilisent l'oxygène moléculaire comme accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire (Li et Shah, 2017). Les ERO sont très toxiques pour la cellule (stress oxydatif) qui dispose de tout un arsenal d'outils enzymatiques pour les neutraliser tels que des enzymes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, etc.), des protéines chaperons et des petites molécules (vitamine E, vitamine C...). Une perturbation de l'équilibre entre la production de ces ERO et de leur neutralisation par ces systèmes antioxydants intrinsèques à la cellule (homéostasie redox) peut conduire à son apoptose par stress oxydatif. (Mengome et al., 2014 ; Li et Shah, 2017). Ce stress oxydatif entraîne une altération des protéines cellulaires, des lipides et de l'ADN, ce qui se traduit, par exemple, par un vieillissement cellulaire, des maladies cardiovasculaires et inflammatoires, du diabète et des cancers (Ktari et al., 2017a). Il est possible de rétablir cet équilibre par l'utilisation d'anti-oxydants exogènes. Généralement ces composés sont de faibles masses moléculaires. Les plus décrits sont des composés phénoliques, des caroténoïdes, les tocophérols, des acides gras polyinsaturés, l'acide ascorbique et de nombreux composés glucidiques (Mengome et al., 2014). Plusieurs travaux ont mis en évidence que les polysaccharides isolés à partir de plantes présentent également des propriétés anti-oxydantes importantes (Getachew et Chun, 2017 ; Hu et al., 2017b ; Ji et al., 2017). Melo-Silveira et al. (2012) ont étudié le pouvoir anti-oxydant d'un hétéroxylane composé de Xyl : Ara : Gal : Glc (5,0 :1,5 :2,0 :1,2) de 130 kDa extrait de rafles de maïs par un traitement alcalin sous ultrason. La fraction a montré une activité anti-oxydante totale proche de 48,5 mg d'équivalent acide ascorbique/g de xylane. Plus récemment, des fractions enrichies en xylane, extraites dans des conditions similaires aux travaux de Melo-Silveira et al. (2016) avec ajout de méthanol, ont subi de nombreux tests afin d'étudier leurs activités anti-oxydantes (Viana et al., 2016). Des effets dose-dépendant ont été mis en lumière par les auteurs, à hauteur de 35% de l'activité de l'acide ascorbique, toujours utilisé comme référence. Les activités natives des xylanes peuvent être améliorées en les conjuguant à d'autres molécules pour synthétiser de nouvelles structures.

Les travaux de Wrigstedt et al. (2010) mettent ainsi en avant de bonnes activités anti-oxydante d'un conjugué acide hydroxyciannamique-esters de glucuronoxylane. Un conjugué à base de polysaccharides naturels a été également testé comme un nouveau conservateur alimentaire (Wu et al., 2013). Le polymère a été obtenu par hydrolyse enzymatique du chitosane avec une protéase neutre immobilisée, avec un DP moyen de 2 à 5. Le complexe chito-oligomère-zinc (CGZC) a d'abord été produit et ensuite co-chauffé avec du xylane pour préparer le complexe chito-oligomère-xylane zinc (XCGZC). XCGZC a ainsi montré une activité anti-oxydante plus élevée que le chito-oligomère, le chito-oligomère-zinc et le chito-oligomère xylane. L'IC<sub>50</sub> de XCGZC était de 5,37 mg/mL, ce qui est égal à la capacité anti-oxydante de 3,28 mg/mL d'hydroxytoluène butylé. XCGZC peut être utilisé comme un nouveau conservateur prometteur avec des propriétés anti-oxydantes dans l'industrie alimentaire (Wu et al., 2013). Un 4-*O*- méthylglucuronoxylane a été isolé de *Castanea sativa* en utilisant deux procédures différentes : (i) la délignification du chlorite suivie de l'étape d'extraction alcaline classique (MGX 1) et (ii) un procédé chimique de chimie vert inhabituel de délignification utilisant de la phtalocyanine/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suivie d'une extraction simple avec l'eau chaude (MGX 2). Les propriétés anti-oxydantes des deux MGX ont été évaluées par rapport au radical libre (DPPH). (MGX 1) n'a présenté aucune activité significative contrairement à (MGX 2) qui a permis la disparition complète des radicaux DPPH à 500 µg /mL, permettant de déterminer une IC<sub>50</sub> pour la fraction MGX 2 hydrosoluble inférieure à 225 µg/mL (et contrairement à la fraction MGX alcaline pour laquelle aucune activité n'a été observée) (Renault et al., 2014). Et dans les mêmes conditions, la vitamine C, universellement connue comme référence pour ce genre de test, a présenté une IC<sub>50</sub> de 25 µg/mL. On peut conclure que le nouveau processus d'extraction apporte un nouveau type de MGX avec un potentiel antioxydant intéressant mais toutefois dix fois inférieur à celui de la vitamine C (Renault et al., 2014). La caractérisation des extraits par analyse colorimétrique, CPGCLHP-MS et spectroscopie RMN a fourni certains indices pour comprendre les relations structure-fonction de ces fractions MGX, en rapport avec leur activité antioxydante. Lors de l'oxydation de la lignine par l'utilisation du système phtalocyanine/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, les xylanes ont probablement été oxydés conduisant à l'ouverture des anneaux de xylose et la formation de fonctions aldéhyde et carboxylique (**Figure 33**). De plus, le système FePcS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a déjà été utilisé pour l'oxydation du polysaccharide et les nouvelles fonctions créées par ce système pourraient interagir avec les radicaux DPPH. Cette oxydation conduit ainsi à l'augmentation du caractère acide des glucuronoxylanes (Renault et al., 2014).





**Figure 33.** L'oxydation des xylanes par l'utilisation du système phthalocyanine/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Renault et al., 2014).

Notons toutefois, et de manière générale, que l'ensemble des activités reportées dans la littérature (peu nombreuses d'ailleurs) restent faibles comparativement à la vitamine C, limitant le potentiel applicatif des xylanes et de conjugués synthétisés, dont les procédés de synthèse ne sont d'ailleurs pas toujours simples et/ou « vert ».

#### 2.3.2.1.4 Activité immunomodulatrice

Un agent immunomodulateur permet de stimuler ou d'inhiber divers acteurs du système immunitaire et de prévenir des maladies infectieuses ou cancéreuses. L'une des nouvelles tendances de la recherche dans le développement d'agents immunomodulateurs est l'identification de produits naturels présentant une toxicité faible ou tolérable dans les applications cliniques (Huang et al., 2014). Un xylane acide, nommé CTPB1, a été obtenu à partir de racines de *Cudrania tricuspidata*. Le poids moléculaire moyen de ce polysaccharide est estimé à  $4,0 \times 10^4$  Da. L'analyse de la composition en monosaccharide indique que le seul sucre neutre présent dans ce polysaccharide est du xylose. Les analyses structurales ont montré que ce polysaccharide était un 4-*O*-méthyl-D-glucurono-D-xylane dont le groupe 4-*O*-méthyl-GlcpA était lié à la position *O*-2 du squelette principal de (1,4)- $\beta$ -D-xylane. L'unité répétitive de CTPB1 est composée d'un résidu terminal non réducteur d'acide 4-*O*-méthyl-D-glucuronique tous les quatre résidus de xylose. Les tests d'activité immunomodulateurs *in vitro* ont montré que le CTPB1 peut induire la prolifération des splénocytes de souris avec des concentrations allant de 6,25-100  $\mu$ g/mL. CTPB1 pourrait être un immunostimulant potentiel utilisé dans l'industrie alimentaire (Shi et al., 2014). La relation structure-fonction de deux types d'hétéroxylanes acides, (i) un arabinoglucuronoxylane isolé à partir d'épis de maïs et (ii) un 4-*O*-méthylglucuronoxylane isolé du hêtre et trois herbes médicinales (*Rudbeckia*, *Altheae* et *Mahonia*) a été étudié.

L'effet de la masse molaire de l'AGX, ainsi que la composition et la distribution des chaînes latérales 4-*O*-méthylglucuronoxylanes du GX sur l'activité immunologique ont été caractérisées par l'étude leurs réponses biologique dans les tests de thymocytes mitogènes et comitogènes *in vitro* (Ebringerova et al., 2002). La dépolymérisation de l'AGX par ultrasons a entraîné une diminution de l'activité immunomodulatrice, alors qu'un traitement par l'endo- $\beta$ -1,4-xylanase entraînait une augmentation significative de son activité biologique. Dans le cas des échantillons GX, ni la teneur en acide uronique ni la distribution des chaînes latérales d'acide uronique ne se sont révélées déterminantes pour l'expression de leur activité immunomodulatrice (Ebringerova et al., 2002). Capik et Matulova, (2013) ont isolé un AGX à partir d'une fraction hémicellulosique immunomodulatrice de *Salvia officinalis* L. par extraction alcaline suivi d'une précipitation avec une solution d'hydroxyde de baryum. L'AX, d'une masse moléculaire de 84 kDa avait une chaîne principale de  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  4) Xylp avec un faible degré de substitution (9-10%) en *O*-2 et *O*-3 par des résidus GlcA et 4-*O*-MeGlcA. Un polysaccharide immunostimulant (BLE-PI), qui possède une grande proportion d'arabinoxylane, a aussi été isolé à partir de feuilles de *Hordeum vulgare* L (Kim et al., 2017). L'activité stimulée des macrophages a montré que ce polysaccharide présentait un rôle dans l'expression de l'activité immunomodulatrice. Les auteurs soulignent d'ailleurs que l'activité immunomodulatrice est probablement liée à la complexité structurelle de l'AX.

#### 2.3.2.1.5 Activité anti-cancéreuse

Le cancer est l'une des maladies les plus graves qui affectent la santé humaine. On prévoit que près de 21,4 millions de nouveaux cas de cancer et plus de 13,2 millions de décès sont susceptibles de se produire d'ici 2030. Par conséquent, il est nécessaire de travailler sur des agents antitumoraux qui ont de faibles effets toxiques et un fort succès contre la croissance tumorale (Li et al., 2017c). Cependant, presque tous les médicaments de chimiothérapie actuellement sur le marché provoquent des effets secondaires plus ou moins graves. Dans ce contexte, plusieurs études ont montré que certains polysaccharides et complexes polysaccharides-protéines, possèdent des activités anti-cancéreuses ou peuvent accroître l'efficacité des traitements de chimiothérapie classique. Sur la base de ces observations de nombreux travaux se sont focalisés sur l'identification de ces polysaccharides anti-tumoraux. La plupart des polysaccharides ont été testés à l'aide de systèmes modèles, et certains ont fait l'objet d'essais cliniques (Zong et al., 2012). L'activité cytotoxique des cellules (NK) joue un rôle majeur dans les défenses immunologiques naturelles contre les tumeurs malignes. Les cellules NK apparaissent comme un outil pour les immunothérapies contre le cancer.

L'arabinoxylane de son de riz (MGN-3/Biobran) a été décrit comme un modificateur de réponse biologique qui peut améliorer l'activité cytotoxique des cellules NK. Cette étude a évalué l'effet de MGN-3/Biobran sur l'activation, l'expansion et la cytotoxicité des cellules NK contre les cellules de neuroblastome (Pérez-Martínez et al., 2015). Les cellules NK ont été enrichies en perles magnétiques stimulées par le MGN-3/Biobran. L'activation des cellules NK a été évaluée par l'analyse de leur phénotype, et leur capacité d'expansion a été suivie. La capacité cytotoxique *in vitro* des cellules NK activées a été testée contre les lignées cellulaires K562, Jurkat, A673, NB1691, A-204, RD et RH-30 et la capacité cytotoxique *in vivo* contre la lignée cellulaire NB1691 (Pérez-Martínez et al., 2015). La stimulation du MGN-3/Biobran des cellules NK induit une grande expression des récepteurs CD25 et CD69 associés à l'activation que dans les cellules non stimulées. La stimulation par MGN-3/Biobran a augmenté l'activité cytotoxique des cellules NK contre toutes les lignées cellulaires testées *in vitro* et ralentissait la croissance du neuroblastome *in vivo*. Le mécanisme n'est pas médié par la contamination par les lipopolysaccharides dans le MGN-3/Biobran. En outre, l'ajout de MGN-3/Biobran a favorisé l'expansion des cellules NK (Pérez-Martínez et al., 2015). L'arabinoxylane MGN-3/Biobran augmente la régulation des marqueurs d'activation des cellules NK, stimule l'activité cytotoxique des cellules NK contre le neuroblastome *in vitro* et *in vivo* et augmente sélectivement l'expansion des cellules NK. D'autres études portent également sur le MGN-3/Biobran (Gollapudi et Ghoneum, 2008). Il est reporté que le MGN-3/Biobran sensibilise les cellules de leucémie humaine à l'apoptose et présente une activité de chimio-sensibilisation contre les cellules de cancer du sein humain (*in vitro*). Ainsi, le produit (testé de 100 à 1000 µg/mL pendant 3 jours) a permis d'améliorer la sensibilité des cellules à la daunorubicine, qui est utilisée dans les thérapies de traitement du cancer. D'autres polysaccharides, dont des AX extraits du son de riz, montrent une activité anti-tumorale contre les cellules tumorales, même si le mécanisme reste mal compris (Wang et al., 2016). L'effet de cet AX a été évalué sur la lignée cellulaire de mélanome de souris B16 et les macrophages Raw264.7. L'AX n'a pas réussi à inhiber la croissance cellulaire des lignées B16 *in vitro*. Cependant, les macrophages Raw264.7 traités par l'AX étaient plus efficaces en termes de capacités cytotoxiques. Cette cytotoxicité a été confirmée par la stimulation de la production d'oxyde nitrique (NO) et de la sécrétion de facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ) sur les macrophages Raw264.7 de manière dose-dépendante

Cao et al. (2011) ont eux aussi étudié l'activité anti-tumorale d'un arabinoxylane de son de blé. Chez la souris S180, l'administration d'arabinoxylane a inhibé de manière significative la croissance de tumeurs transplantables de souris et a favorisé le thymus et la rate, la prolifération des splénocytes, l'activation des cellules tueuses naturelles (NK) et la phagocytose par des macrophages. En outre, il a augmenté le nombre de leucocytes périphériques et les cellules de la moelle osseuse chez les souris porteuses de tumeur. Comme l'activité anti-tumorale des arabinoxylanes peut être médiée par l'amélioration de la réponse immunitaire, ils peuvent être considérés comme un agent anti-tumoral ayant une activité immunomodulatrice.

## 3 Matériels et méthodes

### 3.1 Matériel biologique et choix des plantes

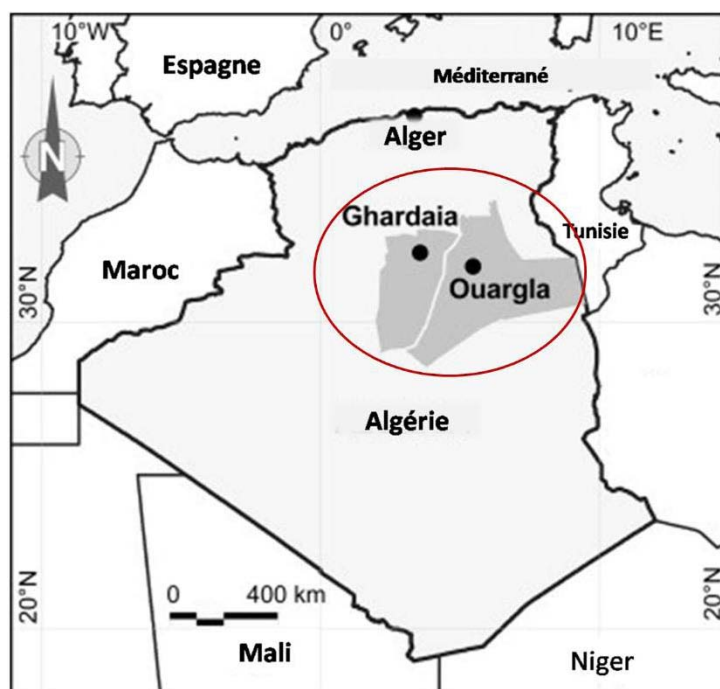
Le Sahara Septentrional Est Algérien possède une végétation diffuse et clairsemée (Ozenda, 1977). Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal (Quézel et Santa, 1963). La richesse et la diversité de la flore spontanée médicinale Saharienne ainsi que les relations entre l'homme et les espèces végétales, méritent une attention particulière (Ould El Hadj et al., 2003). Les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été pendant longtemps le principal, voire l'unique recours pour soigner des désordres sanitaires (Benarba et al., 2015), et sont devenues plus récemment une matière première de premier choix pour la médecine moderne (Ould El Hadj et al., 2003). Dans les zones tropicales et subtropicales, il existe des plantes succulentes et non-succulentes qui abritent des polysaccharides mucilagineux dans leurs tissus, à la surface de leurs graines ou dans leurs téguments (Boual, 2014). Ces mucilages peuvent avoir des applications industrielles variées (Alpizar-Reyes et al., 2017) comme reporté précédemment. Le choix des plantes est effectué en fonction de critères botaniques, chimio-taxonomiques et des données ethnopharmacologiques indiquant l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle (Houel, 2011). Le choix des parties de la plante à traiter dépend de l'espèce, de la plante utilisée et parfois de l'effet escompté. L'utilisation ancestrale de ces plantes et la connaissance des tradipraticiens permettent d'affiner ce choix. Généralement, les polysaccharides des plantes sont concentrés dans des parties bien spécifiques, à savoir dans les organes de stockage et/ou souterrain comme les graines, les bulbes et les racines (Boual, 2014). Le matériel biologique utilisé pour cette étude se compose de deux plantes spontanées à caractère médicinal récoltées au Sahara Septentrional Est Algérien. Il s'agit de deux espèces végétales, à savoir *Plantago notata* (*Plantaginaceae*) et *Urginea noctiflora* (*Liliaceae*). Les différentes parties des plantes concernées sont les feuilles, épis et graines pour la première plante et les feuilles, bulbes et racines pour la seconde (**Figure 34**).



**Figure 34.** Parties utilisées de (A) *Plantago notata* et (B) *Urginea noctiflora* (source personnelle).

### 3.2 Préparation de la matière première

Pour une bonne réussite de l'échantillonnage, la saison où le développement et la diversité floristique sont maxima, notamment pour les espèces annuelles, est retenue. La floraison des espèces pérennes facilite leur identification (Ozenda, 1983). Les graines et les feuilles de *Plantago notata* (*Plantaginaceae*) ont été collectées en Juin 2014 dans le Sahara Septentrional Est Algerian, près de la zone d'Oued Nchou à Ghardaïa. Les feuilles, bulbes et racines d'*Urginea noctiflora* (*Liliaceae*) ont été collectées en Mars 2015 près de la zone de Taibet à Ouargla (**Figure 35**). Les parties récoltées ont été transportées au laboratoire, identifiées (botanique), séchées à l'air libre à l'abri de lumière et à température ambiante pendant trois semaines et conservées à température ambiante. Avant utilisation, les feuilles, bulbes et racines d'*Urginea noctiflora* ont été broyées (Waring Commercial Blender, 38BL41) en fine poudre ( $< 50 \mu\text{m}$ ). Les feuilles de *Plantago notata* ont subi le même traitement. Les graines de *P. notata* ont quant à elles été séparées manuellement de leurs épis afin d'obtenir les graines entières.



**Figure 35.** Situation géographique de la zone de récolte (Bradai et al., 2015).

### 3.3 Extraction et purification des polysaccharides

**Principe :** les protocoles utilisés sont largement décrits dans la littérature (Boual et al., 2015b ; Petera et al., 2015 ; Pinto et al., 2015) et reposent sur une extraction aqueuse à différents pH (séparation des polymères hydrosolubles et alcali-solubles) à une température supérieure à 50°C suivie d'étapes de centrifugation (séparation des solubles et insolubles) et de précipitations alcooliques (séparations spécifiques des polysaccharides).

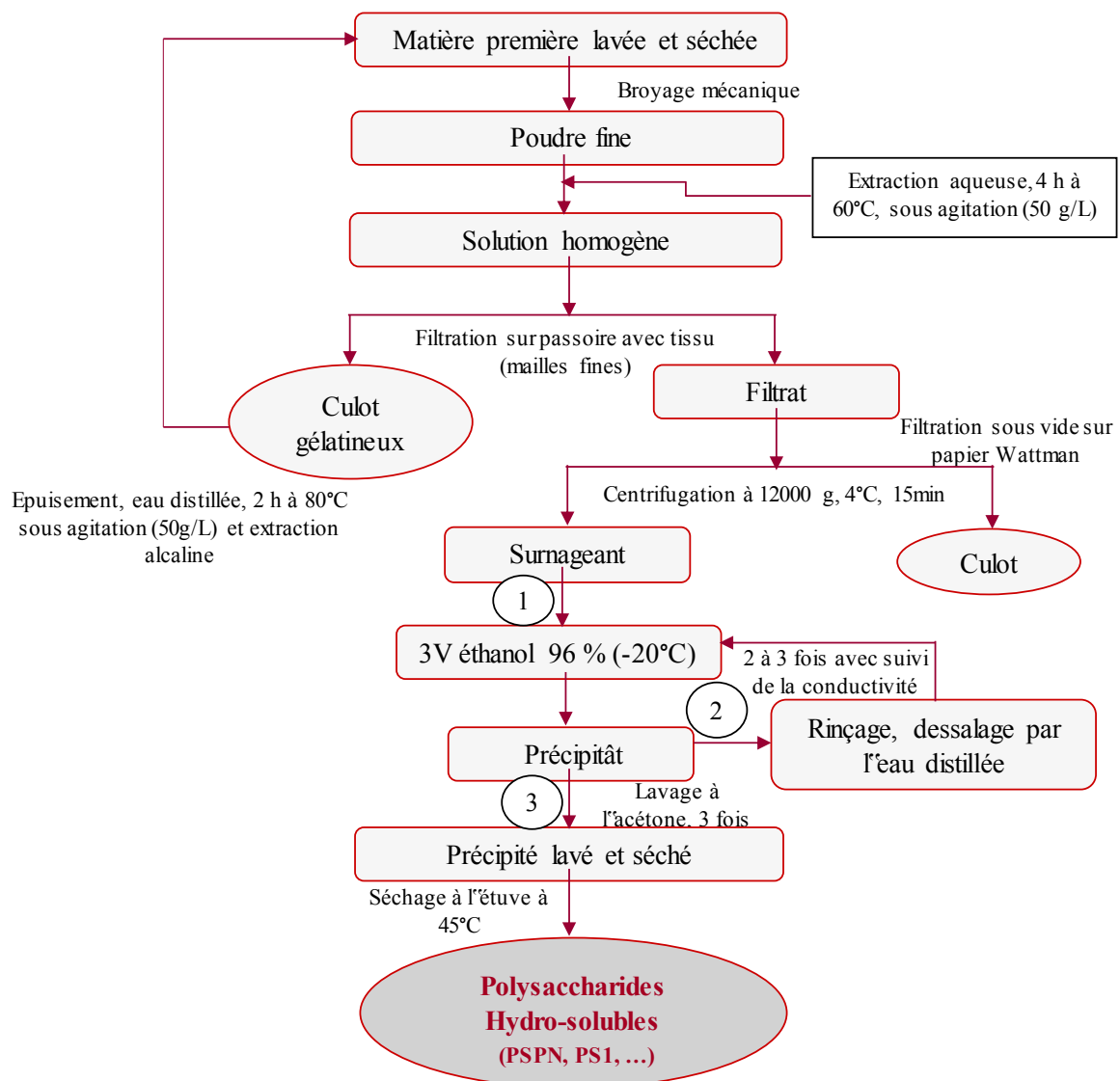
**Matériels et réactifs :** Ethanol absolu (Sigma-Aldrich, 32221). Acétone (Sigma-Aldrich, 34850). Hydroxyde de potassium (Sigma-Aldrich, P1767). Acide chlorhydrique (Sigma-Aldrich, 435570). Solution aqueuse de KOH et HCl à 2 M. Eau ultra pure (millipore). Matériel végétal broyé (50 g/L). Agitateur à pales (Heidolph, RZR 2021). Centrifugeuse (Beckman Coulter, Aventi<sup>®</sup>J-E). Conductimètre (Hach, sensION<sup>TM+</sup> EC7). Etuve sèche (Jouan). Système à reflux. Büchner sous vide et papier Wattman (Porosité 20-25 µm). Verre fritté porosité 2. Passoire. Mortier et pilon.

**Mode opératoire :** Deux méthodes d'extraction ont été mises en place, une extraction aqueuse à (i) pH neutre et une seconde à (ii) pH alcalin (KOH 2 M) :

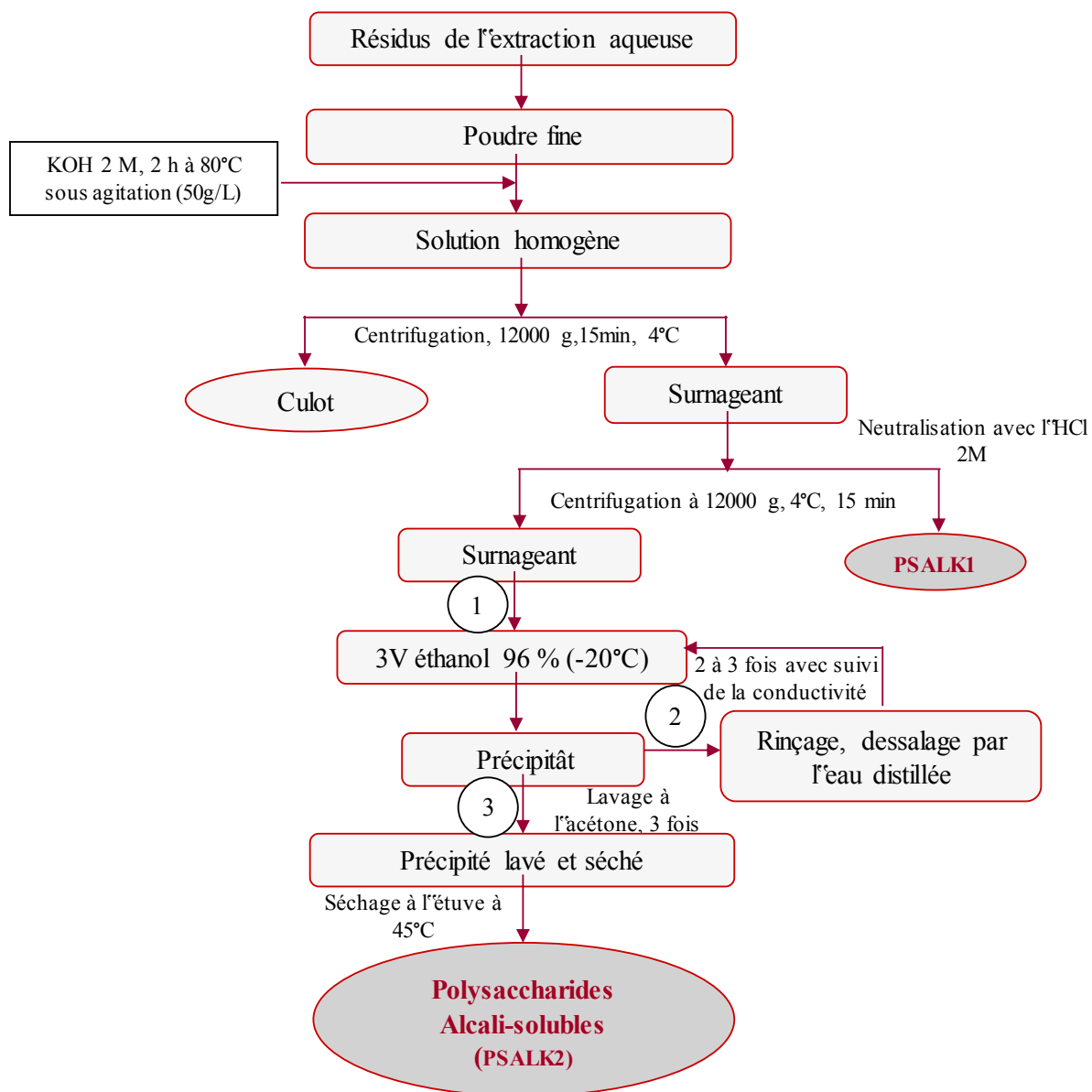
(i) Au cours de la première extraction, le matériel végétal (feuilles, graines de *Plantago notata* et feuilles, bulbes et racines d'*Urginea noctiflora*) est mis en suspension dans l'eau de l'eau ultra pure à une concentration de 50 g/L. Le mélange est placé sous agitation à 750 rpm pendant 4 h à 60°C à l'aide d'un agitateur à pales puis filtré à travers une passoire à mailles fines pour retirer les débris macroscopiques insolubles (gâteau). Le filtrat obtenu est centrifugé à 12 000 g pendant 15 min à 4°C. 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 hydrosolubles présents dans le filtrat sont précipités (3 fois) par 3 volumes d'éthanol 96% à froid (-20°C) sous agitation (350 rpm) avec suivi de la conductivité et de la concentration en équivalent NaCl, puis récupérés par filtration sur verre fritté de porosité 2. Ils sont finalement lavés à l'éthanol 96% (300 mL) puis à l'acétone (150 mL). Les polysaccharides obtenus sont ensuite séchés à 45°C pendant 24 h dans une étuve et broyés en poudre fine. Ce procédé d'extraction est répété sur le gâteau afin d'épuiser au maximum la matière première. Un schéma général du procédé d'extraction réalisé est présenté en **Figure 36**.

(ii) Les résidus obtenus après épuisement sont ensuite suspendus dans une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium (KOH 2 M) à une concentration de 50 g/L pendant 2 h à reflux (80°C). Le mélange est ensuite filtré à travers une passoire à mailles fines pour retirer les débris macroscopiques insolubles (gâteau). Le filtrat obtenu est centrifugé à 12 000 g pendant 15 min à 4°C. Le surnageant est ensuite neutralisé par l'ajout d'acide chlorhydrique (HCl 2M) puis centrifugé à 12 000 g pendant 15 minutes à 4°C. Les polysaccharides présents dans le culot sont lavés à l'éthanol 96% (300 mL) puis à l'acétone (150 mL) par filtration sur verre fritté de porosité 2. Les polysaccharides obtenus sont ensuite séchés à 45°C pendant 24 h dans une étuve et broyés en poudre fine (PSALK1). Les polysaccharides alcali-solubles présents dans le surnageant sont précipités (3 fois) par 3 volumes d'éthanol 96% à froid (-20°C) sous agitation (350 rpm) et récupérés par filtration sur verre fritté de porosité 2. Ils sont finalement lavés à l'éthanol 96 % (300 mL) puis à l'acétone (150 mL). Les polysaccharides obtenus sont ensuite séchés à 45°C pendant 24 h dans une étuve et broyés en poudre fine (PSALK2). Un schéma général du procédé d'extraction réalisé est présenté en **Figure 37**. Le **Tableau 11** synthétise le nom et conditions de tous les extraits produits.





**Figure 36.** Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles (source personnelle).



**Figure 37.** Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides alcali-solubles (source personnelle).

**Tableau 11.** Dénominations et conditions d'obtention des différentes fractions extraites (source personnelle).

	<i>Plantago notata</i>			<i>Urginea noctiflora</i>		
	Epis	Graines	Feuilles	Bulbes	Racines	Feuilles
<b>Extraction</b>	PSP	PSPN	PSF	PS1 PSALK2 <sup>(1)</sup>	PSR	PSUF
<b>Epuisement</b>	PSPE	PSPNE	PSFE	-	PSRE	PSUFE

<sup>(1)</sup> Fraction alcali-soluble.

### 3.4 Analyse de la composition globale des polysaccharides.

Cette partie de l'étude a consisté en la détermination de la composition biochimique des différentes fractions obtenues après extraction. Pour se faire, les teneurs en sucres totaux, sucres réducteurs, acides uroniques, protéines et polyphénols ont été quantifiées au moyen de méthodes colorimétriques (**Tableau 12**). L'étude des empreintes infrarouge obtenues pour les différents polysaccharides complète cette caractérisation de la composition globale.

**Tableau 12.** Seuils minimaux des différentes méthodes colorimétriques utilisées au cours de l'étude (source personnelle).

Dosage colorimétrique	Méthode utilisée	Seuil minimal de détection (mg/L)
<b>Sucres totaux</b>	<i>Dubois et al. (partie 3.4.1)</i>	15
<b>Sucres neutres</b>	<i>Monsigny et al. (partie 3.4.2)</i>	25
<b>Sucres réducteurs</b>	<i>Waffenschmidt et Jaenicke (partie 3.4.3)</i>	15
<b>Acides uroniques</b>	<i>Filisetti-Cozzy et al. (partie 3.4.2)</i>	20
<b>Protéines</b>	<i>Bradford et al. (partie 3.4.4)</i>	5
<b>Polyphénols</b>	<i>Singleton et al. (partie 3.4.5)</i>	20

Les teneurs en oses totaux, neutres et acides, en protéines et en composées phénoliques totaux des polysaccharides de *P. notata* et *U. noctiflora* ont été déterminées par des méthodes colorimétriques. La solution à doser est préparée à une concentration de 5 g/L (0,5 %) par l'ajout de 10 mL d'eau ultrapure à 50 mg de la poudre de l'extrait, puis diluée à 1/10, 1/20, 1/50 et 1/100 (v/v).

### 3.4.1 Dosage des sucres totaux

La composition en sucres totaux constitutifs des différentes fractions a été déterminée *via* l'utilisation de la méthode de dosage colorimétrique développée par Dubois et al. (1956). On peut noter que les acides uroniques sont également détectés par cette méthode.

**Principe :** sous l'action d'acides minéraux concentrés et à chaud, les hexoses et pentoses du milieu subissent une déshydratation interne poussée, suivie d'une cyclisation aboutissant à la formation de dérivés du furfural et 5-hydroxyméthylfurfural, réagissant avec le phénol. La formation d'un complexe jaune-rouge permet de suivre la concentration en sucres totaux de l'échantillon en lisant l'absorbance à 485 nm.

**Matériels et réactifs :** phénol (Sigma-Aldrich, PL037). Acide sulfurique 95-97% (Honeywell, 30743). Solution aqueuse de phénol à 5% (m/v). Glucose (Sigma-Aldrich, G8270). Eau ultrapure. Echantillons à analyser (1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Bain marie (Julabo, TW12). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-Visible-1700-Pharma Spec).

**Mode opératoire :** dans des tubes de dosage en verre, introduire 1 mL d'échantillon et placer les tubes dans un bain de glace. On ajoute ensuite 1 mL de la solution aqueuse de phénol 5%. Après homogénéisation, on ajoute avec précaution 5 mL d'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (96%). Les tubes sont ensuite incubés à l'obscurité pendant 30 mn. L'absorbance est mesurée à  $\lambda=485$  nm.

### 3.4.2 Dosage des oses neutres et acides

Les concentrations (i) des oses neutres et (ii) des oses acides ont été déterminées respectivement par la méthode de Monsigny et al. (1988) et par la méthode de Blumenkrantz & Asboe-Hansen (1973) modifiée par Filisetti-Cozzy et al. (1991).

**Principe :**(i) le dosage des oses neutres constitutifs repose sur la réactivité des dérivés furfuraux formés à chaud sous l'action d'un acide concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) vis-à-vis du résorcinol pour le dosage des oses neutres. Le chromophore formé peut-être mesuré à une absorbance de  $\lambda=450$  nm. (ii) Sous l'action d'acides minéraux concentrés à chaud, les acides uroniques du milieu subissent également une déshydratation interne poussée suivie d'une cyclisation aboutissant à la formation de dérivés d'acide 5-formylfuroïque. Les acides uroniques réagissent alors avec le *mé*ta-hydroxydiphényl (*m*-HDP) pour former un chromophore de couleur rose absorbant à  $\lambda=525$  nm.

La coloration est améliorée par la présence de borate mais reste très sensible aux interférences dues aux oses neutres qui se déshydratent et colorent en présence d'acide sulfurique concentré. L'ajout de sulfamate de potassium permet de limiter ces interférences.

**Matériels et réactifs :** résorcinol (Sigma-Aldrich, 398047). Acide sulfurique 95-97% (Honeywell, 30743). Tétraborate de sodium (Sigma-Aldrich, 221732). *m*-hydroxydiphényl (*m*-HDP) (Sigma-Aldrich, 262250). Diméthylsulfoxyde (Sigma-Aldrich, D4540). Solution aqueuse de tétraborate de sodium à 0,12M dans de l'acide sulfurique à 96% (conservée à 4°C à l'abri de la lumière). Solution aqueuse d'acide sulfurique à 80%. Solution aqueuse de résorcinol à 0,6% (m/v) (conservée à 4°C à l'abri de la lumière). Solution de *m*-HDP à 100 g/L dans du DMSO puis à 2,04 g/L dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 80%. Glucose (Sigma-Aldrich, G8270). Acide galacturonique (Sigma-Aldrich, 48280). Eau ultrapure. Echantillons à analyser (1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Bain marie (Julabo, TW12). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-Visible-1700-Pharma Spec).

**Protocoles :** (i) Mélanger 200 µL de solution à doser à 200 µL de solution de résorcinol, puis 1 mL d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 80 %. Après agitation des tubes, les boucher avec du papier d'aluminium pour limiter l'évaporation et les placer au bain marie à 90°C pendant 30 min à l'abri de la lumière. Une coloration jaune brun apparaît progressivement. Laisser refroidir les tubes à température ambiante pendant 30 min à l'abri de la lumière. Diluer chaque tube au 1/2 en ajoutant 1,4 mL d'eau ultrapure (afin d'éviter une saturation lors de la mesure des absorbances). Mesurer l'absorbance à λ=450 nm. La concentration en oses neutres est obtenue par référence à une gamme étalon de glucose réalisée à des concentrations comprises entre 0 et 0,4 g/L. Une gamme de référence est également réalisée contre de l'acide galacturonique pour prendre en compte les interférences liées aux acides uroniques. (ii) Mélanger 200 µL de solution à doser à 1 mL d'une solution de borax à 0,12M. Après agitation des tubes, les boucher avec du papier aluminium pour limiter l'évaporation et les placer au bain marie à 90°C pendant 1 h. Une coloration marron apparaît progressivement. Après avoir sorti les tubes du bain marie, ajouter 200 µL de la solution de *m*-HDP et agiter. Incuber 2 min à 90°C très précisément. Une coloration violette apparaît progressivement. Mesurer l'absorbance à λ=520 nm. La concentration en acides uroniques est obtenue par référence à une gamme étalon d'acide galacturonique réalisée à des concentrations comprises entre 0 et 0,4 g/L. Une gamme de référence est également réalisée contre du glucose pour prendre en compte les interférences liées aux oses neutres.

**Calculs du facteur de correction proposé par Montreuil & Spike (1963) :** la méthode permet d'éliminer les interférences dues aux oses neutres (ON) notamment dans le dosage des oses acides (OA) (*Équation 2* et *Équation 3*).

$$\begin{aligned} \text{DO résorcinol} &= \alpha [\text{ON}] + \beta [\text{OA}] \\ \text{DO m-HDP} &= \alpha' [\text{ON}] + \beta' [\text{OA}] \\ \text{DO m-HDP} &= \beta' [\text{OA}] \\ & \text{(la concentration en ON est négligeable)} \end{aligned}$$

**Équation 2.** 
$$[\text{OA}] = \frac{\text{DO m-HDP}}{\beta'}$$

**Équation 3.** 
$$[\text{ON}] = [\text{DO résorcinol} - (\beta' \frac{\text{DO m-HDP}}{\beta'})] / \alpha$$

*Avec  $\alpha$  est le coefficient directeur de la gamme étalon d'ON obtenue par le dosage au résorcinol,  $\beta$  ; coefficient directeur de la gamme étalon d'OA obtenue par le dosage au résorcinol,  $\alpha'$  ; coefficient directeur de la gamme étalon d'ON obtenue par le dosage au m-HDP et  $\beta'$  ; coefficient directeur de la gamme étalon d'OA obtenue par le dosage au m-HDP.*

### 3.4.3 Dosage des sucres réducteurs

La concentration en sucres réducteurs a été déterminée par la méthode de Waffenschmidt et Jaenicke (1987).

**Principe :** l'acide 2,2'-bicinchoninique et ses dérivés forment en condition alcaline un complexe bleu avec les ions  $\text{Cu}^+$  formés lors de l'oxydation des aldoses en acides aldoniques. Le composé chromogénique peut-être suivi par spectrophotométrie à  $\lambda=540$  nm permettant ainsi la quantification des oses libres.

**Matériels et réactifs :** bicarbonate de sodium (Sigma-Aldrich, S6297). Carbonate de sodium (Sigma-Aldrich, S7795). 4,4'-dicarboxybiquinoline (Sigma-Aldrich, 14335). Sulfate de cuivre pentahydraté (Sigma-Aldrich, C8027). L-sérine (Sigma-Aldrich, S4500). Solution A (31,75 g  $\text{NaHCO}_3$ , 12,1 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dans 450 mL d'eau ultrapure. La solution est utilisée pour dissoudre 0,971 g de 4,4'-dicarboxybiquinoline et le volume est ajusté à 500 mL avec de l'eau ultrapure). Solution B ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dans 450 ml d'eau ultrapure puis ajouté 0,631 g de L-sérine et ajuster à 500 mL). Galactose (Sigma-Aldrich, G0750). Eau ultrapure. Echantillons à analyser (1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Bain marie (Julabo, TW12). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-Visible-1700-Pharma Spec).

**Protocole :** dans un tube à essai en verre, introduire 200  $\mu\text{L}$  de l'échantillon à analyser, 800  $\mu\text{L}$  d'eau ultrapure et 1 mL de la solution mélange A+B (1 : 1 v/v). Incuber les tubes durant 15 min à 100°C dans un bain marie puis conserver les tubes pendant 20-25 min à température ambiante. Mesurer l'absorbance à  $\lambda=540$  nm. La concentration en sucres réducteurs est obtenue par référence à une gamme étalon de galactose réalisée entre 0 et 0,2 g/L.

#### 3.4.4 Dosage des protéines

La concentration en protéines a été déterminée par la méthode de Bradford et al. (1976).

**Principe :** la méthode de Bradford est basée sur le changement de couleur du bleu de Coomassie lorsqu'il se complexe avec les acides aminés basiques, (arginine, histidine, lysine) et les acides aminés hydrophobes présents dans les protéines. Les formes cationiques (libres) du colorant sont rouge-marron. La forme anionique du réactif correspond à la forme liée avec les protéines. L'absorbance de ce complexe est mesurée à 595 nm. L'absorbance est proportionnelle à la quantité de protéines dans l'échantillon.

**Matériels et réactifs :** réactif de Bradford (Sigma-Aldrich, B6916). Sérum d'albumine bovine (BSA) (Sigma-Aldrich, A2153). Eau ultrapure. Echantillons à analyser (1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-Visible-1700-Pharma Spec).

**Protocole :** la méthode dite « micro-Bradford » est plus sensible que la méthode standard, et est applicable pour des échantillons contenant une concentration en protéines inférieure à 20  $\mu\text{g}$ . Dans chaque tube introduire 800  $\mu\text{L}$  de solution à doser et 200  $\mu\text{L}$  de réactif Bradford. Mélanger, laisser le mélange à l'obscurité pendant 30 min et lire la DO à  $\lambda=595$  nm. Un SAB a été utilisé comme standard et préparé à des concentrations allant de 0 à 10 g/L.

#### 3.4.5 Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques est une méthode d'analyse quantitative réalisée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon le protocole adapté de Singleton et al. (1999).

**Principe :** le réactif de Folin-Ciocalteu contenant du phosphomolybdate et du tungstate de sodium, oxyde les polyphénols et se réduit en oxydes de tungstène et de molybdène (bleu) qui absorbent à 750 nm.

**Matériels et réactifs :** Réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, F9252). Carbonate de sodium (Sigma-Aldrich, S7795). Solution aqueuse de carbonate de sodium à 10%. Acide gallique (Sigma-Aldrich, G7384). Eau ultrapure. Echantillons à analyser (1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-Visible-1700-Pharma Spec).

**Protocole :** diluer 0,5 mL de chaque solution à doser dans 10 mL d'eau ultrapure puis ajouter 0,5mL du réactif de Folin-Ciocalteu, et laisser reposer 3 min. Rajouter 1mL d'une solution saturée de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  puis mélanger pendant 10 secondes. Laisser à l'obscurité 1h jusqu'à apparition d'une coloration bleue et mesurer la DO à  $\lambda=750$  nm. L'acide gallique est utilisé comme référence à des concentrations comprises entre 0 et 0,2 g/L.

#### 3.4.6 Analyses infrarouge (IR-TF)

**Principe :** la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est une spectroscopie d'absorption qui permet l'identification des groupements moléculaires d'un échantillon. Les liaisons chimiques absorbent le rayonnement infrarouge (IR) à des longueurs d'ondes spécifiques dépendant de leur nature et de leur conformation. Les informations données par le spectre permettent l'identification et le dosage des différents constituants. Cette fenêtre spectrale de l'IR se décompose en trois domaines : le proche, le moyen et le lointain IR. La plage spectrale, qui s'étend de  $4000\text{ cm}^{-1}$  à  $400\text{ cm}^{-1}$ , est la plus adaptée à l'analyse d'échantillons biologiques organiques comme les polysaccharides, dont font partie les xylanes et arabinoxylanes (*Tableau 13*). En effet, ce domaine, correspondant aux transitions moléculaires de type vibration et rotation, contient la quasi-totalité des signatures spectrales des molécules du vivant (Keirsse 2003 ; Boutaleb 2007). Différents modules permettent d'accéder aux spectres de vibration en transformant au minimum les échantillons. La réflexion totale atténuée (ATR) permet l'analyse d'une fine couche d'échantillon. Le principe du dispositif ATR est de faire subir au faisceau optique plusieurs réflexions à l'interface entre un cristal (indice de réfraction très élevé) et l'échantillon (indice plus faible). A chaque réflexion le faisceau pénètre de quelques microns dans l'échantillon. La somme des réflexions permet ainsi d'accroître la sensibilité (Pierre, 2010).



**Tableau 13.** Attribution des bandes IR pour l'étude de différents xylanes en IR-TF et Raman-TF (Kačuráková et al., 1999).

1→4X	1→3X	IR, R	Assignment	Commentaire
3400 b	3400 b, 3248 sh	IR	$\nu$ (OH)	
2933 m		R	$\nu$ (CH)	AGX, AX
2917 sh		R	$\nu$ (CH)	
1381 m		IR	$\delta$ (CH), $\delta$ (OH)	HC3-O
1376 s, 1365 m		R, IR	$\delta$ (CH), $\delta$ (OH), ip	C3-OH
1348 m		IR	$\delta$ (CH) w	
	1171 vs	R, IR	$\delta$ (CH), $\delta$ (COH)	C3-OH
1312 m,s		IR	$\nu$ (C-O-C), $\nu$ (C-C)	g.l., C3- O3
1169, 1149 m		IR	$\nu$ (C-O-C), $\nu$ (C-C)	g.l., C4- O4
1131-1121 sh		IR	$\nu$ (C-O-C), $\nu$ (C-C)	g.l.
1125 vs		R	$\nu$ (C-O-C), $\nu$ (C-C)	g.l.
	1101 sh, 1106 vs	R, IR	$\nu$ (C-O), ring, $\nu$ (C-C)	csb
1089 vs		R, IR	$\nu$ (C-O), ring, $\nu$ (C-C)	csb
	1068 vs	IR	$\nu$ (C-O), ring, $\nu$ (C-C)	csb, C3- O3
1047 vs		IR	$\nu$ (C-C), $\nu$ (C-O)	csb, C4- O4
	1026 s	R, IR	$\nu$ (C-C), $\nu$ (C-OH)	csb, C3- O3
1010-1000 m, sh		R	$\nu$ (C-C), $\nu$ (C-OH)	csb, C1-O5, C1-O2
986 m	985 sh	IR	$\nu$ (C-O), $\delta$ (OH), ring	
	977 sh	R	$\nu$ (C-O)	
897 m	904 m	R, IR	$\delta$ (CH), ring	C1-H1
856 w		IR	Furanoid ring	Araf, AX, AGX
811 w		IR	Ring	Araf, AX, AGX
	667-656 m	IR	$\nu$ (CCO), $\delta$ (OH) oop	csb, C3- O3
590 w	604 m	IR	$\nu$ (CCO)	csb, C2- O2
	553 w	R	$\nu$ (CCO)	csb, C2- O2
531 sh		R, IR	$\nu$ (CCO)	
503 m	521 w	R	$\nu$ (CCO)	csb

*g.l.* : glycosidic link ; *csb* : conformationally sensitive band ; *ip* : in plane ; *oop* : out of plane.

**Matériels et réactifs :** Echantillons (poudre) à analyser. Instrument IRTF (Bruker, Vertex 70 FT-IR. Module ATR (Bruker, A225, pointe diamant). Logiciel OPUS (version 7.2).

**Protocole :** Les échantillons de polysaccharides secs sont dispersés sur la pointe en diamant du module ATR. Les spectres IR (50 scans) ont été enregistrés à une température de 14-16°C (référéncé contre l'air, 20 scans) sur la plage 500-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Les spectres ont été analysés avec le logiciel OPUS 7.2.

### 3.5 Caractérisation structurale

#### 3.5.1 Composition en monosaccharides

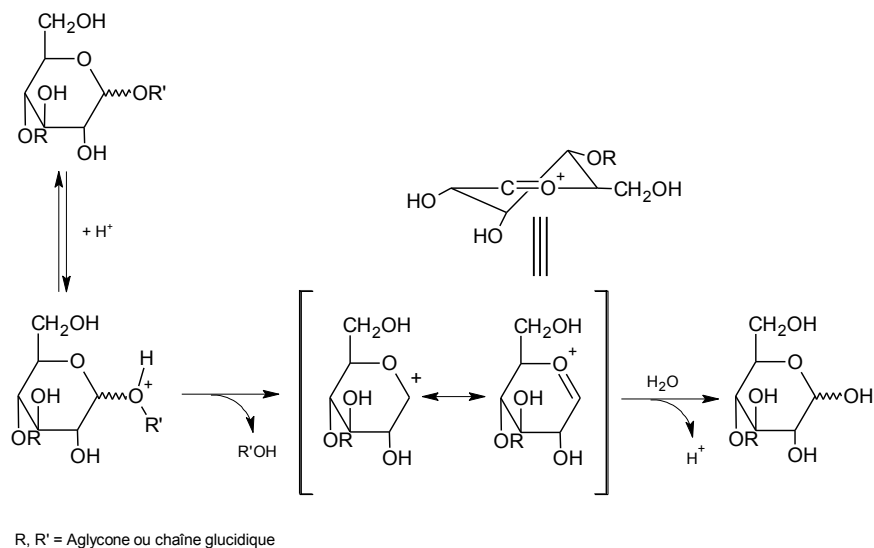
Afin de caractériser la composition en monosaccharides des différents polysaccharides, il est nécessaire de rompre les liaisons glycosidiques afin de permettre la libération partielle ou complète des monomères constitutifs tout en les préservant d'éventuelles dégradations secondaires (Delattre et al., 2016). Les monomères obtenus peuvent ensuite être directement analysés par Chromatographie Echangeuse d'Anions Haute Performance (CEAHP) ou préalablement dérivatisés puis analysés par Chromatographie Phase Gaz couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM).

##### 3.5.1.1 Dépolymérisation chimique des polysaccharides

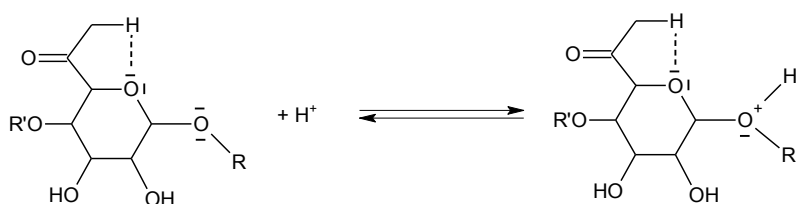
Afin de dépolymériser les polysaccharides purifiés, des hydrolyses acides ménagées ou totales ont été réalisées. L'obtention d'oligosaccharides, sous forme de monomères va permettre l'analyse des sucres par CEAHP ou CPG/SM.

**Principe :** Bemiller (1967) a démontré qu'il existe une stabilité différentielle des liaisons glycosidiques (1, 6'' > 1, 4'' > 1, 3'' > 1, 2'') à l'hydrolyse acide. En fonction des conditions (température, temps de réaction, type, concentration et force de l'acide), il est possible de plus ou moins libérer des fragments saccharidiques de tailles variables. Le mécanisme général de ce type d'hydrolyse acide est décrit en **Figure 38**. On peut également noter que la nature des oses liés présente également des différences de stabilité et ce pour une même liaison glycosidique. Ainsi, une liaison (1,4'') glycosidique entre une unité osidique et une autre unité portant un groupement carboxylique ou amine sera plus difficile à rompre qu'une liaison du même type entre un ose et un autre (sous forme furanose, anhydro- ou désoxy-). Dans ce sens, les travaux de Timell et al. (1965) ont mis en évidence la stabilité de la liaison uronosidyle (**Figure 39**).

Delattre et al. (2016) ont également récemment reportés la stabilité des différents oses aux hydrolyses acides en lien avec leurs possibles quantifications (**Tableau 14**).



**Figure 38.** Mécanisme général de l'hydrolyse acide des glycosides (Bemiller, 1967).



**Figure 39.** Stabilité de la liaison uronosidyle à l'hydrolyse acide (Timel et al., 1963).

**Tableau 14.** Effet des conditions d'hydrolyse sur l'analyse des différents types de monosaccharides (adapté de Delattre et al., 2016).

Conditions d'hydrolyse				Types de monosaccharides <sup>(1)</sup>			
Acide minéral	Concentration (mol/L)	Température (°C)	Temps (min)	Cétooses	Aldoses	Hexosamines	Oses acides
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1	100	120	D	Q	P	Q
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1	100	180	P	Q	P	Q
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5.10 <sup>-3</sup>	100	60	Q	P	N	N
HCl	4	100	240	D	D	Q	D
HCl	2	100	240	D	Q	P	Q
HCl	1	100	120	P (D)	Q	N	P
TFA <sup>(2)</sup>	4	100	480	D	D	D	D
TFA	4	100	240	D	Q	Q	P (Q)
TFA	2	120	90	D	Q	Q	P (Q)

<sup>(1)</sup> Q: Quantitatif; P: Partiel; N: Non quantitatif; D: Destructif (partiel ou total).

<sup>(2)</sup> TFA: Acide Trifluoroacétique.

**Matériels et réactifs :** Acide trifluoroacétique (Sigma-Aldrich, T6508). Solution aqueuse de TFA 2M. Eau ultrapure. Polysaccharide à analyser (poudre). Bain à sec (Stuart Scientific Block Heater, SHT200D).

**Protocole :** 10 mg de polysaccharides ont été dissous dans 1 mL de TFA 2M chauffés à 120 °C pendant 90 min dans un bain à sec. Les échantillons sont agités manuellement au rotor toutes les 30 min. La préparation des échantillons varie ensuite en fonction de la méthode d'analyse, à savoir la CEAHP (partie 3.5.1.2) ou la CPG/SM (partie 3.5.1.3).

### 3.5.1.2 Analyse par chromatographie ionique

La CEAHP couplée à un détecteur ampérométrique pulsé (DAP) a été utilisée pour identifier et quantifier les monosaccharides constitutifs des polysaccharides après hydrolyse acide.

**Principe :** La phase stationnaire est une résine échangeuse d'anions qui va permettre de séparer les molécules anioniques. Cette phase est constituée de billes de polystyrène et de divinylbenzène de 10 µm de diamètre, sur lesquelles sont agglomérées des particules fonctionnalisées par des groupements ammonium quaternaire (NR<sub>4</sub><sup>+</sup>). Ce type de phase stationnaire peut supporter des pressions de 4 000 psi (275 bars) dans une large gamme de pH (de 0 à 14).

Les monosaccharides issus d'hydrolysats de polysaccharides (ou de monosaccharides standards) sont transformés dans la phase mobile en alcoolates à des pH supérieurs au pKa de leurs fonctions hydroxyles (-OH → -O<sup>-</sup>). La phase mobile est constituée d'un gradient d'acétate de sodium et d'hydroxyde de sodium. Lorsque les monomères sont élués de la colonne, ils sont oxydés à la surface d'une électrode en or. L'oxydation génère un courant électrique proportionnel à la concentration en analytes ce qui rend l'analyse quantitative. Le potentiel appliqué à l'électrode, génère des produits d'oxydation qui abîment sa surface. Afin de prévenir la diminution du signal, la surface de l'électrode est nettoyée par l'application d'une série de potentiels pendant des périodes fixées après le potentiel de détection (ampérométrie pulsée). Une gamme d'étalons externes puis l'ajout d'un étalon interne dans l'échantillon à analyser permet d'estimer qualitativement et quantitativement la composition en monosaccharides des hydrolysats de polysaccharides.

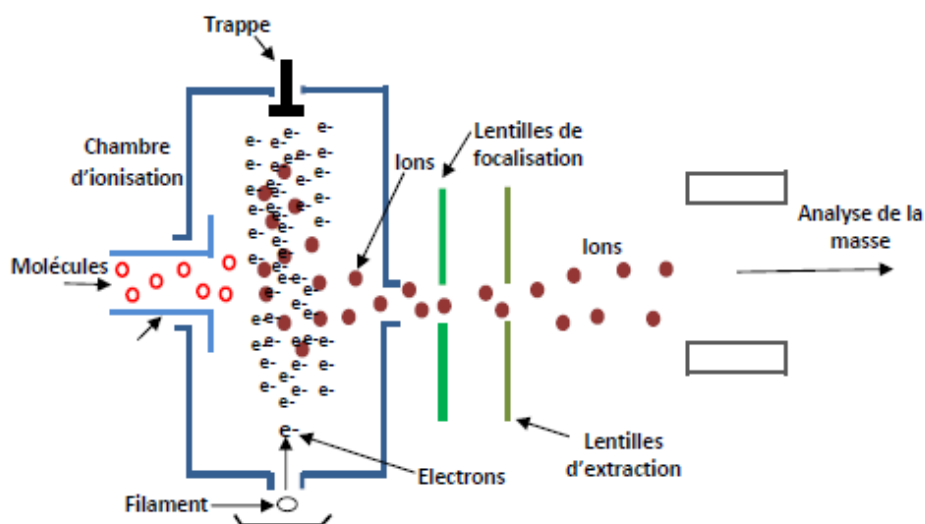
**Matériels et réactifs :** Acétate de sodium (Sigma-Aldrich, 71183). Hydroxyde de sodium 46-51% (Fischer, S/4930/05). Hydroxyde d'ammonium 30-33% (Honeywell Fluka, 05002). Solutions de NaOH 18 mM et 200 mM. Solution d'acétate de sodium 1M. Mélanges de solutions standards (L-Rha (Sigma-Aldrich, W373011), D-Rib (Sigma-Aldrich, R7500), L-Fuc (Sigma-Aldrich, F2252), L-Ara (Sigma-Aldrich, 13256), D-Xyl (Sigma-Aldrich, X1500), D-Man (Sigma-Aldrich, M6020), D-Gal (Sigma-Aldrich, G0750), D-Glc (Sigma-Aldrich, G8270), D-GlcA (Sigma-Aldrich, G5269), D-GalA (Sigma-Aldrich, 48280)) injectées de  $1 \times 10^{-2}$  à  $1 \times 10^{-3}$  g/L. Eau ultrapure. Solution de monosaccharides à analyser (partie 3.5.1.1, 1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Précolonne CarboPac PA1 (Dionex Corporation, 4 x 50 mm). Colonne CarboPac PA1 (Dionex Corporation, 4 x 250 mm). Filtre (Sartorius, Minisart RC 4, 0,22µm). Centrifugeuse (Beckman Coulter, Aventi<sup>®</sup>J-E). Chromatographie ionique (Dionex Corporation, ICS 3000). Logiciel d'acquisition et de traitement Chroméleon (version 6.8).

**Protocoles :** Les échantillons hydrolysés sont neutralisés par une solution de NH<sub>3</sub> 33% puis centrifugés à 13000 g pendant 15 min à 4°C. Des dilutions (1 mL) à 1/10, 1/100 et 1/1000 de la concentration mère (10 g/L) sont préparées et filtrées sur 0,22 µm. Les échantillons peuvent être analysés directement par CEHP ou congelés à 20°C. 25 µL sont injectés sur les colonnes thermostatées à 25°C avec un débit d'éluant de 1 mL/min.

Avant injection, les colonnes sont équilibrées pendant 15 min avec du NaOH 18 mM puis les échantillons sont élués isocratiquement pendant 30 min avec du NaOH 18 mM, suivi par un gradient linéaire variant 0 à 1 M d'acétate de sodium dans du NaOH 200 mM pendant 20 min (élution des acides uroniques), pour finir par 100% d'acétate de sodium 1M dans du NaOH 200mM pendant 20 min. Le système est ensuite rincé 15 min par du NaOH 200 mM.

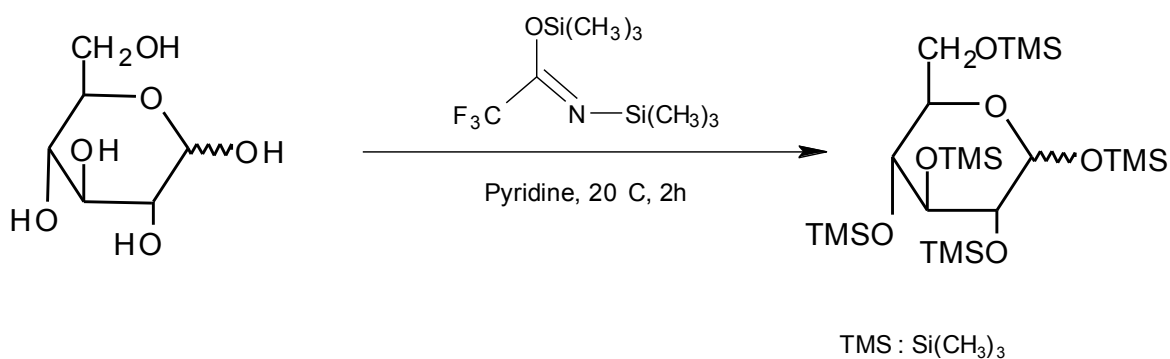
### *3.5.1.3 Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse*

**Principe :** l'analyse par CPG/SM-IE d'un hydrolysate acide de polysaccharides permet de déterminer sa composition en monosaccharides, mais requiert une dérivation des résidus formés. En effet, la CG/SM-IE ne permet pas d'analyser directement les oses en raison de leur faible volatilité. 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. 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 volatil, mais améliorent aussi l'ionisation du sucre par impact électronique (IE). L'ionisation par IE consiste en un impact d'électrons sur les molécules en sortie de chromatographie (**Figure 40**). Les hétéroatomes constituant les molécules sont le plus souvent atteints par ces électrons et forment des radicaux vrais et/ou des cations-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 fragmentation très spécifique. On peut aussi noter que les spectres de masses en IE 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.



**Figure 40.** Schéma d'une source à ionisation par impact électronique (Peters, 2016).

La silylation est l'un des méthodes les plus répandues pour dériver des monosaccharides avant analyse en CPG/SM (Kamerling et Gerwig, 2007 ; Delattre et al., 2016). Elle permet la substitution d'atomes d'hydrogène actif dans des groupes fonctionnels tels que -OH, -COOH, -NH, -NH<sub>2</sub> et -SH avec des groupements triméthylsilyle, réduisant ainsi la polarité (amélioration de la forme du pic) et augmentant la volatilité par l'élimination des liaisons hydrogènes (Kataoka, 2005 ; Sajdak et al., 2017). Le BSTFA (Bis (triméthylsilyle) trifluoroacétamide) et le TMCS (triméthylchlorosilane) sont les réactifs les plus utilisés pour la triméthylsilylation de nombreuses fonctions (alcools, alcaloïdes, amines, acides carboxyliques, phénols, etc). L'agent de silylation (BSTFA) agit comme donneur triméthylsilylique alors que le TMCS joue le rôle de catalyseur et augmente la réactivité du BSTFA, améliorant ainsi l'efficacité de la dérivation (Kuroda, 2000 ; Shareef et al., 2004). La **Figure 41** présente la réaction de triméthylsilylation sur un monosaccharide.



**Figure 41.** Mécanisme de triméthylsilylation des *O*-glycosides (adapté de Kamerling et al., 1975).

**Matériels et réactifs :** Méthanol (Sigma-Aldrich, 323415). BSTFA : TMCS 99 : 1 (Sigma-Aldrich, 33149). Pyridine (Sigma-Aldrich, 270407). Dichlorométhane (Sigma-Aldrich, 270997). Solutions standards ((L-Rha (Sigma-Aldrich, W373011), D-Rib (Sigma-Aldrich, R7500), L-Fuc (Sigma-Aldrich, F2252), L-Ara (Sigma-Aldrich, 13256), D-Xyl (Sigma-Aldrich, X1500), D-Man (Sigma-Aldrich, M6020), D-Gal (Sigma-Aldrich, G0750), D-Glc (Sigma-Aldrich, G8270), D-GlcA (Sigma-Aldrich, G5269), D-GalA (Sigma-Aldrich, 48280), D-GlcN (Sigma-Aldrich, 129407) D-GalN (Sigma-Aldrich, G0500)) injectées de 0,1 à 10 mg/mL. Solution de monosaccharides à analyser ([partie 3.5.1.1](#), 1 à 10 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). CPG/SM-EI (Agilent, GC 6890 couplée à un détecteur sélectif de masse Agilent 5973). Colonne GC (Macherey-Nagel, OPTIMA-1MS, 30 m, 0,32 mm, 0,25 μm). Evaporateur sous jet d'azote (Stuart, Block Heater SBH 200D/3 et Concentrator SBH CONC/1).

**Protocole :** les échantillons hydrolysés sont évaporés sous jet d'azote afin d'éliminer les traces d'acides en excès (à sec). Ajouter 1 mL de méthanol, vortexer puis évaporer sous jet d'azote. Répéter cette étape 2 fois pour éliminer les traces résiduelles d'acides. La dérivation est réalisée via l'utilisation de BSTFA : TMCS (99 : 1) et adaptée des protocoles de Pierre et al. (2012, 2014). Pour 2 mg de monosaccharides, ajouter 200 μL de pyridine et 200 μL de BSTFA : TMCS (99 : 1). Mélanger puis placer à température pendant 2 h sous agitation (450 rpm). Evaporer à sec sous jet d'azote puis reprendre les résidus triméthylsilyl-*O*-glycosides avec du dichlorométhane (10, 4, 2, 1 et 0,1 mg/mL).

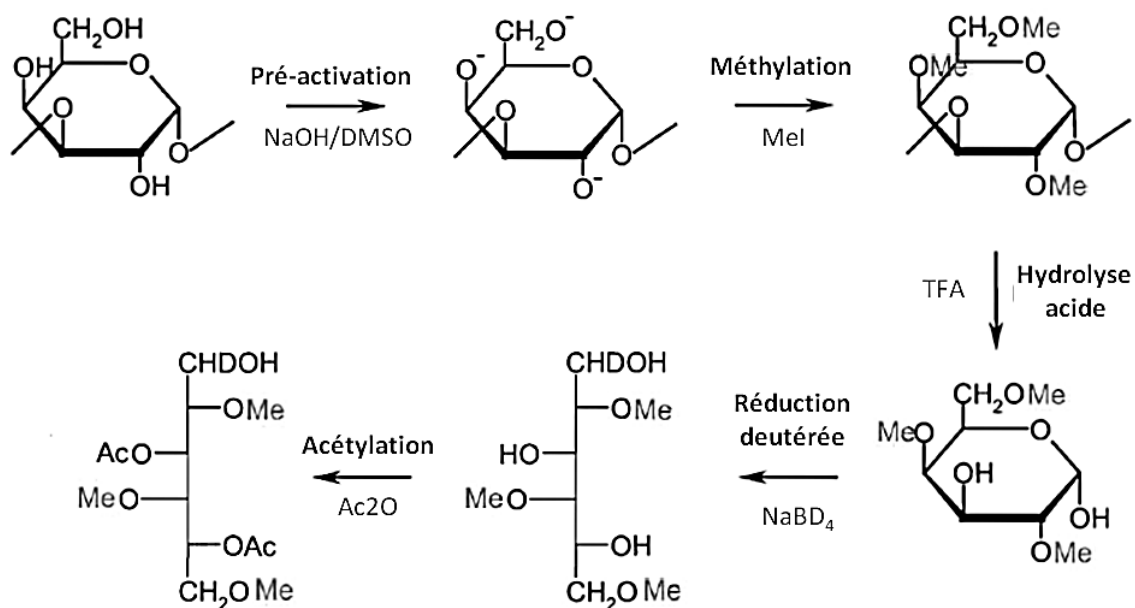


Préparer les standards ((L-Rha (Sigma-Aldrich, W373011), D-Rib (Sigma-Aldrich, R7500), L-Fuc (Sigma-Aldrich, F2252), L-Ara (Sigma-Aldrich, 13256), D-Xyl (Sigma-Aldrich, X1500), D-Man (Sigma-Aldrich, M6020), D-Gal (Sigma-Aldrich, G0750), D-Glc (Sigma-Aldrich, G8270), D-GlcA (Sigma-Aldrich, G5269), D-GalA (Sigma-Aldrich, 48280), D-GlcN (Sigma-Aldrich, 129407) D-GalN (Sigma-Aldrich, G0500)) dans les mêmes conditions, à quatre concentrations différentes (10, 4, 2, 1 et 0,1 mg/mL). Les analyses ont été effectuées par CPG/SM-IE et les échantillons sont injectés sur une colonne OPTIMA-1MS avec un débit d'hélium de 2,3 mL/min. La pression d'hélium est fixée à 8,8 psi et le split ratio à 50 : 1. Fixer la température initiale du four à 100°C, pendant 3 min. Programmer une montée en température de 8°C/min jusqu'à 200°C et maintenir la température 1 min. Terminer par une montée en température de 5°C/min jusqu'à 215°C (runtime de 19 min 50). 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.

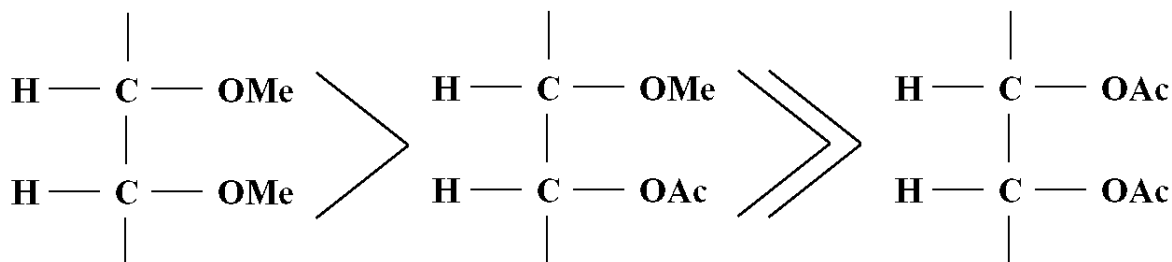
### 3.5.2 Analyse des liaisons glycosidiques par CPG/SM

**Principe :** 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 des polysaccharides de cette étude (PSPN, **Tableau 11**) est déterminée par analyse CPG/SM-IE des monosaccharides après transformation en acétates d'alditols partiellement méthylés (AAPM). La méthode la plus connue passe par la méthylation des groupements hydroxyles libres du polysaccharide (souvent privilégiée par rapport aux méthodes impliquant l'utilisation du BuLi dans du DMSO) 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 borodéutériure de sodium pour marquer le groupement engagé dans le pont osidique) puis acétylés au niveau des groupements hydroxyle libres (**Figure 42**). Les molécules générées portent le nom d'acétates d'alditols partiellement *O*-méthylés et permettent d'accéder, après fragmentation par impact électronique (**Figure 43**), 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 ou acétates, peuvent gêner l'analyse des liaisons glycosidiques.

Il est donc nécessaire de comparer les spectres CPG/SM-IE de polysaccharides natifs et désulfatés perméthylés (Garon-Lardière, 2004).



**Figure 42.** Méthode de préparation des acétates d'alditols partiellement méthylés (adapté de Garon-Lardière, 2004).



**Figure 43.** Ordre de clivage préférentiel des acétates d'alditols partiellement méthylés lors de l'analyse par CPG/SM-IE (Garon-Lardière, 2004).

### 3.5.2.1 Préparation du réactif NaOH/DMSO

**Matériels et réactifs :** Diméthylsulfoxyde anhydre (Sigma-Aldrich, 270997). Hydroxyde de sodium (Sigma-Aldrich, 30620). Polysaccharide à analyser (poudre). Centrifugeuse (Thermo Scientific, Heraeus Fresco 17).

**Protocole :** 100  $\mu\text{L}$  d'une solution de NaOH à 50 % (m/v) sont ajoutés à 200  $\mu\text{L}$  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 de deux à cinq fois, jusqu'à l'obtention d'un culot de NaOH opalescent (laiteux). Pour terminer, resuspendre le culot dans 200 à 300  $\mu\text{L}$  de DMSO anhydre et utiliser directement le réactif pour l'étape de méthylation.

### *3.5.2.2 Méthylation du polysaccharide*

**Matériels et réactifs :** Chloroforme (Sigma-Aldrich, 32211). Diméthylsulfoxyde anhydre (Sigma-Aldrich, 270997). Iodométhane (Sigma-Aldrich, 67690). Méthanol (Sigma-Aldrich, 323415). Hydroxyde de sodium (Sigma-Aldrich, 30620). Réactif NaOH/DMSO ([partie 3.5.2.1](#)). Eau ultrapure. Evaporateur sous jet d'azote (Stuart, Block Heater SBH 200D/3 et Concentrator SBH CONC/1). Centrifugeuse (Thermo Scientific, Heraeus Biofuge Primo R).

**Protocole :** 100 à 200  $\mu\text{g}$  de polysaccharides sont ajoutés à 200 à 500  $\mu\text{L}$  de DMSO anhydre dans un tube hermétique. Agiter doucement (400 rpm), à 60°C si nécessaire pour améliorer la solubilité du polysaccharide. 200  $\mu\text{L}$  du réactif solide NaOH/DMSO sont ajoutés à l'échantillon ainsi que 10  $\mu\text{L}$  d'eau ultra pure, qui permettent de limiter les dégradations oxydatives (Ciucanu et Costello, 2003). Le mélange est ensuite conservé, après agitation, pendant 15 min à température ambiante. 300  $\mu\text{L}$  d'iodométhane sont ensuite ajoutés et l'échantillon est conservé pendant 15 min à température ambiante puis refroidit dans la glace. Ajouter ensuite 1 mL d'eau ultrapure et vortexer. L'excès d'iodométhane est éliminé sous un jet d'azote puis 1 mL de chloroforme est ajouté. Vortexer puis centrifuger pendant 5 min à 3000 g et transférer la phase inférieure organique dans un nouveau tube. La phase organique est ensuite lavée trois fois avec de l'eau ultrapure puis le chloroforme est évaporé sous jet d'azote. Les résidus méthylés sont finalement repris dans un volume variable de méthanol.

### *3.5.2.3 Formation des acétates d'alditols partiellement méthylés*

**Matériels et réactifs :** Acide trifluoroacétique (Sigma-Aldrich, T6508). Borodéutériide de sodium (Sigma-Aldrich, 205591). Hydroxyde d'ammonium 30-33% (Honeywell Fluka, 05002). 1-méthylimidazole (Sigma-Aldrich, 336092).

Dichlorométhane (Sigma-Aldrich, 270997). Acide acétique glacial (Sigma-Aldrich, 33209). Anhydride acétique (Riedel-de Haën, 33214). Diméthylsulfoxyde anhydre (Sigma-Aldrich, 270997). Solution aqueuse de TFA 2M. Solution aqueuse de NH<sub>4</sub>OH 1M. Standards (L-Rha, D-Rib, L-Fuc, L-Ara, D-Xyl, D-Man, D-Gal, D-Glc, D-GlcA, D-GalA, D-GlcN, D-GalN, tous obtenus chez Sigma-Aldrich). Échantillons méthylés (partie 3.5.2.2). Eau ultrapure. Évaporateur sous jet d'azote (Stuart, Block Heater SBH 200D/3 et Concentrator SBH CONC/1). Bain à sec (Stuart Scientific Block Heater, SHT200D). CPG/SM-EI (Agilent, GC 6890 couplée à un détecteur sélectif de masse Agilent 5973). Colonne GC (Macherey-Nagel, OPTIMA-1MS, 30 m, 0,32 mm, 0,25 µm). Centrifugeuse (Thermo Scientific, Heraeus Biofuge Primo R).

**Protocole :** A partir des échantillons méthylés, évaporer totalement le méthanol. 1 mL d'acide trifluoroacétique 2 M est ajouté à 200-500 µg de matériel méthylé. Le matériel méthylé peut être remplacé à cette étape par les monosaccharides standards (L-Rha, L-Fuc, L-Ara, D-Xyl, D-Man, D-Gal, D-Glc, D-GalA, D-GlcA, D-GlcN, D-GalN) : préparer une solution à 20 mM de chaque monosaccharide dans de l'eau ultra pure, puis lyophiliser des masses croissantes (10 à 100 µL d'aliquot de départ) de la solution. L'échantillon est ensuite chauffé pendant 90 min à 120°C, puis refroidir le tube jusqu'à atteindre la température ambiante. Évaporer le TFA sous jet d'azote puis éliminer les traces résiduelles par addition de 1 mL de méthanol à évaporer (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 les ponts oxydiques) à 100 mg/mL dans une solution d'hydroxyde d'ammonium à 1 M. Cette solution est ensuite diluée avec 5 volumes de DMSO. 600 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. Ajouter ensuite 100 µL d'acide acétique glacial pour éliminer le NaBH<sub>4</sub> (ou NaBD<sub>4</sub>) en excès et agiter vigoureusement. 100 µL de 1-méthylimidazole et 75 µL d'anhydride acétique sont ajoutés. Bien mélanger et conserver 30 min à 40-45°C. Pour terminer la réaction, ajouter 2 mL d'eau ultrapure et mélanger fortement. Refroidir le mélange à température ambiante puis ajouter 1 mL de dichlorométhane et agiter pendant 1 min. La solution est ensuite centrifugée pendant 5 min à 3000 g et la phase supérieure est jetée. Répéter l'étape de lavage à l'eau 5 fois supplémentaires afin d'éliminer les traces résiduelles de sels et de DMSO.

Pour finir, évaporer la phase organique (inférieure) sous jet d'azote et reprendre les AAPM dans 100 à 200 $\mu$ L de dichlorométhane. Injecter les échantillons et analyser les AAPM sur OPTIMA-1MS avec un débit d'hélium de 2,3 mL/min. La pression d'hélium est fixée à 8,8 psi et le split ratio est nul (splitless). 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.

### 3.5.3 Analyse structurale par résonance magnétique nucléaire (RMN)

**Principe :** la spectroscopie RMN est fondée sur la mesure de l'absorption de la radiation de radiofréquence (RF) par un noyau atomique dans un champ magnétique fort. L'absorption de la radiation pousse le spin nucléaire à se réaligner ou à retourner dans la direction de la plus haute énergie. Après avoir absorbé l'énergie, les noyaux atomiques réémettront une radiation RF et retourneront à leur état initial de moindre niveau d'énergie. L'analyse structurale de polysaccharides peut être réalisée par RMN. Les spectroscopies  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  sont d'ailleurs couramment utilisées pour la détermination des structures primaires et des conformations de glycanes, tel que la composition en monosaccharides, les configurations anomériques, les substituents aglycones, les types de liaisons glycosidiques et les branchements associés (Kamerling et Gerwig, 2007). Le carbone et l'hydrogène donnent des signaux spécifiques à des fréquences de résonances très caractéristiques et la forme de chaque signal est spécifique d'un environnement chimique particulier (Casu, 1982). Duus et al. (2000) ont publié une excellente revue donnant une large vision de l'analyse structurale des polysaccharides par RMN. De manière générale, de nombreux spectres  $^1\text{H}$  (empreintes) en  $^{13}\text{C}$  sont décrits dans la littérature et peuvent servir de comparaison pour l'évaluation des déplacements chimiques. De plus, les techniques 2D homo- et hétéronucléaires sont très souvent utiles pour clarifier des assignements de pics (sur des spectres 1D) hasardeux mais aussi affiner la description des liaisons glycosidiques et des motifs de répétition (Størseth et al., 2008). On peut aussi noter que des méthodes telles que l'ozonolyse, l'hydrogénéolyse, les hydrolyses, les dégradations chimiques et d'autres méthodologies de clivage permettent de faciliter significativement l'élucidation structurale de polysaccharides (Delattre et al., 2016).

**Matériels et réactifs** : Acide sulfurique 95-97% (Honeywell, 30743). Hydroxyde de sodium (Sigma-Aldrich, 30620). Oxyde de deutérium (Sigma-Aldrich, 151882). Solution de NaOH 10M. Solution H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% (v/v). Eau ultrapure. Polysaccharide partiellement hydrolysé à tester. Boudin dialyse cellulose régénérée (ThermoFischer Scientific, 68035, 3.5kDa) Spectromètre RMN de 300 MHz équipé d'une double sonde <sup>13</sup>C/<sup>1</sup>H (Brücker, Brücker Advance 600). Lyophilisateur (Thermo Electron Corporation, Heto PowerDry OL 6000).

**Protocole** : 1 g de la fraction PSPN a été hydrolysé pendant 30 min à 50 °C sous agitation dans 100 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20 %. L'hydrolysate a ensuite été neutralisé en utilisant du NaOH 10M. Pour éliminer les sels de sulfate de sodium, la solution a été dialysée (coupure 3,5 kDa) pendant 72 h contre de l'eau ultrapure, puis lyophilisée. L'hydrolysate de PSPN a ensuite été dissous à 100 g/L dans du D<sub>2</sub>O (99,9 % D) puis lyophilisé. Cette opération a été répétée trois fois pour substituer les protons échangeables par du deutérium. Avant analyse, l'échantillon a été dissous dans du D<sub>2</sub>O à 100 g/L. Les spectres RMN des solutions de PSPN ont été enregistrés à 60 °C en utilisant un spectromètre de 300 MHz. Les expériences ont été enregistrées avec une largeur spectrale de 3000 Hz, un temps d'acquisition de 1,36 s, une largeur d'impulsion de 7 µs, un temps de relaxation de 1 s et 256 balayages. Un spectre RMN 2D a été appliqué en utilisant une spectroscopie corrélée à double quantum filtré (DQF COZY) et une cohérence hétéro-nucléaire quantique-unique (HSQC).

### 3.6 Caractérisation physico-chimique des polysaccharides

#### 3.6.1 Détermination des grandeurs macromoléculaires par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de lumière (SEC/MALLS)

**Principe** : la chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de lumière (SEC/MALLS) consiste à séparer les macromolécules par exclusion stérique et à déterminer leurs masses moléculaires 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 molaire 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 4* (Zimm, 1948).

**Équation 4.** 
$$\frac{KC}{\Delta R_0} = \frac{1}{\overline{MW}} + \frac{16\pi^2 n_0^2}{3\lambda_0^2} \times \frac{R_0^2}{3\overline{MW}} \times \sin^2 \frac{\theta}{2} + 2A_2C + 3A_3C^2 + \dots$$

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

Avec  $\Delta R_0$  : 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 ;  $\lambda_0$  : longueur d'onde du faisceau incident (nm) ;  $N_a$  : nombre d'Avogadro ;  $dn/dc$  : incrément d'indice de réfraction ;  $\theta$  : angle d'observation par rapport à la lumière incidente et  $A_2$  : second coefficient du viriel.

**Matériels et réactifs :** nitrate de sodium (Sigma-Aldrich, 229938). Nitrate de lithium (Sigma-Aldrich, 62574). Solution de  $\text{NaNO}_3$  0,1M. Solution de  $\text{LiNO}_3$  0,1M. Filtres (Millipore, 0,1 et 0,45  $\mu\text{m}$ ). Chromatographie d'exclusion stérique (HPSEC) couplée à un détecteur de lumière multi-angles (MALLS), un réfractomètre différentiel équipée d'une cellule K5 (50  $\mu\text{L}$ ) et trois détecteurs : un laser He-Ne ( $\lambda=690$  nm) (Wyatt Technology Corp., Heleos II), un indice de réfraction différentiel (DRI) (Shimadzu, RID10A) et un viscosimètre (Wyatt Technology Corp., Viscostar II). Précolonne (Shodex, OHPAK SB-G). Colonnes (Shodex, SB806 et 804HQ). Logiciel d'acquisition Astra (version 6.1).

**Protocole :** l'échantillon a été solubilisé à 0,2 g/L dans du  $\text{LiNO}_3$  0,1 M pendant 24 h sous agitation (750 rpm) et injecté à 0,2 g/L dans une boucle pleine de 100  $\mu\text{L}$ . Les masses moléculaires moyennes et les distributions de poids moléculaire de PSPN ont été déterminées en injectant l'échantillon sur des colonnes en série éluées avec du  $\text{LiNO}_3$  0,1 M à 0,7 mL/min. Le solvant a été filtré par une unité de filtration de 0,1  $\mu\text{m}$  (Millipore), dégazé et filtré dans une colonne amont de 0,45  $\mu\text{m}$ . Les données collectées ont été analysées avec un  $dn/dc$  de 0,15 mL/g. 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 trois angles différents. Il est possible d'atteindre les masses molaires moyennes en nombre et en poids ainsi que l'indice de polydispersité de l'échantillon en intégrant la totalité du signal obtenu.

### 3.6.2 Etude des propriétés rhéologiques

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 (Pa ou N.m<sup>-2</sup>), grandeur définie en tout point du matériau. Elle est représentée au niveau de l'**Équation 5**.

**Équation 5.** 
$$\tau = \frac{F}{S} = \eta \frac{dv}{dz} = \eta \dot{\gamma}$$

*Avec  $\dot{\gamma}$  : taux de cisaillement « shear rate » (s<sup>-1</sup>) ;  $\eta$  : 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 (m<sup>2</sup>) ;  $dv$  : différence de vitesse entre les deux couches (m.s<sup>-1</sup>) ;  $dz$  : 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 6**.

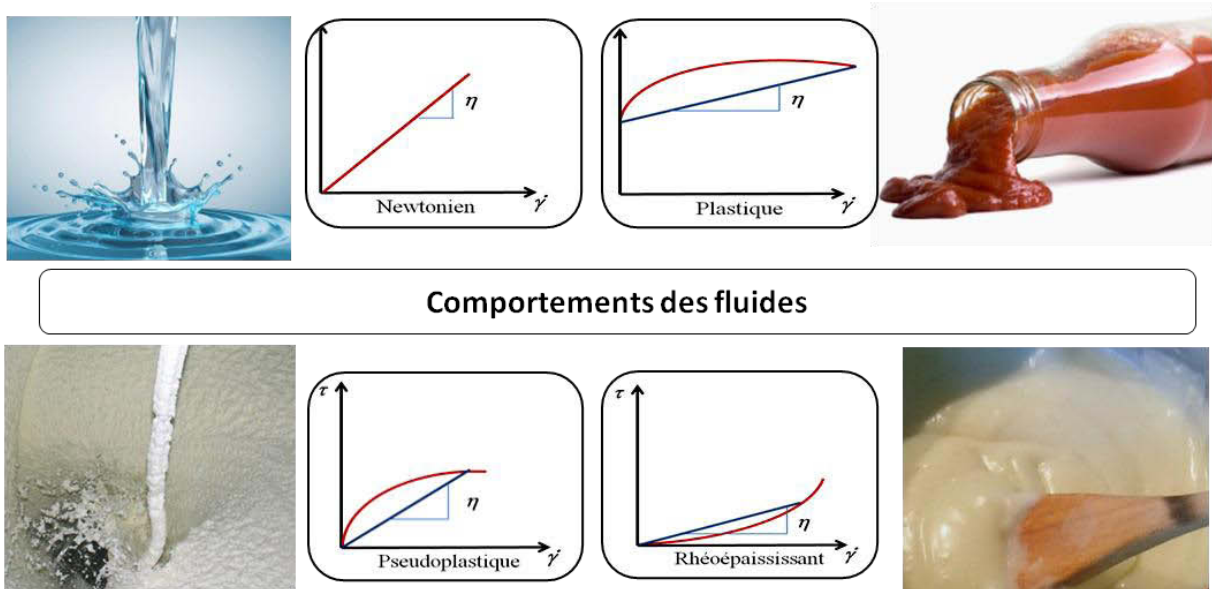
**Équation 6.** 
$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

*Avec  $\eta$  : viscosité dynamique (Pa.s) ;  $\tau$  : contrainte de cisaillement (Pa) et  $\dot{\gamma}$  : taux de cisaillement "shear rate" (s<sup>-1</sup>).*

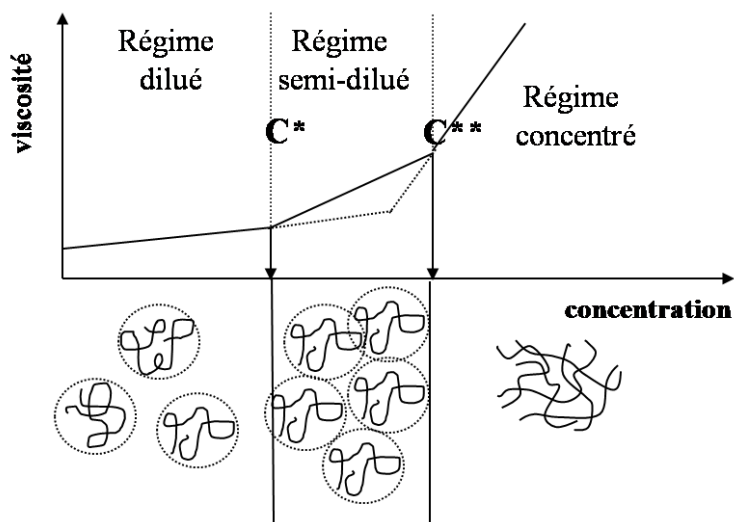
Alors que la viscosité dynamique d'un fluide ne dépend que de  $\tau$  et  $\dot{\gamma}$ , on parle de viscosité apparente d'un liquide lorsque  $\eta$  varie avec le taux de cisaillement auquel il est soumis. La manière dont la viscosité apparente change va permettre de définir le comportement rhéologique du liquide (**Figure 44**). En effet, l'évolution de la viscosité apparente avec le taux de cisaillement peut être représentée par des comportements types qui permettent de distinguer quatre catégories de fluide, à savoir (i) les fluides newtoniens dont la viscosité est indépendante du taux de cisaillement ; (ii) les fluides plastiques ou fluides à seuil où le seuil représente la limite d'énergie qu'il faut franchir afin que l'écoulement ait lieu ;



(iii) les fluides pseudoplastiques ou rhéofluidifiants qui présentent une diminution de la viscosité avec l'augmentation du taux de cisaillement et (iv) les fluides rhéoépaississants dont la viscosité augmente avec l'augmentation de taux de cisaillement. 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 45**). 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  $\log \eta_{sp} = f(\log C)$ ,  $\eta_{sp}$  étant la viscosité spécifique mesurée à cisaillement nul et  $C$  étant la concentration du polymère.



**Figure 44.** Comportements rhéologiques de liquides aux propriétés physiques différentes (source personnelle).



**Figure 45.** Etats d'enchaînement des polymères en fonction de la concentration (source personnelle).

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  $[\eta]$  selon la série d'équations suivantes (**Équations 7**).

**Équations 7.**

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

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

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

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

Avec  $\eta_0$ : viscosité absolue du solvant pur (Pa.s), dans notre cas la viscosité de l'eau ( $10^{-3}$  Pa.s) ;  $\eta_r$  : viscosité relative (Pa.s) ;  $\eta_{sp}$  : viscosité spécifique (Pa.s) ;  $\eta_{red}$  : 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 (**Équation 8**).

**Équation 8.**

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

$k''$  = 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 de 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.

### 3.6.2.1 Mesure de la viscosité

**Principe :** la résistance du produit s'observe au niveau de l'entrefer (distance entre les deux plans). 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  $v$  ( $s^{-1}$ ). 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 notamment le modèle de Williamson (1929) (**Équations 9**).  $C^*$  (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  $C^*$ .

**Équations 9.**

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

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

Avec  $\dot{\gamma}$ : taux de cisaillement " shear rate " ( $s^{-1}$ ) ;  $\eta$ : viscosité apparente (Pa.s) ;  $\eta_0$ : viscosité à cisaillement nul (Pa.s) ;  $k$ : constante de temps (s),  $n$ : indice de fluidité et  $\tau$ : contrainte de cisaillement.

**Matériels et réactifs :** NaCl (Sigma-Aldrich, S7653). Hexadécane (Sigma-Aldrich, H603). Solutions de polysaccharides (PSPN) comprises entre 0,5 et 2% (m/v) dans de l'eau ou des solutions de NaCl à 0,1, 0,2 ou 0,5M. Eau ultrapure. Rhéomètre avec un module de géométrie plan-plan de diamètre 40 mm et équipé d'un système de contrôle de température à effet Peltier (TA-Instrument, AR-2000). Logiciel d'acquisition et de traitement TA Instrument Rheology Advantage.

**Protocole :** le polysaccharide à étudier (PSPN) est mis en solution (0,5-2% m/v) dans de l'eau ultrapure ou des solutions de NaCl (0,1-0,5M) pendant 72h à 4°C sous légère agitation (400 rpm). L'étude est menée sur un rhéomètre avec un module de géométrie plan-plan. L'entrefer du système (ou gap) est de 5 mm. Pour prévenir de l'évaporation durant les mesures, les échantillons (1 mL) sont recouverts d'une fine couche d'hexadécane (Guo et al., 2009). Les mesures de viscosité apparente sont réalisées à 25°C sur une gamme de cisaillement comprise entre 1 et 10<sup>3</sup> s<sup>-1</sup> mais aussi à différentes températures (20, 40 et 60 °C) toujours sur la même gamme de cisaillement.

### 3.6.2.2 *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 ( $\gamma$ ) au cours du temps. La contrainte résultante ( $\sigma$ ) est également sinusoïdale et de même fréquence ( $\omega$ ) mais présentant un déphasage ou angle de perte ( $\delta$ ) (*Équations 10*).

**Équations 10.**

$$\gamma^* = \gamma_0 e^{(i\bar{\omega})}$$

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

On peut alors définir le module complexe de cisaillement selon les *Équations 11*.

**Équations 11.**  $G^* = \frac{\gamma^*}{\sigma^*} = G' + iG'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} (\cos \delta + i \sin \delta)$

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

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

Avec  $\gamma$ : déformation ( $s^{-1}$ );  $\gamma_0$ : amplitude de la déformation ( $s^{-1}$ );  $\omega$ : fréquence ( $rad.s^{-1}$ );  $\sigma$ : contrainte (Pa);  $\sigma_0$ : amplitude de la contrainte (Pa) et  $\delta$ : déphasage ou angle de perte (rad).

Trois cas sont alors possibles : (i)  $\delta = 0$ , 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). (ii)  $\delta = \pi/2$ , le matériau est un fluide visqueux. En réponse à une sollicitation, il s'écoule irréversiblement. (iii)  $0 < \delta < \pi/2$ , 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  $\gamma$  et  $\sigma$  pour des modules complexes (\*). On peut alors définir le module complexe de cisaillement.  $G'$  (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.

**Matériels et réactifs** : NaCl (Sigma-Aldrich, S7653). Hexadécane (Sigma-Aldrich, H603). Solutions de polysaccharides (PSPN) comprises entre 0,5 et 2% (m/v) dans de l'eau ou des solutions de NaCl à 0,1, 0,2 ou 0,5M. Eau ultrapure. Rhéomètre avec un module de géométrie plan-plan de diamètre 40 mm et équipé d'un système de contrôle de température à effet Peltier (TA-Instrument, AR-2000). Logiciel d'acquisition et de traitement TA Instrument Rheology Advantage.

**Protocole** : le polysaccharide à étudier (PSPN) est mis en solution (0,5-2% m/v) dans de l'eau ultrapure ou des solutions de NaCl (0,1-0,5M) pendant 72h à 4°C sous légère agitation (400 rpm). L'étude est menée sur un rhéomètre avec un module de géométrie plan-plan. L'entrefer du système (ou gap) est de 5 mm. Pour prévenir de l'évaporation durant les mesures, les échantillons (1 mL) sont recouverts d'une fine couche d'hexadécane (Guo et al., 2009).

Les mesures de déformation oscillatoire nécessaires à la détermination des modules de conservation (ou module élastique)  $G'$  (Pa) et de perte (ou module visqueux)  $G''$  (Pa) ont été réalisées à des fréquences angulaires entre 0,01 et 100  $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$  à 25°C avec une contrainte constante de 20%. Il est ainsi possible de caractériser le comportement viscoélastique en mesurant

### 3.7 Caractérisation des propriétés biologiques des polysaccharides

#### 3.7.1 Activité antioxydante

**Principe :** les activités anti oxydantes des extraits et de l'acide ascorbique ont été évalués en utilisant le 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon le protocole adapté de Yamaguchi et al. (1998). Le pourcentage d'inhibition de DPPH est calculé selon l'**Équation 12**.

**Équation 12.** 
$$\text{Inhibition de DPPH}(\%) = \left(1 - \left(\frac{A_{\text{échantillon}} - A_0}{A_{\text{témoin}}}\right)\right) \times 100$$

*Avec  $A_{\text{échantillon}}$  est l'absorbance à 517 nm de 1mL d'échantillon (0-5 g/L) avec 1 mL de d'éthanol ;  $A_{\text{témoin}}$  est l'absorbance à 517 nm de 1 mL de l'eau distillée avec 1mL de DPPH 0.1 mM dans l'éthanol et  $A_0$  est l'absorbance à 517 nm de 1 mL de l'échantillon (0-5 g/L) avec 1 mL de l'éthanol.*

**Matériels et réactifs :** Ethanol (Sigma-Aldrich, 32221). DPPH (Sigma-Aldrich, D132). Solution de DPPH 0,1M dans l'éthanol. Echantillons à analyser (1 à 5 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Eau ultrapure. Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-Visible-1700-Pharma Spec).

**Protocole :** les échantillons sont solubilisés à des concentrations comprises entre (0 à 5 g/L) dans l'eau ultrapure. 1 mL de la solution (ou échantillon témoin) est mélangé à 1mL d'une solution de DPPH (0,1 mM dans l'éthanol). Après homogénéisation, le mélange est incubé 30 min à température ambiante (25 °C) à l'obscurité. L'absorbance est lue à  $\lambda=517$  nm.

#### 3.7.2 Activité antidiabétique

**Principe :** l'étude de l'activité anti-diabétique des polysaccharides porte sur la détermination de leur pouvoir inhibiteur de l'enzyme  $\alpha$ -D-glucosidase. Le test de détermination de la pouvoir inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -D-glucosidase est basé sur la mesure de la libération de *p*-nitrophénol (*p*-NP) dont l'enzyme catalyse la dégradation du *p*-nitrophényl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (*p*-NPG) en  $\alpha$ -D-glucopyranoside et *p*-Nitrophénol.

Ce dernier absorbe à 405 nm, qui permet d'évaluer l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -D-glucosidase (Ha et al., 2012). En présence d'inhibiteur, l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -D-glucosidase diminue ou inhibé. Cela est exprimé par diminution de la dégradation du substrat *p*-NPG (Mosihuzzman et al., 2013). L'activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase a été déterminée selon une méthode adaptée de Bisht et al. (2013) et de Qian et al. (2015). L'acarbose est utilisé comme control positif. Le contrôle négatif représente le milieu réactionnel de l'enzyme  $\alpha$ -D-glucosidase sans aucun aditif.

**Matériels et réactifs :** Acarbose (Sigma-Aldrich, A8980). *p*-NPG (Sigma-Aldrich, N1377).  $\alpha$ -glucosidase (Sigma-Aldrich, G5003). Tampon phosphate pH 7,1 (Sigma-Aldrich, 17202). Solution de tampon phosphate 0,1 M. Solution d'acarbose 0,1 M. Solution d' $\alpha$ -glucosidase (2 U/mL). Solution *p*-NPG 8 mM dans du tampon phosphate 0,1 M (pH 7,1). Echantillons à analyser (1 à 5 g/L selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). Eau ultrapure. Spectrophotomètre (Biochrom Asys, UVM 340).

**Protocole :** Un mélange de 10  $\mu$ L de l'échantillon ou de l'acarbose 0,1 M et de 500  $\mu$ L du tampon phosphate 0,1 M (pH 7,1) contenant de l' $\alpha$ -glucosidase (2 U/mL) est incubé à 37 °C pendant 15 min. Après incubation, 125  $\mu$ L d'une solution *p*-NPG 8 mM dans du tampon phosphate 0,1 M (pH 7,1) sont ajoutés au mélange.

Après incubation à 37 °C pendant 2 min, l'absorbance est enregistrée à 405 nm avec suivi de la cinétique enzymatique de l' $\alpha$ -D-glucosidase en mesurant l'absorbance chaque 12 sec et ce pendant 3 min de réaction.

### 3.7.3 Activité phagocytaire

**Principe :** le sang périphérique est l'un des sources de monocytes chez l'homme. Pour cela il est utilisé dans le présent travail pour évaluer l'activité phagocytaire des *C. albicans* par les macrophages *in vitro*. Le test de phagocytose se fait par l'évaluation globale de la capacité de phagocytose des cellules du sang total comparativement à celle des cellules phagocytaires isolées à partir du sang, qui sont des leucocytes stimulés par des particules opsonisées. L'expérience a pour but de tester le pouvoir des polysaccharides à augmenter l'ingestion de particules étrangères (zymosan A) par les leucocytes. Les étapes de l'expérimentation sont le prélèvement de sang puis la préparation des levures dans des milieux de cultures favorables. Après la lyse des érythrocytes, des frottis sont préparées sur

des lames, suivies par une double coloration. Enfin la lecture des lames se fait sous microscope optique (G:10×100).



Une centaine de cellules adhérentes sont comptées pour déterminer le pourcentage de la phagocytose à l'aide d'un microscope optique (G:10×100). Les valeurs de phagocytoses représentent le pourcentage de cellules qui contiennent des particules de zymosanA ou de levures intériorisées (Popovet al., 1999; Nose et al., 1997; Abid et al., 2012). La capacité phagocytaire est représentée selon l'**Équation 13**.

**Équation 13.**             $\% \text{ Capacité de phagocytose} = \frac{\text{Nombre de cellules ingérées}}{\text{Nombre total}} \times 100$

*Avec CP :capacité de phagocytose ;Nombre de cellules ingérées :nombre des macrophages ayant phagocytés des levures ou du zymosan A ; Nombre total :nombre des macrophages choisis pour le calcul.*

L'activité phagocytaire des polysaccharides et celle du contrôle positif sont calculées (**Équation 14**) selon la méthode de Stevenet al. (1984).

**Équation 14.**             $\text{Activité phagocytaire} = (CP_{\text{test}} - CP_{\text{blanc}})$

*Avec AP% :activité phagocytaire catalysé par les polysaccharides et le contrôle positif ;CP<sub>test</sub> % : capacité de phagocytose en présence de polysaccharides ou bien de contrôle positif et CP<sub>blanc</sub> % : capacité de phagocytose en absence de polysaccharides ou bien de contrôle négatif.*

**Matériels et réactifs :** Solution de May-Grünwald (Sigma-Aldrich, 63590). Zimosan A (Sigma-Aldrich, Z4250). Héparine de sodium (Sigma-Aldrich, 1304016). Solution saline équilibrée de Hanks (Préparée selon Hanks, 1975). Giemsa (Sigma-Aldrich, G5637). Méthanol (Sigma-Aldrich, 323415). Tampon phosphate (préparé selon Burnat et al., 2013). Milieux de Sabouraud (Sigma-Aldrich, 84088 et S3306). Polysaccharide à tester (poudre). Centrifugeuse. Bain marie. Microscope optique (Shimadzu, UV-Visible type).

**Protocole :**(i)**Prélèvement du sang :** le sang périphérique humain est prélevé par une ponction veineuse aseptique réalisée par un préleveur formé à partir de volontaires sains de sexe masculin, âgé de 25-38 ans (Koko et al., 2008). Le sang total est recueilli dans un tube vacutainer contenant de l'héparine de sodium (NH) comme anticoagulant (Maqbool et al., 2011). (ii)**Préparation de solutions tampons :** les solutions tampons sont préparées selon la méthode de Burnat et al. (2013) pour la solution tampon de phosphate, et selon Hanks (1975) pour la solution saline équilibrée de Hanks (HBSS).

(iii) **Préparation du *Candida albicans*** : *C. albicans* est inoculé dans un milieu liquide de Sabouraud à partir d'une culture mère maintenue sur gélose inclinée (milieu de Sabouraud). Puis, elle est laissée pendant une nuit à 30 °C (Ghoneum et Gollapudi, 2004). La culture est centrifugée à 2000 g pendant 10 min et le culot est lavé deux fois avec un tampon phosphate stérile (Tavanti et al., 2006), puis incubé pendant 1 h à 90°C pour éliminer les levures (Ghoneum et Gollapudi, 2004). La concentration de cellules dans le PBS est mesurée à  $\lambda=540$  nm ( $DO_{540}$  égal à 1,0 correspond à  $2,8 \cdot 10^6$  blastoconidies de *C. albicans*/mL) (Tavanti et al., 2006) et la suspension de cellules est ajustée à  $1 \cdot 10^7$  cellules de levures/mL (Ghoneum et Gollapudi, 2004).

(iv) **Préparation de polysaccharides et de zymosan A** : une solution mère de chaque fraction polysaccharidique est préparée comme suit : dans une éprouvette, à 1g d'extrait brut, il est ajouté jusqu'à 100 mL de la solution HBSS, soit une concentration de 0,1 % (Nergard et al., 2005). Le zymosan A est un dérivé de membrane des cellules de *Saccharomyces cerevisiae* de levure. Il s'agit d'un complexe de protéines et de glucides (notamment du  $\beta$ -D-glucane) (Sato et al., 2003). Le zymosan A est utilisé comme control positif dans l'activité phagocytaire. Une concentration de 100  $\mu$ g/mL est utilisée pour la comparaison avec les échantillons (Smith et al. 1978).

(v) **Exploration de phagocytose et récupération des cellules phagocytaires** : 40 microlitres d'extraits polysaccharidiques sont mélangés avec 200  $\mu$ L du sang hépariné et incubé dans un bain marie fermé avec agitation (600 rpm) à 37 °C pendant 30 min. Pour arrêter la réaction, les tubes sont mis dans un bain de glace (Harun et al., 2015). Les cellules stimulées sont lavées deux fois par du PBS (Chen et al., 2015) à 4 °C et centrifugées à 2500 g pendant 5 min à 4°C (Rossiet al., 2013). 40 microlitres de solution de levures *C. albicans* sont ajoutés au mélange des échantillons à 0°C. Les échantillons sont incubés dans un bainmarie avec agitation à 37°C pendant 10 min. Tandis que pour le contrôle négatif, les échantillons sont placés dans la glace (Harun et al., 2015). Après incubation, la phagocytose est arrêtée par l'addition de 2 mL de PBS refroidi puis les cellules sont lavées trois fois du PBS froid (Chena et al., 2014a). Les levures extracellulaires sont éliminées par centrifugation à 10000 g, pendant 5 min à 4°C (Czuprynskiet al., 1991).

(vi) **Lyse des érythrocytes et coloration de May-Grünwald Giemsa** : les érythrocytes sont lysés jusqu'à obtenir 2mL d'une solution de lyse avec une population pure de granulocytes (Maqbool et al., 2011). La lyse des hématies est effectuée une fois pendant 20sec par une solution HSi d'hémolyse et de lavage. Le processus de lyse est arrêté en utilisant 2mL d'un tampon HBSS suivi d'une centrifugation à 4000 g pendant 10 min et les échantillons sont ensuite lavés par 3 mL de PBS (deux fois) (Harun et al., 2015).

Quelques gouttes de chaque culot cellulaire sont prélevées et disposées à l'extrémité d'une lame de verre (Pouletty, 2010). Les frottis sont préparés pour la lecture des résultats de test de la phagocytose sous microscope optique, une goutte de sang est étalée sur une lame en verre de façon uniforme. Un bon frottis doit être de bonne taille ( $\frac{1}{2}$  à  $\frac{3}{4}$  de la lame) et en bonne densité. La fixation des cellules étalées est faite en versant quelques gouttes de méthanol sur la lame pour une durée de 2mn (Norum et al., 2005). Les cellules sont fixées par le méthanol pendant 2 min avant d'être lavées par de l'eau du robinet. Elles sont colorées par une solution de May-Grünwald pendant 2 min, puis lavées à l'eau du robinet et colorées au Giemsa (dilution 1:10) pendant 10 min. Les cellules sont observées à l'aide d'un microscope optique (Norum et al., 2005 ; Lnicamyear, 2000).

#### 3.7.4 Activité prébiotique

**Principe :** La microécologie de l'intestin humain est un écosystème complexe et délicatement équilibré, dans lequel habitaient environ  $10^{14}$  bactéries (Wang et al., 2015). Parmi les bactéries endogènes, les probiotiques sont essentiels à l'homéostasie et à la santé du tractus gastro-intestinal pour les êtres humains (Saad et al., 2013). La modulation du microbiote intestinal par la consommation d'ingrédients prébiotiques est un concept émergent pour la promotion de la santé intestinale (Khodaei et al., 2016). Le terme prébiotique a été introduit par Gibson et Roberfroid (1995) qui ont défini un prébiotique « un ingrédient alimentaire non digestible qui améliorent la santé de l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité métabolique d'un ou d'un nombre limité de bactéries bénéfiques dans le côlon » (Gibson et Roberfroid, 1995 ; Li et al., 2015 ; Rodrigues et al., 2016) (partie 2.3.2.1.2). Cette définition chevauche partiellement celle des fibres alimentaires, à l'exception de la digestibilité par certaines souches probiotiques. La sélectivité des prébiotiques a été démontrée pour les bifidobactéries, qui peuvent être favorisées par l'ingestion de substances telles que les fructo-oligosaccharides (FOS) et l'inuline, les oligosaccharides transgalactosylés et les oligosaccharides de soja (Gibson et al., 1995, Synytsya et al., 2009). Une attention particulière a été accordée aux prébiotiques alimentaires (glucides non digestibles), qui ont été jugés efficaces dans des modifications spécifiques de la composition et de l'activité du microbiote gastro-intestinal, ce qui confère des avantages à la santé de l'hôte (Hongpattarakere et al., 2012 ; Miao et al., 2016).

L'étude primaire du potentiel prébiotique d'un polysaccharide et/ou de ses oligosaccharides passe dans un premier temps par deux types d'expérimentation, à savoir (i) un test de digestibilité *in vitro* afin de vérifier la résistance du polysaccharide aux conditions gastriques notamment et (ii) la culture d'une souche modèle (souvent probiotique, et ici pour l'étude *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103) en présence du polysaccharide selon la méthode de Korakli et al. (2002). Pour l'étude, l'inuline et des fructo-oligosaccharides (FOS) sont utilisés comme référence.

#### 3.7.4.1 Test de digestibilité *in vitro* des polysaccharides

**Matériels et réactifs :** Inuline Orafiti® (Beneo, RRDCH7BCH7). Fibruline® F97 (Cosucra). Acide chlorhydrique (Sigma-Aldrich, 435570). Solutions d'inuline et de FOS à 1% (m/v) dans l'eau. Solution de HCl 5M. Tampons gastriques artificiels à des pH variant de 1 à 5 (8 g/L NaCl, 0,2 g/L KCl, 8,25 g/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 14,35 g/L NaHPO<sub>4</sub>, 0,1 g/L CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O et 0,18 g/L MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O). L'ensemble des réactifs sont obtenus chez Sigma-Aldrich ; le pH du tampon est ajusté à 1, 2, 3, 4 et 5 en utilisant une solution d'HCl 5 M). Eau ultrapure. Solution de polysaccharides à 1% (m/v) à analyser. Système d'agitation thermostaté Carousel Tech (Radley Tech, RR91202).

**Protocole :** 5 mL de l'échantillon sont mélangés avec 5 mL du jus gastrique artificiel pour chaque pH testé (1 à 5) et le mélange réactionnel est incubé dans un système Radleys sous agitation (750 rpm) à 37 °C durant 6 h. 500 µL du mélange réactionnel sont prélevés périodiquement après 0, 0,5, 1, 2, 4 et 6 h d'incubation et leurs contenus en sucres réducteurs (partie 3.4.3) et en sucres totaux (partie 3.4.1) sont déterminés. 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 ( $[OA] = \frac{DO_{m-HDP}}{\beta}$  **Équation 15**).

**Équation 15.** 
$$\% d'hydrolyse = \frac{(\text{Sucres réducteurs libérés})}{(\text{Sucres totaux}) - (\text{Sucres réducteurs initiaux})} \times 100$$

#### 3.7.4.2 Test du potentiel prébiotique *in vitro* des polysaccharides

**Matériels et réactifs :** Glucose (Sigma-Aldrich, G8270). Acide ascorbique (Sigma-Aldrich, A0278). Fibruline® F97 (Cosucra). Fibruline® Instant (Cosucra, WCII 7 2511). Inuline Orafiti® (Beneo, RRDCH7BCH7).

Milieu Man-Rogosa-Sharpe (MRS) à pH 6,3 composé de 10 g de peptone animale (Fluka, 77180), 8 g d'extrait de viande (Laboratorios Conda, 1700.00), 4 g d'extrait de levure (Laboratorios Conda, 1702.00), 2 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich, 60356), 5 g CH<sub>3</sub>COONa, 3 H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich, 32318), 2 g de citrate de triammonium (Sigma-Aldrich, A1332), 0,2 g de MgSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich, 63140), 0,05 g MnSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich, M8179) et 1 mL de Tween 80 (Ficher Scientific, T/4203/60). Huile minérale silicone (Wacker, AK500). Solutions d'inuline, glucose et de FOS préparées à 2% (m/v). Solution de vitamine C à 0,2% (m/v). Solution de polysaccharides à 2% (m/v) à analyser. Filtres (Sartorius, 0,22 µm). Lecteur de microplaques thermostaté (PerkinElmer, Victor X3). Autoclave (Advantage Lab, AL 02-01). Logiciel d'acquisition et de traitement WorkOut (version 2.5).

**Protocole :** le milieu de culture MRS 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 de *P. notata*), 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). Le milieu MRS et la solution de polysaccharides PSPN (**Tableau 11**) ont été autoclavés tandis que les solutions de glucose, d'inuline, de FOS et de vitamine C ont été filtrées à 0,22 µm.

La culture de *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 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. 20 µL de cette culture sont utilisés pour inoculer 180 µL de milieu MRS contenant la source carbonée à tester dans des puits de microplaques. Le mélange est ensuite additionné de 50 µL d'huile minérale pour empêcher l'évaporation du milieu et se placer en anaérobiose. La croissance bactérienne est suivie par mesure d'absorbance à 600 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques sur une période de 32 h.

## 4 Résultats commentés

Les résultats des analyses structurales, des études rhéologiques et des activités biologiques testées des différents extraits bruts de polysaccharides hydro et alcali-solubles de *Plantago notata* Lagasca et d'*Urginea noctiflora* Batt et Trab sont développés dans ce chapitre. Au vu des résultats, treize fractions ont été obtenues après extraction des polysaccharides hydro- et alcalisolubles des deux espèces végétales étudiées. Pour *Plantago notata* L., il s'agit de deux fractions hydro-solubles extraites à partir des épis (PSP et PSPE), des graines (PSPN et PSPNE) et des feuilles (PSF et PSFE). Sept fractions ont été isolées chez *Urginea noctiflora* Batt et Trab., il s'agit de deux fractions alcali-solubles (PSALK1 et PSALK2) de bulbes et cinq fractions hydrosolubles. Les fractions hydro-solubles se répartissent en deux fractions extraites à partir des feuilles (PSUF et PSUFE), deux fractions à partir des racines (PSR et PSRE) et une fraction (PS1) à partir de bulbes.

### 4.1 Rendements d'extractions et compositions globales des différentes fractions

Le **Tableau 15** représente les rendements massiques et la composition en oses totaux (neutres et acides), en protéines et en polyphénols des extraits de polysaccharides hydro- et alcali-solubles isolés des différentes parties des plantes investies, *Plantago notata* L. et *Urginea noctiflora* Batt. et Trab. Les rendements relatifs sont calculés par rapport à la masse de matières sèches ayant servi à l'extraction. Il apparaît que les rendements massiques des extraits de polysaccharides hydrosolubles par rapport aux matières sèches sont de l'ordre de 4,66% pour les graines, 3,4% pour les feuilles et 2,5% pour les épis de *Plantago notata* L. Concernant *Urginea noctiflora* Batt. et Trab, les rendements massiques des extraits hydrosolubles des feuilles, racines et bulbes sont respectivement de 3,37%, 1,71% et 1,47%. La fraction alcali-soluble PSALK2 a été obtenue à partir des bulbes avec un rendement de 1,86%. Ces rendements sont, en général, en dessous de ceux décrits dans la littérature. Pawar et Varkhade (2014) ont obtenu un rendement supérieur à 32% après extraction aqueuse (48h, température ambiante) lors de l'extraction d'un AX de l'enveloppe des graines de *P. ovata*. Farahnaky et al. (2010) ont obtenu quant à eux un rendement de 28,5% pour la même plante. Dans des conditions similaires, les travaux de Fischer et al. (2004) montrent des rendements proches de 25% pour *P. ovata* Forsk. On note toutefois que Muralikrishna et al. (1987) ont décrit des rendements d'extraction plus faibles pour un AX, avec des valeurs de 6% en condition aqueuse (24h, température ambiante) à partir de graines de lin.

**Tableau 15.** Rendements d'extractions et compositions globales des fractions polysaccharidiques alcali- et hydrosolubles isolées à partir des différentes parties de *P. notata* et *U. noctiflora*.

	<i>Plantago notata</i> L.						<i>Urginea noctiflora</i> Batt. et Trab.						
	Epis		Graines		Feuilles		Bulbes			Racines		Feuilles	
	PSP	PSPE	PSPN	PSPNE	PSF	PSFE	PS1	PSALK 1	PSALK 2	PSR	PSRE	PSUF	PSUFE
<b>Rendement (%)</b>	2,5	1,46	<b>4,66</b>	3,95	3,4	5,43	1,47	10,93	1,86	1,71	2,81	3,37	3,55
<b>Masse (g)</b>	2,5	0,73	<b>3,73</b>	2,24	1,8	1,2	2,55	2,053	0,35	1,12	0,635	1,7	0,67
<b>Oses totaux (%)</b>	79,70	79,68	<b>85,55</b>	67,62	20,1	23,96	23,4	11,85	47,5	17,68	30,26	33,81	17,39
<b>Oses neutres (%)</b>	51,2	64,42	<b>78,0</b>	52,15	15,63	34,62	16,31	16,18	37,63	19,54	38,9	23,26	18,05
<b>Oses acides (%)</b>	18,84	22,23	<b>4,9</b>	26,93	29,16	43,86	10,68	13,14	11,48	32,35	19,79	21,65	14,08
<b>Protéines (%)</b>	2,32	3,23	<b>0,64</b>	1,94	0,93	2,26	4,98	3,42	0,93	3,45	2,89	7,1	4,45
<b>Polyphénols (%)</b>	0,73	1,03	<b>0,65</b>	1,12	3,82	1,93	1,24	0,36	0,23	2,12	3,46	4,35	4,99

Les % sont exprimés en m/m.

Boual et al. (2015a) ont obtenu des rendements très faibles pour un extrait de polysaccharides hydrosolubles issus des feuilles de *P. notata* L. L'extraction des polysaccharides du mucilage d'*Urginea indica* en condition aqueuse a permis d'atteindre des rendements de 4 % (Banani et Shiva Kameshwari, 2015). Boual et al. (2013) ont réussi à atteindre des rendements d'extraction de 5,33 % pour des polysaccharides hydrosolubles (80°C, 3 h) extraits de bulbes d'*U. noctiflora*. De manière générale, l'hétérogénéité des rendements d'extraction est à la fois due aux plantes concernées et aux parties analysées mais aussi au protocole d'extraction utilisé. Ainsi, la composition en polysaccharides sera différente en fonction de la partie de la plante analysée (partie 2.2.2). Les procédures associées à leurs extractions seront également variables, le mucilage étant par exemple plus facilement extractible en condition aqueuse que des xylandes de paroi, qui pourront nécessiter parfois des traitements alcalins ou acides. La composition globale des extraits bruts des polysaccharides isolées à partir des différentes parties de *Plantago notata* et d'*Urginea noctiflora* a montré que les extraits isolés à partir des différentes parties de cette dernière présentent des faibles rendements avec des faibles concentrations en oses totaux. Il en va de même pour les extraits provenant des feuilles de *P. notata*. Les extraits des polysaccharides hydrosolubles isolées à partir des épis et des graines de *Plantago notata* L. semblent plus riches en oses totaux avec des concentrations faibles en protéines et de polyphénols, attestant de la bonne pureté en polysaccharides des échantillons. De part ces résultats et le contexte du travail qui visait à caractériser les polysaccharides hydro-solubles des plantes, la fraction PSPN de *P. notata* a été retenue pour les études structurale, rhéologique et biologique. Elle présente un rendement d'extraction assez faible (4,66 %) mais une composition en oses totaux supérieure à 85 %.

## 4.2 Etude structurale du polysaccharide hydrosoluble PSPN extrait des graines de *P. notata*

### 4.2.1 Composition globale de PSPN

La composition globale de PSPN est détaillée dans le **Tableau 16**. Pour rappel, le rendement d'extraction de cette fraction hydro-soluble est de l'ordre de 4,66 %. Cette valeur est proche de celles mentionnées par Han et al. (2016) et Yin et al. (2012a) pour les mucilages extraits à partir de graines d'autres espèces de *Plantago*.

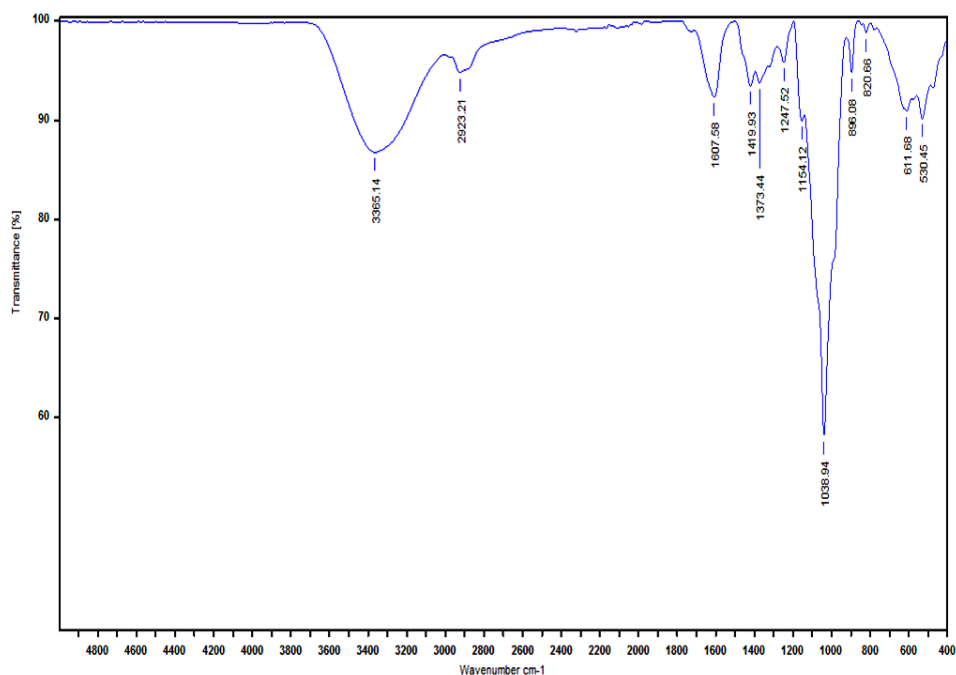


**Tableau 16.** Composition globale du polysaccharide PSPN extrait des graines de *P. notata*.

Oses totaux (% m/m)	Oses neutres (% m/m)	Oses acides (% m/m)	Protéines (% m/m)	Polyphénols (% m/m)	[NaCl] <sup>(1)</sup> (%)	Conductivité ( $\mu\text{s/cm}$ )
85,6	78,0	4,9	0,64	0,65	1,68	32,7

<sup>(1)</sup>Equivalent NaCl

Plus récemment, Yu et al. (2017) ont extrait trois fractions différentes des graines de *P. ovata* en conditions aqueuses à 25 et 65°C mais aussi alcalines. Ils ont respectivement obtenu des rendements d'extraction de 4,5, 3,2 et 9,2%. En condition alcaline (0,5 M NaOH, 2 h, 4°C), Yin et al. (2016a) et Yin et al. (2016b) reportent des rendements proches à partir des graines de *P. asiatica* L. PSPN est essentiellement composé de polysaccharides (85,6%), principalement neutres (78,0%), avec des faibles quantités de protéines (0,64%) et des polyphénols (0,65%). Ces résultats de composition glucidique sont cohérents à d'autres décrites dans la littérature pour des polysaccharides mucilagineux hydrosolubles provenant de graines d'espèces de Plantaginaceae telles que *P. ovata* Forsk., *P. asiatica* L. (Guo et al. 2008; Van Craeyveld et al. 2009; Zhao et al., 2014 ; Yin et al., 2016a; Yin et al., 2016b) ou de *P. major* L. (Behbahani et al., 2017). Les fractions décrites sont riches en polysaccharides (>70%), contiennent peu de protéines (<10%) et présentent des quantités d'acides uroniques très variables (>20% pour certaines) mettant en avant l'existence de polysaccharides neutres et/ou acides au sein de ces extraits. Dans le cas de PSPN, le polysaccharide présente une faible nature poly-électrolyte en raison de sa faible concentration en oses acides. Cette composition a été confirmée également par IR-TF, spectroscopie largement utilisée pour la caractérisation partielle des polysaccharides (Archana et al., 2013; Han et al., 2016). L'analyse de PSPNa permis de révéler de manière qualitative, la présence de groupes fonctionnels caractéristiques (**Figure 46**). Des bandes caractéristiques des polysaccharides ont ainsi été attribuées, entre 3600 à 3000  $\text{cm}^{-1}$ , 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$ , 1400-1200  $\text{cm}^{-1}$  et 1200-700  $\text{cm}^{-1}$  (Zhao et al., 2014 ; Ktari et al., 2017a). La fraction PSPN a montré une large bande intense à 3365  $\text{cm}^{-1}$  correspondant à la vibration d'élongation des groupements hydroxyles (-OH), caractéristiques des polysaccharides mais aussi de l'absorption de l'eau (Gnanasambandam et Proctor, 2000 ; Adel et al., 2010).



**Figure 46.** Spectre IR-TF obtenu pour PSPN.

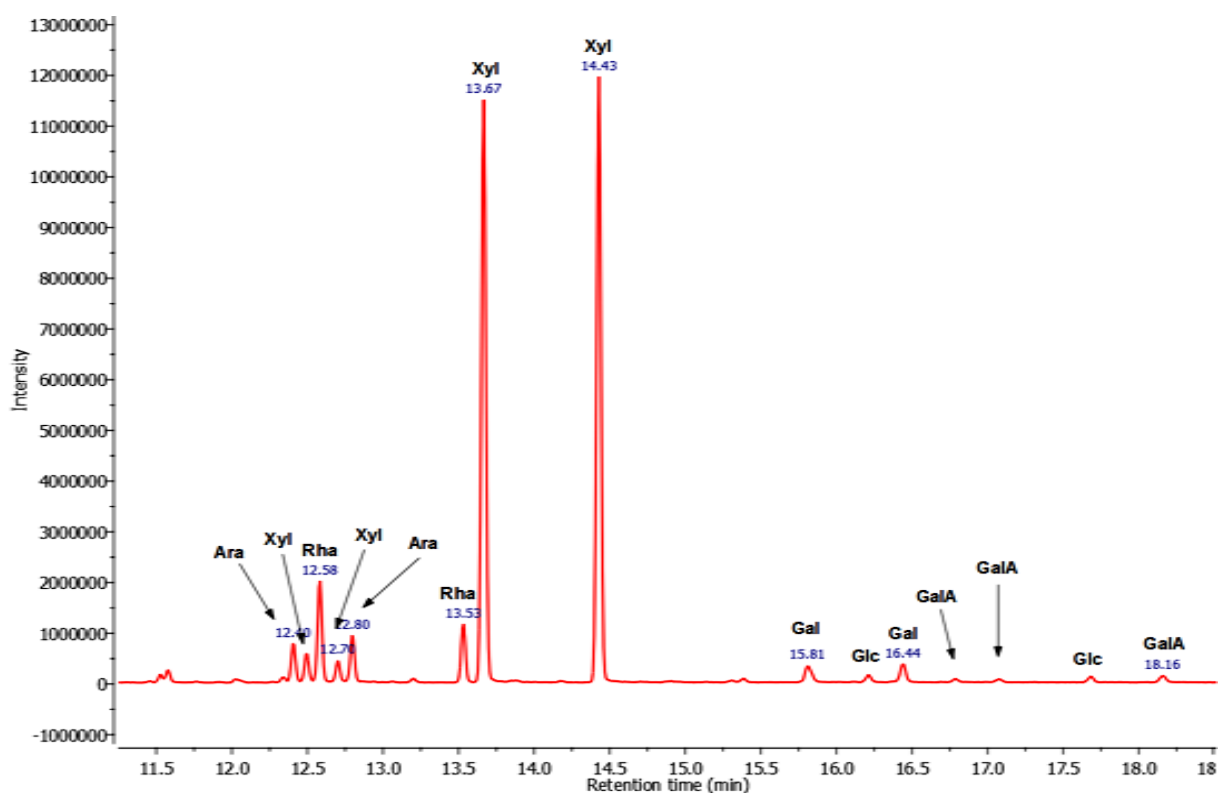
Le faible signal obtenu à  $2923\text{ cm}^{-1}$  est attribué à la vibration asymétrique du groupement (C-H) (Bouaziz et al., 2016b). Les bandes d'absorption autour de  $1607\text{ cm}^{-1}$  et  $1419\text{ cm}^{-1}$  suggèrent la présence de groupements carboxylate ( $-\text{COO}^-$ ) correspondant à des acides uroniques et le signal observé à  $1373\text{ cm}^{-1}$  pourrait correspondre à la vibration d'élongation des groupements(C=O) de la fonction carboxylique du GalA(Petera et al., 2015). Le signal observé à  $1038\text{ cm}^{-1}$  est dû à la présence des groupements (C-O) de polysaccharides (Edwards et al., 1998). Enfin, l'absorption caractéristique à  $896\text{ cm}^{-1}$  suggère une configuration de type  $\beta$  pour les anoméries des résidus engagés dans la chaîne principale de PSPN (Barker et al., 1954).

#### 4.2.2 Composition en monosaccharides de PSPN

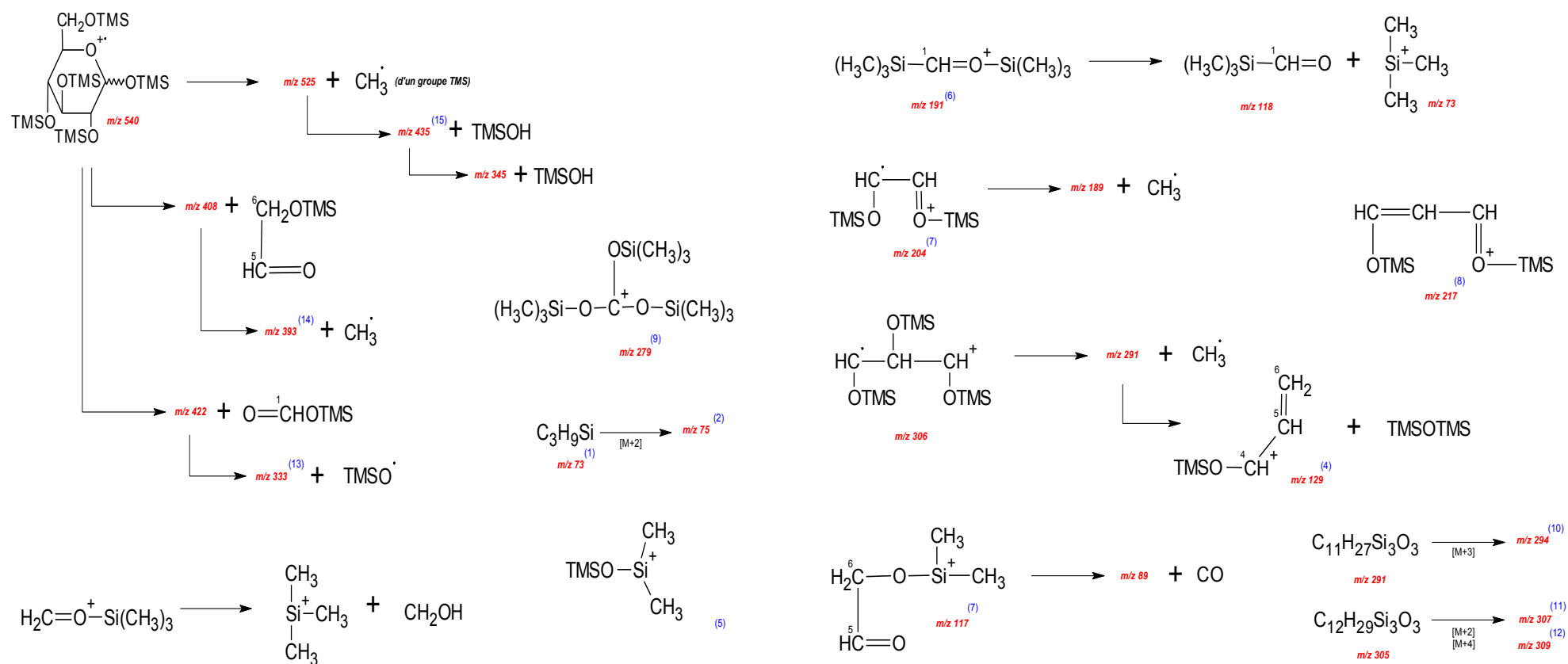
##### 4.2.2.1 Distribution des monosaccharides au sein de PSPN

L'identification de la composition en monosaccharides de PSPN a été étudiée par CPG/SM-IE après hydrolyse acide et triméthylsilylation (partie 3.5.1.3). L'hydrolyse acide totale du polymère permet la libération des différents monosaccharides constitutifs. Chaque monomère libéré est alors présent sous forme d'un mélange de monomères cycliques (la présence de monomères ouverts est négligeable) sous forme pyrane et furane, dont les deux anoméries ( $\alpha$  et  $\beta$ ) sont variables.

L'équilibre mutarotationnel des monomères conduit à la formation de multiples pics après triméthylsilylation (Montreuil et al., 1963 ; DeJongh et al., 1968 ; Kamerling 2007). La méthodologie de triméthylsilylation utilisée dans ce travail est adaptée de la procédure de Kamerling et al., (1975) et modifiée par Montreuil et al. (1963) puis par Montreuil et al. (1986). Elle permet de s'affranchir de la substitution des protons des groupements hydroxyle engagés dans les liaisons glycosidiques au cours de l'hydrolyse acide par des groupements méthyle (marquage des liaisons). La **Figure 47** montre les résultats obtenus pour PSPN. Les voies de fragmentation en impact électronique (70 eV) des glycosides-*O*-triméthylsilyles sont largement décrites dans la littérature (**Figure 48**) (DeJongh et al., 1968 ; Kamerling 2007). Ainsi, les rapports de masse/charge 204 et 217 sont des éléments importants à prendre en considération. En effet, un rapport  $m/z$  204/217 proche et/ou supérieur à 1 est un bon indicateur de la présence d'un cycle pyranique. A l'inverse un rapport  $m/z$  204/217 très largement en dessous de 1 indiquera la présence d'un cycle furanique (DeJongh et al., 1968 ; Kamerling 2007). L'intensité du fragment  $m/z$  217 sera donc très importante pour un monosaccharide sous forme furanique.



**Figure 47.** Chromatogramme obtenu pour PSPN après analyse par CPG/SM-IE. Ara : arabinose, Xyl : xylose, Rha : rhamnose, Gal : galactose, Glc : glucose, GalA : acide galacturonique.



**Figure 48.** Voies de fragmentation de dérivés *O*-triméthylsilylglucosides par CGP/SM en Impact Electronique (EI, 70 eV) (source personnelle).

Le **Tableau 17** décrit la composition en monosaccharides constitutifs de PSPN. Ce dernier est composé principalement de résidus Xyl (77,4%), Rha (9,20%) et Ara (7,58%) mais aussi de faibles quantités de Gal (2,58%), Glc (1,00%) et GalA (2,21%). Cette composition suggère la présence d'un hétéroxylane faiblement acide dans PSPN (qui, rappelons-le, est composé à plus de 80% d'oses totaux). Ce résultat est cohérent avec d'autres études décrites dans la littérature concernant les mucilages extraits à partir de graines d'autres espèces de *Plantago* (Cohen et al., 1999; Samuelsen et al. 1999b ; Huang et al., 2014). Le xylose et l'arabinose sont en général identifiés comme les principaux monosaccharides constitutifs de ces fractions mucilagineuses (Fischer et al., 2004; Naran et al., 2008 ; Saghir et al., 2009 ; Pawar et Varkhade, 2014 ; Madgulkar et al., 2015; Yuet al., 2017). D'autres monosaccharides sont également décrits, tels que des résidus Rha, Man, Gal et Glc, mais qui pourraient correspondre à des « contaminants de paroi non xylaniques », comme par exemple des arabinogalactanes et/ou des pectines (partie 2.2.2.3) (Yin et al., 2016b).

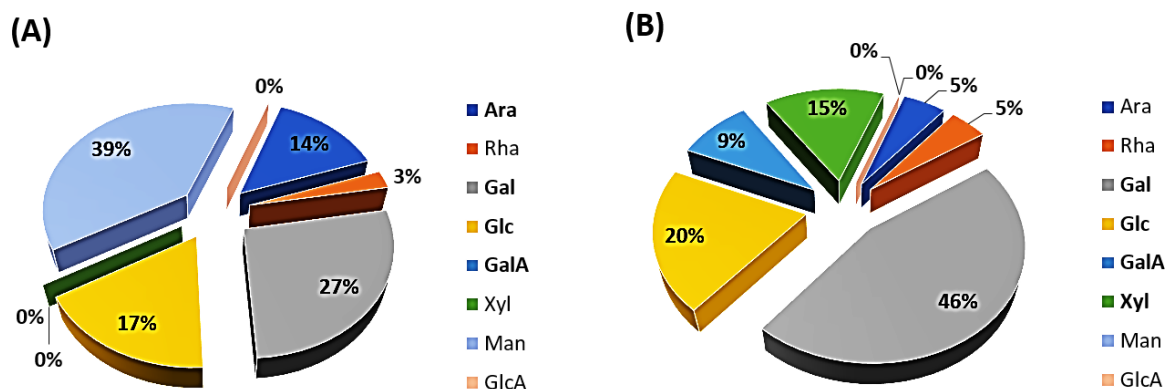
**Tableau 17.** Composition en monosaccharides (% molaire) de PSPN après analyses par CPG/SM-IE.

Xyl	Ara	Rha	Glc	GalA	Man
77,4 ± 4,16	7,58 ± 3,77	9,20 ± 1,84	1,00 ± 0,43	2,58 ± 0,88	2,21 ± 1,76

Xyl : Xylose, Ara : Arabinose, Rha : Rhamnose, Glc : Glucose, Gal : Galactose, GalA : Acide galacturonique.

#### 4.2.2.2 Distribution en monosaccharides de PS1 et PSALK2

En partie 4.1, les fractions hydro- et alcali-solubles extraites des bulbes d'*U. noctiflora* ont été délibérément mises de côté de par leur faible contenu en polysaccharides et les mauvais rendements d'extractions obtenus. A titre informatif, la composition en monosaccharides des deux fractions a toutefois été également analysée et les résultats comparés à la littérature pour d'autres espèces d'*Urginea* (**Figure 49**). Les polysaccharides hydro- et alcali-solubles présents dans les bulbes d'*Urginea noctiflora*, semblent constitués principalement de galactose, de glucose et de mannose. Le polysaccharide hydrosoluble (PS1) extrait des bulbes d'*Urginea noctiflora* est composé de Man (39%), Gal (27%), Glc (17%), Ara (14%) et de faibles quantités de Rha (3%). Cette composition pourrait correspondre à un (gluco)galactomannane, forme de stockage assez fréquente chez les plantes (partie 2.2.2).



**Figure 49.** Composition en monosaccharides de la fraction (A) PS1 (hydro-soluble) et (B) PSALK2 (alcali-soluble) extraites des bulbes d'*Urginea noctiflora*. Les protocoles d'extraction sont décrits en Figure 36 et Figure 37.

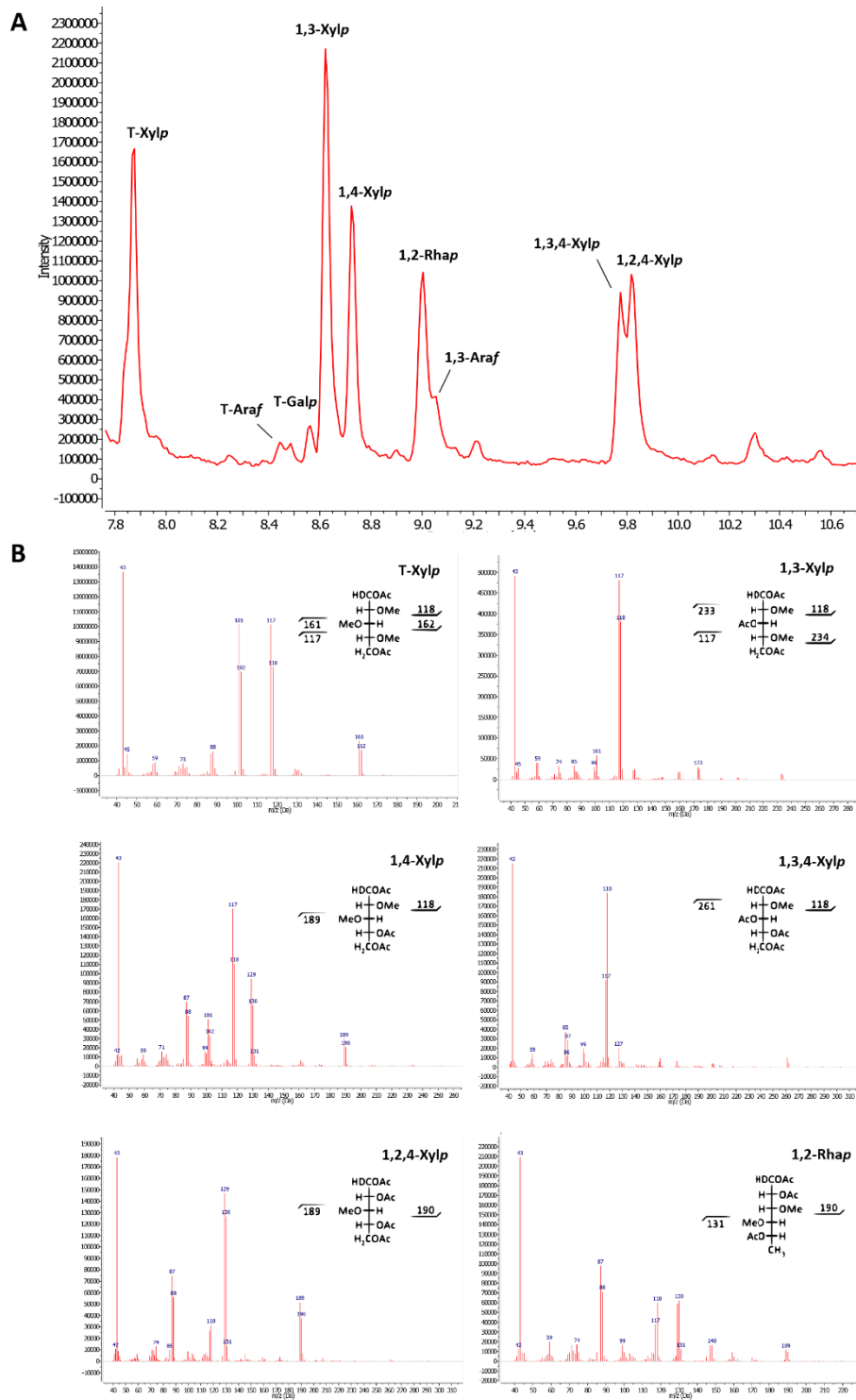
La fraction alcaline (PSALK2) isolée des bulbes d'*Urginea noctiflora* est composée essentiellement de Gal (46%), Glc (20%), Xyl (15%) et de faibles quantités de Rha (5%) et de résidus Ara (5%). Ces résultats montrent que le polysaccharide alcali-soluble extrait des bulbes d'*Urginea noctiflora* pourrait correspondre à un galactane. A notre connaissance, la littérature est quasiment inexistante concernant la description structurale (fine) de polysaccharides extraits d'*Urginea*. Toutefois, il est possible de comparer les résultats avec d'autres plantes à bulbes appartenant aux Liliacées. L'extraction aqueuse des feuilles d'*Aloe barbadensis* a ainsi fourni un mélange de polysaccharides contenant principalement de l'acide pectique, un D-galactane, un glucomannane et un arabinane. L'acide pectique a été éliminé du mélange par traitement avec du chlorure de calcium, et le polysaccharide riche en hexoses a été fractionné pour donner un D-galactane légèrement acide contenant du Gal (92,9%) et du GalA (3,8%) (Mandal et Das, 1980). La composition du mucilage isolée du genre *Aloe* semblent varier largement selon les espèces. Le mucilage d'*Aloe vera* présente des proportions équimolaires de Glc avec de faibles quantités d'acides uroniques, et celui d'*Aloepkatilis* est composé d'un seul glucomannane acétylé ayant du glucose et du mannose dans le rapport molaire (1/2,8). Une espèce sud-indienne d'*A. vera* se compose principalement de plusieurs glucomannanes acétylés, ainsi que de traces d'acide galacturonique, de galactose, de xylose et d'arabinose.

Le galactose est le composé prédominant avec le mannose et le glucose des polysaccharides isolés d'*Aloe suprafoliata*, ce qui suggère probablement la présence d'un polysaccharide de type glucogalactomannane (Grace et al., 2013). Il ressort de ces rapports que le polysaccharide principal présent dans ces sources (*Aloe*) est essentiellement un glucomannane acétylé (Mandal et Das, 1980). Les polysaccharides bruts alcali-solubles des graines de septespèces de *Liliaceae* ont été étudiés. Ces graines semblent toutes contenir, des galactoglucomannanes au/et des glucomannanes (Jakimow-Barras, 1973). La structure d'un galactoglucomannane contenu dans l'endosperme (albumen) d'*Asparagus officinalis* a également été identifiée, dont les oses constitutifs Glc/Man/Gal se trouvent dans un rapport molaire 43/49/7. Ce polysaccharide est formé d'une chaîne linéaire composée d'unités D-glucosyl et D-mannosyl possédant des liaisons de type  $\beta$ -(1,4). A ces unités viennent s'ajouter latéralement des unités de D-galactose, dont le type de liaison est de (1,6). Les groupes terminaux non-réducteurs des chaînes principales sont surtout constitués par du glucose, en plus petite proportion par du mannose (Jakimow-Barras, 1973).

#### 4.2.3 Etude des liaisons glycosidiques de PSPN

##### 4.2.3.1 Analyse par CPG/SM-IE

Afin de déterminer précisément la structure de PSPN, une analyse des liaisons glycosidiques a été réalisée par CPG/SM-IE. Le chromatogramme obtenu par l'analyse des Acétates d'Alditol Partiellement *O*-Méthylés (AAPM) est présenté en **Figure 50**. Les résultats obtenus après méthylation sont présentés dans le **Tableau 18**. Les principaux résidus sont : 1,3-Xylp (21,8%), T-Xylp (19%), 1,2,4-Xylp (13,8%), 1,4-Xylp (12,5%), 1,2-Rhap (12,6%), 1,3,4-Xylp (10,6%), 1,3-Araf (4,68%), T-GalpA (3,09%) et T-Araf (1,85%). Le pourcentage de résidus terminaux totaux (23,94%) est proche de celui des résidus ramifiés (24,4%), confortant la bonne attribution et quantification des branchements sur la chaîne principale de PSPN. Les rapports pour chaque résidu sont également cohérents avec les résultats de composition en monosaccharides obtenus en CPG/SM après dérivatisation (**Tableau 17**).



**Figure 50.**(A) Séparation (Chromatogramme des Ions Totaux) des AAPM mesurés par CPG/SM-IE et (B) Spectres de masse des principaux fragments en impact électronique. Les profils d'éluion et de détermination des structures ont été déterminés d'après Peña et al. (2012).



**Tableau 18.** Profil des Acétates d'Alditol Partiellement *O*-Méthylés (AAPM) et détermination des liaisons glycosidiques, obtenus après analyse de méthylation de PSPN.

<b>AAPM<sup>(a)</sup></b>	<b>%<sup>(b)</sup></b>	<b>Liaisons<sup>(c)</sup></b>	<b><i>m/z</i></b>
2,3,5-Me <sub>3</sub> -Ara	1,85	Araf-(1→	43, 71, 87, 101, 102, 118, 129, 161
2,5-Me <sub>2</sub> -Ara	4,68	→3)-Araf-(1→	43, 59, 101, 87, 117, 118, 233, 234
<i>total</i>		<b>6,53</b>	
3,4-Me <sub>2</sub> -Rha	12,6	→2)-Rhap-(1→	43, 88, 89, 100, 101, 115, 130, 131, 161, 190
<i>total</i>		<b>12,6</b>	
2,3,4,6-Me <sub>4</sub> -Gal <sup>(d)</sup>	3,09	GalpA-(1→	43, 59, 71, 87, 102, 118, 129, 145, 161, 162, 205
<i>total</i>		<b>3,09</b>	
2,3,4-Me <sub>3</sub> -Xyl	19,0	Xylp-(1→	43, 58, 59, 87, 88, 101, 102, 117, 118, 161, 162
2,4-Me <sub>2</sub> -Xyl	21,8	→3)-Xylp-(1→	43, 58, 59, 87, 101, 117, 118, 129, 173, 174, 233, 234
2,3-Me <sub>2</sub> -Xyl	12,5	→4)-Xylp-(1→	43, 87, 99, 101, 102, 118, 129, 162, 189
2-Me-Xyl	10,6	→3,4)-Xylp-(1→	43, 85, 87, 99, 118, 201, 261
3-Me-Xyl	13,8	→2,4)-Xylp-(1→	43, 57, 71, 87, 88, 129, 130, 189, 190
<i>total</i>		<b>77,8</b>	

Les analyses ont été réalisées en duplicata (écart-type < 5%).

<sup>(a)</sup> Acétates d'alditols partiellement méthylés. 2,3-Me<sub>2</sub>-Xyl = 2,3-di-*O*-méthylxylitolacétate, etc.

<sup>(b)</sup> % des aires de pics, relatif à l'aire total mesuré en CPG/SM.

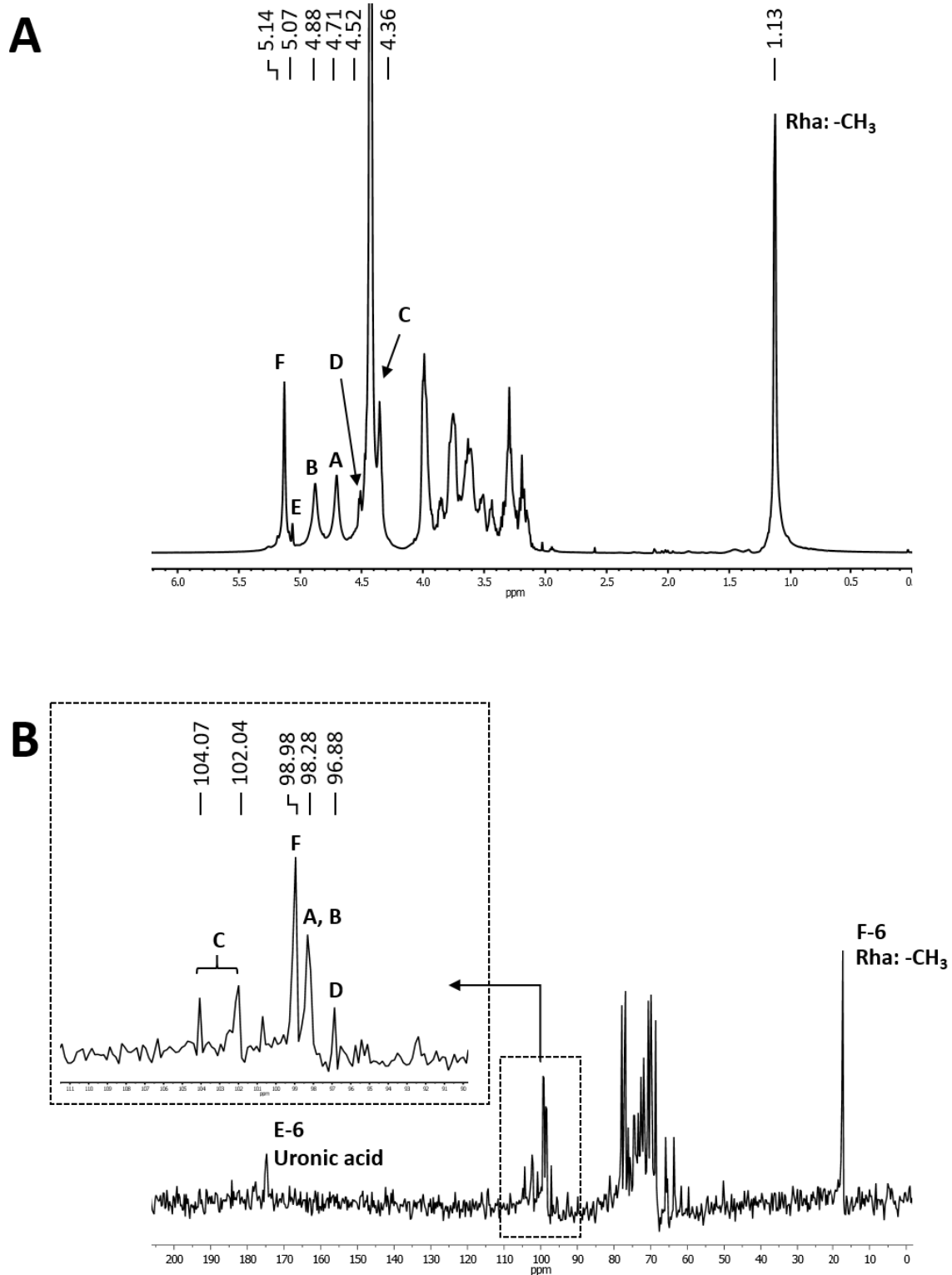
<sup>(c)</sup> Basées sur les dérivés d'AAPM obtenus.

<sup>(d)</sup> Fragment issu des unités GalpA.

Les résultats montrent que PSPN est un hétéroxylane composé d'une chaîne principale de  $\beta$ -(1,3)- et  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp, qui pourrait probablement être ramifiée en positions O-2 et O-3 par diverses chaînes latérales et des monosaccharides terminaux, *i.e.*  $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Xylp, T-Xylp or T-Araf. Notons également que le rapport des unités D-Xylp $\beta$ -(1,3)/ $\beta$ -(1,4)-liées (ou ramifiées) est proche de 1 : 1,7. La présence de résidus T-GalpA et 1,2-Rhap pourrait correspondre à des chaînes latérales  $\alpha$ -D-GalpA-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ ), potentiellement branchées en O-2 des unités  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp. Ces résultats sont conformes à la littérature, comme par exemple la structure élucidée pour le mucilage des graines de *Plantago major* (Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b), décrit comme un hétéroxylane acide constitué d'un squelette  $\beta$ -D-Xylp ramifié par des courtes chaînes latérales substituées en positions O-2 ou O-3. Dans cette étude, les chaînes latérales se composent de résidus  $\beta$ -D-Xylp et  $\alpha$ -L-Araf ainsi que de chaînes de  $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Xylp. Un mucilage hydrosoluble isolé de *Plantago ovata* (Ispaghula-husk) était également composé d'une chaîne principale de  $\beta$ -D-Xylp liés en (1,3) et (1,4), et substituées par des 2-O-( $\alpha$ -D-GalpA)- $\alpha$ -L-Rha (Sandhu, Hudson et Kennedy, 1981).

#### 4.2.3.2 Analyse par RMN

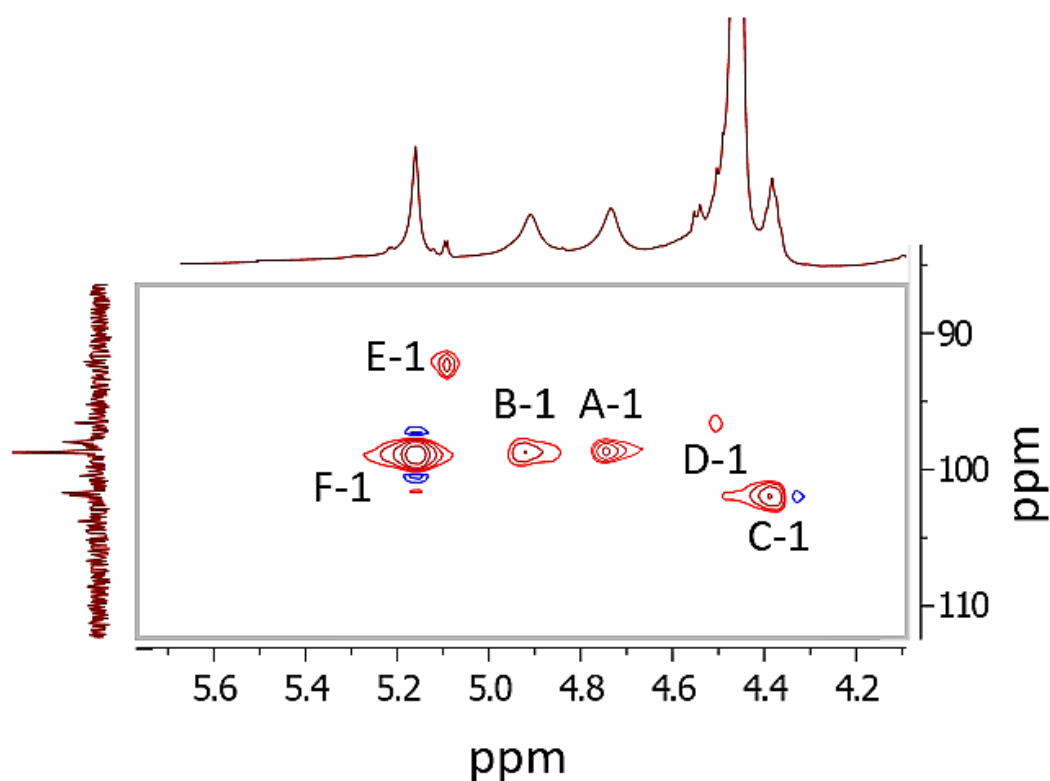
PSPN a également été analysé par spectroscopie RMN afin de confirmer et/ou affiner les attributions et caractérisations proposées par CPG/SM-IE (AAPM). Les spectres 1D et 2D montrent des signaux caractéristiques des polysaccharides. L'analyse par RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de la fraction PSPN a été effectuée à 60 °C pour déterminer la structure de PSPN. En raison de la forte viscosité de la solution de PSPN, une hydrolyse acide partielle (PSPN-PA) ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  (20% v/v), 30 min, 50 °C) a été effectuée pour augmenter sa solubilité dans le  $\text{D}_2\text{O}$  et améliorer la qualité des spectres RMN. Comme décrit dans la littérature, cette hydrolyse facilite également l'identification de la chaîne principale de xylane en éliminant certaines substitutions, telles que des résidus terminaux d'acides uroniques ou d'arabinose par exemple (Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b). Les spectres RMN  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  ont révélé des signaux complexes caractéristiques de polysaccharides possédant différents motifs de substitutions (**Figure 51**).



**Figure 51.** Spectres (A)<sup>1</sup>H et (B)<sup>13</sup>C d'une fraction PSPN-PA (partiellement hydrolysée). L'analyse a été menée à 100 g/L dans du D<sub>2</sub>O à 60 °C. Les résidus A, B, C, D, E et F correspondent respectivement à  $\beta$ -D-Xylp liés en (1,4),  $\beta$ -D-Xylp liés en (1,3),  $\beta$ -D-Xylp branchés en (1,4) et/ou (1,3), T- $\beta$ -D-Xylp, T- $\alpha$ -D-GalpA et  $\alpha$ -L-Rhap liés en (1,2).

Certaines affections ont été faites en comparant les résultats avec des spectres décrits dans la littérature, à savoir (i) d'un hétéroxylane de *Plantago major* L. composé d'une chaîne principale de (1→3)-β-D-Xylp et (1→4)-β-D-Xylp avec des courtes chaînes en positions O-2 et O-3 de β-D-Xylp, α-L-Araf, α-L-Araf- (1 → 3) β-D-Xylp (Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b); (ii) d'un hétéroxylane hautement ramifié de *Plantago asiatica* L. composé d'un squelette de (1→4)-β-D-Xylp avec des chaînes courtes similaires (Yin et al., 2012a); (iii) d'un arabinoxylane isolé à partir d'un endosperme de blé présentant un squelette de type (1→4)-β-D-Xylp avec un seul résidu terminal de L-Araf en positions O-2 et O-3 (Hoffman et al., 1992); (iv) d'un mélange de résidus de (1→3) et (1→4)-β-D-Xylp de *Palmaria palmata* (Deniaud et al., 2003); (v) d'un xylane de *Leptusarea simplex* contenant des résidus de (1→3) et (1→4)-β-D-Xylp (Adams et al., 1988) et (vi) de polysaccharides (non AX) issus des graines de *Plantago asiatica* L. (Yin et al., 2016a; Yin et al., 2016b). Dans la région anomérique des spectres <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C, des signaux spécifiques de H-1/C-1 provenant des résidus de α-L-Rhap et β-D-Xylp sont identifiés à 5,14/98,98, 4,88/98,28, 4,71/98,15 et 4,52/96,88 ppm et pourraient correspondre respectivement à des résidus →2)-α-L-Rhap-(1→, →3)-β-D-Xylp-(1→, →4)-β-D-Xylp-(1→ et des résidus terminaux β-D-Xylp-(1→ ramifiés en positions O-3 du squelette principal (Adams et al., 1988 ; Hoffman et al., 1992 ; Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b ; Deniaud et al., 2003). La zone 3,4-4,8 ppm (FIG 51A) a été identifiée comme la région de l'accumulation de protons correspondant à des résidus β-D-Xylp branchés en (1,3,4). Le signal à 4,36 ppm pourrait correspondre aux protons anomères (H-1) des résidus ramifiés →4)-β-D-Xylp-(1→ et/ou →3)-β-D-Xylp-(1→ (Yin et al., 2012a ; Yin et al., 2016a; Yin et al., 2016b). La présence de signaux intenses à 1,13 ppm (**Figure 51A**) et 16,93 ppm (**Figure 51B**) a été attribuée aux groupements méthyle des résidus Rha mettant en évidence une possible substitution →2)-Rhap-(1→ du xylane, comme décrit pour des hétéroxylanes extraits de graines de *Plantago ovata* Forsk. (Kennedy et al., 1979). Notons que les signaux correspondant aux résidus Rhap sont intenses mais en accord avec la littérature (Yin et al., 2016a ; Yin et al., 2016b). L'hydrolyse acide partielle pourrait également être impliquée en supprimant les chaînes latérales et les résidus terminaux du squelette principal de Xylp, modifiant la réponse des résidus Rhap en RMN. Les signaux faibles observés à 174,71 ppm (C-6) et 91,88 ppm (C-1) (**Figure 51B**) sont attribuées à la présence de résidus T-α-D-GalpA éventuellement lié aux unités α-L-Rhap en position O-2 (Kennedy et al., 1979 ; Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b).

La ratio molaire de 12,6% et 13,8% pour les acétates de 3,4-di-*O*-méthyl-rhamnitol et 3-*O*-méthyl-xylitol pourraient respectivement suggérer la présence de substitutions sur certains  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp en position *O*-2 par des chaînes latérales de  $\alpha$ -D-GalpA-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ ). Cette hypothèse est en accord avec d'autres rapports dans la littérature (Kennedy et al., 1979 ; Yin et al., 2016a ; Yin et al., 2016b). Les résonances correspondant aux  $\alpha$ -L-Ara provenant des C-3 (77,1 ppm), C-4 (région de 84,5 à 85,0 ppm) et C-5 (62,3 et 61,9 ppm pour les T- $\alpha$ -L-Ara et 1,3- $\alpha$ -L-Ara respectivement) se situent sur les mêmes bandes spectrales que certains signaux des  $\beta$ -D-Xylp (Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b). Aucun signal à 109,2 ppm (**Figure 51B**) n'a été observé pour les signaux anomériques provenant de T-L-Araf attachés aux résidus  $\beta$ -(1,3)- ou  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp de la chaîne principale (Kennedy et al., 1979 ; Samuelsen et al., 1999a ; Samuelsen et al., 1999b ; Yin et al., 2016a ; Yin et al., 2016b). Cette observation est cohérente avec le spectre de corrélation 2D hétéronucléaire (**Figure 52**) car il n'y a pas de résonance ( $^1\text{HNMR}$ ) se produisant dans la région 5,1-5,5 ppm de résidus  $\alpha$ -L-Araf. Ici encore, l'élimination des résidus de  $\alpha$ -L-Araf après une faible hydrolyse acide a été rapportée par Samuelsen et al. (1999a) et Samuelsen et al. (1999b). L'absence d'Araf permet ainsi de conforter les assignations précédentes correspondant aux unités Xylp. Selon la littérature et les résultats obtenus en CPG/SM ([partie 4.2.3.1](#)), PSPN peut être considéré comme un hétéroxylane dont la chaîne principale est composée de (1,3) et (1,4)-Xylp mais aussi de résidus branchés de type (1 $\rightarrow$ 2,4)- et (1 $\rightarrow$ 3,4)-Xylp. Les tailles des blocs peuvent varier et d'autres recherches pourraient être réalisées afin de déterminer précisément leur ratio spécifique (et les motifs de répétition). Les résidus T-Xylp sont probablement liés en position *O*-3 de certaines unités (1,4)-Xylp dans le squelette. C'est aussi le cas pour des chaînes latérales de type  $\alpha$ -D-GalpA-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ ). Les résidus Araf sont quant à eux probablement liés aux positions *O*-2 et *O*-3 comme indiqué dans la littérature.



**Figure 52.** Spectre de corrélation hétéronucléaire (région anomérique)  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  (HSQC) de PSPN-PA. L'analyse a été menée à 100 g/L dans du  $\text{D}_2\text{O}$  à 60 °C. Les résidus **A**, **B**, **C**, **D**, **E** et **F** correspondent respectivement à  $\beta\text{-D-Xylp}$  liés en (1,4),  $\beta\text{-D-Xylp}$  liés en (1,3),  $\beta\text{-D-Xylp}$  branchés en (1,4) et/ou (1,3), T- $\beta\text{-D-Xylp}$ , T- $\alpha\text{-D-GalpA}$  et  $\alpha\text{-L-Rhap}$  liés en (1,2).

### 4.3 Etude des caractères physico-chimiques et rhéologiques de PSPN

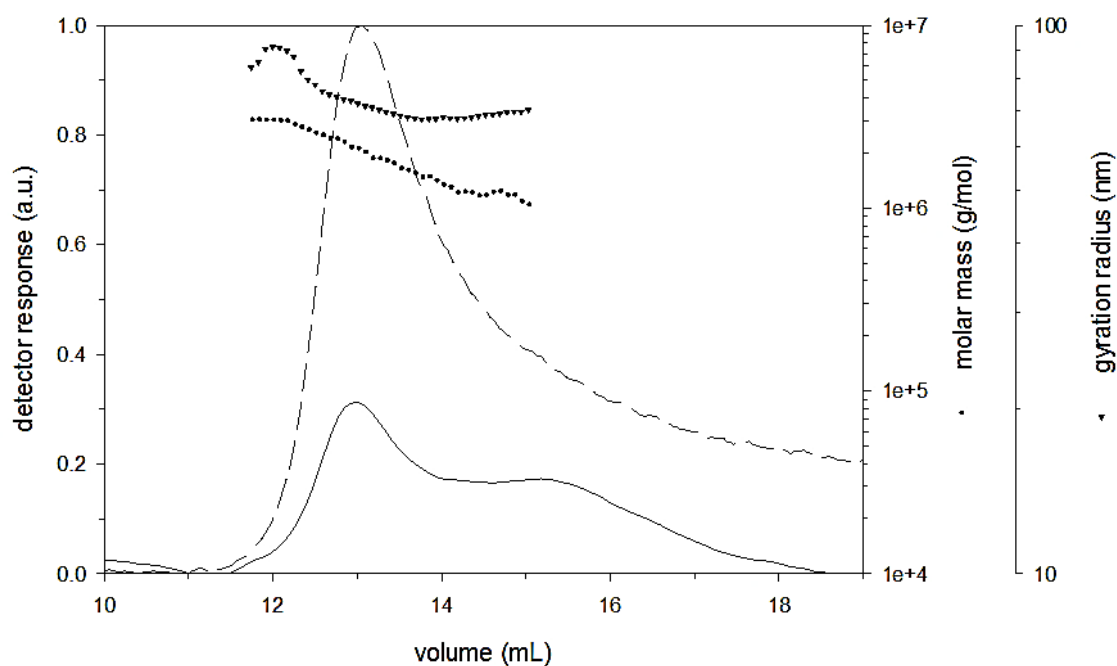
Ce sous chapitre a pour objectif la détermination des propriétés physico-chimique de PSPN en régime dilué et semi dilué afin d'une part d'évaluer ses potentialités comme texturant et d'autre part de le comparer aux autres polysaccharides de structures analogues. Dans un premier temps, les caractéristiques physico-chimiques de ce biopolymère ont été déterminées en régime dilué en utilisant la chromatographie d'exclusion stérique haute performance (CESHP) associée à la réfractométrie différentielle, à la diffusion de la lumière et à la mesure de viscosité en ligne (détecteurs). Comme explicité en [partie 3.6.1](#), la CES permet de séparer les macromolécules en fonction de leur encombrement stérique et d'éliminer les molécules de faibles masses molaires telles que les sels.

Les composés de plus grande masse molaire sont élués en premier. La diffusion de la lumière MALLS (Multi Angle Laser Light Scattering) réalise une mesure simultanée de lumière diffusée à 18 angles. Associée à la réfractométrie différentielle, elle permet d'accéder aux masses molaires moyennes en nombre et en poids (respectivement  $M_n$  et  $M_w$ ) et renseigne également sur l'indice de polydispersité, la forme et la dimension des chaînes. L'utilisation d'un viscosimètre en ligne permet également d'accéder à la viscosité intrinsèque du polymère.

Dans un second temps, notre attention s'est portée sur la mesure de la concentration critique de recouvrement, de la viscosité apparente et du temps critique propres à ce polysaccharide en fonction du milieu et de sa concentration. Ces études ont été réalisées par deux types de mesures viscosimétriques : En écoulement, afin de définir le comportement typique du fluide et d'obtenir la viscosité spécifique du système et en oscillation, ce qui permet d'étudier les propriétés viscoélastiques des solutions, caractérisées par les modules de conservation ( $G'$ ) et de perte ( $G''$ ).

#### 4.3.1 Caractérisation physico-chimique de PSPN en régime dilué

Pour cette analyse, PSPN a été solubilisé à une concentration de 0,2g/L dans une solution aqueuse de  $\text{LiNO}_3$  0,1 M pendant 24 h. L'échantillon (100  $\mu\text{L}$ ) a ensuite été injecté en CES après filtration sur 0,45  $\mu\text{m}$  (partie 3.6.1). L'élution est réalisée par une solution de  $\text{LiNO}_3$  0,1 M à 0,7 mL/min. Les macromolécules éluées sont soumises à un rayonnement incident qui diffuse selon différentes directions en fonction de leur taille et de leur conformation et sont analysées par réfractométrie différentielle (le  $dn/dc$  utilisé était de 0.15 mL/g). Ainsi, on récupère pour chaque fraction une concentration par mesure de la réfractométrie différentielle et l'intensité diffusée aux 18 angles. On obtient différents chromatogrammes et signaux donnant des informations sur les masses molaires en fonction du volume élué. Les chromatogrammes obtenus avec les signaux de diffusion de la lumière à 90 et ceux issus du réfractomètre sont des gaussiennes qui montrent une distribution homogène de l'échantillon. Cette distribution est confirmée par le suivi de la répartition des masses molaires en fonction du volume d'élution (**Figure 53**). Les masses molaires en poids ( $M_w$ ), les masses molaires moyennes en nombres ( $M_n$ ) et la viscosité intrinsèque ont été déterminées. Le **Tableau 19** donne les résultats obtenus.



**Figure 53.** Distributions des masses molaires(●) et des rayons de giration (▲)versus le volume d'élution de PSPN. (—) : signal DRI, (- - -) : signal de diffusion de la lumière à 90°, dans 0,1 mol/L d'une solution aqueuse de LiNO<sub>3</sub>.

**Tableau 19.** Propriétés physico-chimiques de PSPN.

<b>M<sub>n</sub><sup>(a)</sup> (g/mol)</b>	<b>M<sub>w</sub><sup>(b)</sup> (g/mol)</b>	<b>IP<sup>(c)</sup></b>	<b>R<sub>g</sub><sup>(d)</sup> (nm)</b>	<b>[η]<sup>(f)</sup> (mL/g)</b>
2,0 x 10 <sup>6</sup>	2,3 x 10 <sup>6</sup>	1,15	86	715

<sup>(a)</sup> M<sub>n</sub> : Masse molaire mesurée par SEC-MALLS

<sup>(b)</sup> M<sub>w</sub> : Masse molaire moyenne en nombre mesurée par SEC-MALLS

<sup>(c)</sup> IP : Indice de polydispersité Mw/Mn,

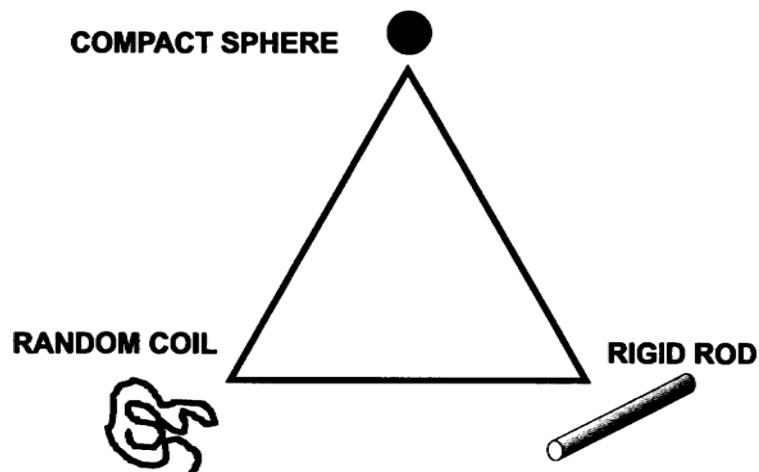
<sup>(d)</sup> R<sub>g</sub> : Rayon de giration mesuré par SEC-MALLS

<sup>(f)</sup> [η] : viscosité intrinsèque mesurée par SEC-MALLS

La fraction PSPN est caractérisée par des valeurs de M<sub>n</sub> de 2,0 x 10<sup>6</sup> Da et de M<sub>w</sub> proche de 2,3 x 10<sup>6</sup> Da. Ces valeurs ne représentent que 30% de la masse initiale de l'échantillon avant filtration et ne sont donc pas totalement représentatives du polymère natif.

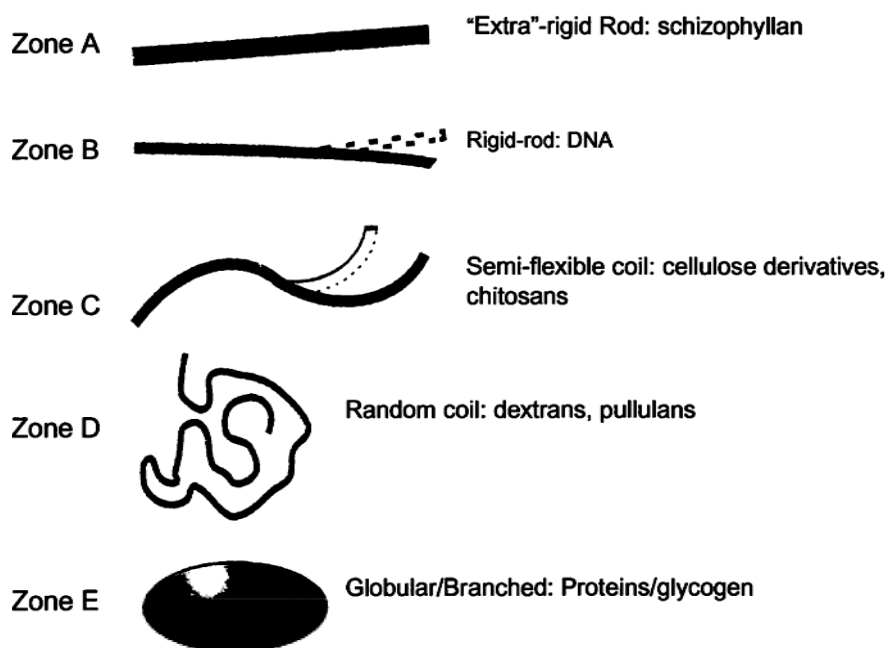


Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles reportées dans la littérature pour d'autres polysaccharides hydro-solubles de *Plantaginaceae* tels que des arabinoxylyanes ( $M_w = 2,2 \times 10^6$  Da) extraits de *Plantago ovata* (Ispaghula husk) (Edwards et al., 2003) ou du mucilage ( $M_w = 1,2 \times 10^6$  Da) des graines de *Plantago major* (Behbahani et al., 2017). La faible polydispersité de la fraction PSPN ( $M_w/M_n = 1,15$ ) est synonyme d'une gamme étroite de distribution de masse et confirme la présence d'un polysaccharide homogène (Nwokocha et Williams, 2016). Les paramètres physico-chimiques des polysaccharides ( $M_w$ ,  $M_n$ ,  $R_g$ ,  $R_h$ , etc.) vont définir leurs comportements en solution. La relation du triangle de Haug illustre d'ailleurs parfaitement les trois conformations extrêmes que peuvent adopter des polysaccharides en solution, *i.e.* en (i) bâtonnet rigide, (ii) pelote Gaussienne ou (iii) sphère solide (**Figure 54**).



**Figure 54.** Triangle de Haug où les trois conformations extrêmes des polysaccharides en solution sont placées aux sommets du triangle. La conformation des polymères sera fonction des paramètres physico-chimiques de ces derniers ( $M_w$ ,  $M_n$ ,  $R_g$ ,  $R_h$ , etc.) (Smidsrød et Andresen, 1979).

Pavlov et al. (1997) et Pavlov et al. (1999) ont par ailleurs suggéré cinq conformations (ou « zones ») générales à partir du triangle de Haug, nommées : (A) bâtonnet extra-rigide, (B) bâtonnet rigide, (C) pelote semi-flexible, (D) pelote Gaussienne et (E) sphère solide/globulaire.



**Figure 55.** Zone de conformation des polysaccharides en solution (Pavlov et al., 1997 ; Pavlov et al., 1999 ; adaptée par Ebrinerová et al., 2005).

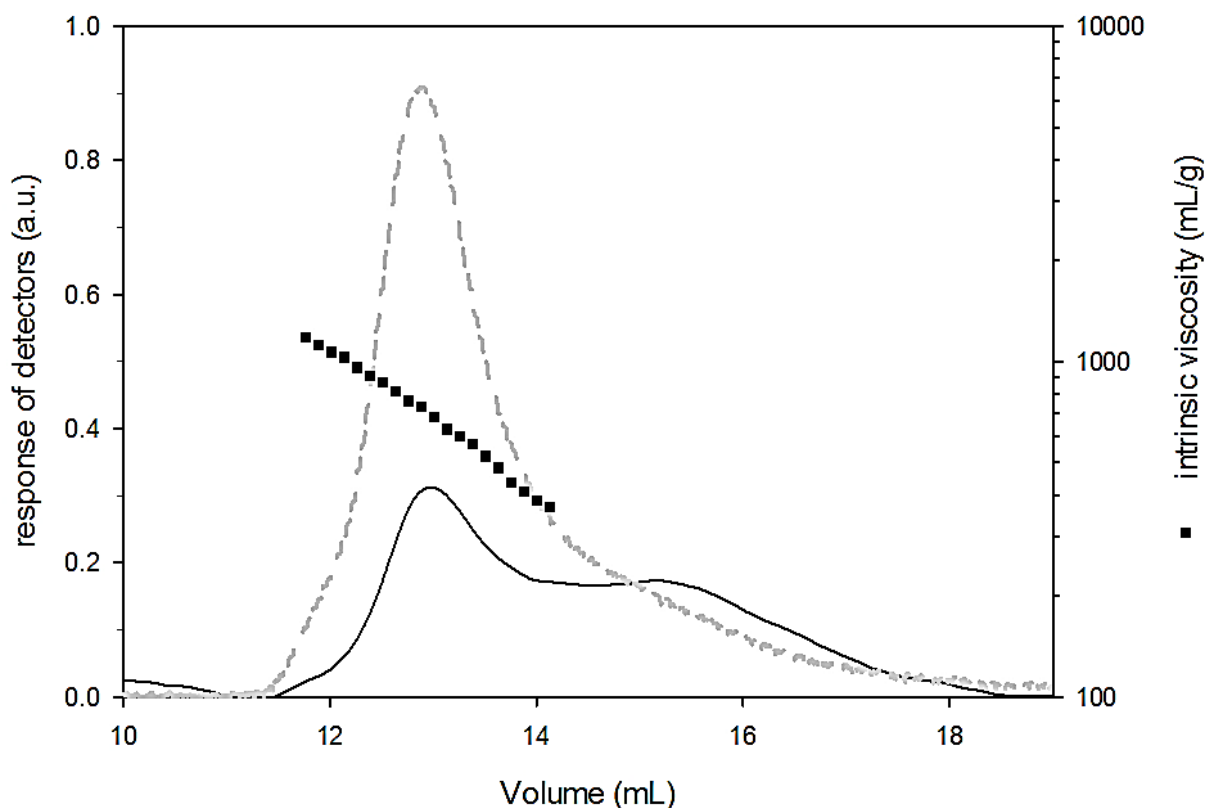
Le rayon de giration,  $R_g(z)$  de 86 nm pour une masse molaire ( $M_w$ ) élevée indique que le polysaccharide adopte une conformation compacte dans l'eau. La détermination de l'évolution de  $R_g$  en fonction de  $M_w$  en échelles logarithmiques peut être utilisée pour estimer la conformation des macromolécules en solution (Wyatt, 1993). Cette relation correspond graphiquement à une droite en échelle log dont la pente est (i) proche de 1 pour une conformation en bâtonnet rigide, (ii) entre 0,5 et 0,6 pour une conformation de type pelote Gaussienne et (iii) de 0,33 pour une sphère solide (Schittenhelm & Kulicke, 2000 ; Hwang et al., 2003). Cette courbe appliquée aux données obtenues pour la fraction PSPN est caractérisée par une pente d'environ 0,30. L'hétéroxylane extrait peut donc s'apparenter à une structure de type sphère solide lorsqu'il est en solution dans l'eau, confirmant sa structure compacte.

La mesure de la viscosité intrinsèque  $[\eta]$  qui correspond, pour les polymères neutres à l'extrapolation à dilution infinie de l'équation de Flory-Huggins (**Équation 16**) est une méthode de référence pour obtenir des renseignements sur l'état d'expansion d'une chaîne macromoléculaire.

**Équation 16.** 
$$\eta_r d \frac{\eta_{sp}}{C_p} [\eta] k_H [\eta] C \dots$$

Où  $C_p$  : concentration en polymère et  $\eta_{sp}$  : viscosité spécifique de la solution.

Elle rend compte du volume hydrodynamique occupé par une macromolécule dans le solvant considéré. La perturbation globale mesurée par  $\eta$  est la somme des perturbations de chaque molécule que l'on considère indépendante. En régime dilué, les interactions sont en effet négligeables. La viscosité intrinsèque décrit donc la capacité des polymères à modifier la viscosité des fluides en fonction de propriétés physico-chimiques telles que la masse molaire, la conformation des chaînes et la nature du solvant (Kalegowda et al., 2017).



**Figure 56.** Distribution des viscosités intrinsèques (■) versus le volume d'élution de PSPN. (—) : signal DRI, (- - -) : signal de diffusion de la lumière à 90°, dans 0,1 mol/L d'une solution aqueuse de  $\text{LiNO}_3$ .

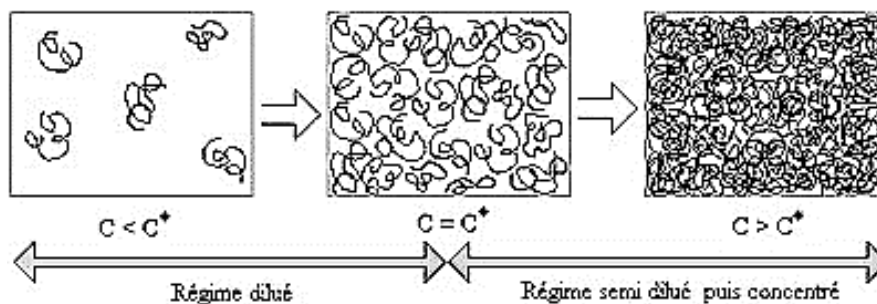
La viscosité intrinsèque de PSPN (715 mL/g) est dans la gamme de celles observées chez les mucilages extraits à partir des graines de *Plantago major* (Behbahani et al., 2017) ou de l'arabinoxylane de *P. ovata* (Yu et al., 2017) avec des valeurs de 1424 et 560 mL/g respectivement.

### 4.3.2 Caractérisation rhéologique de PSPN en régime semi-dilué

L'étude en régime semi dilué a pour but d'étudier les propriétés d'écoulement de PSPN afin d'une part, d'évaluer ses potentialités comme agent texturant et d'autre part de le comparer à d'autres hétéroxylyanes.

#### 4.3.2.1 Détermination de la concentration critique de recouvrement $C^*$

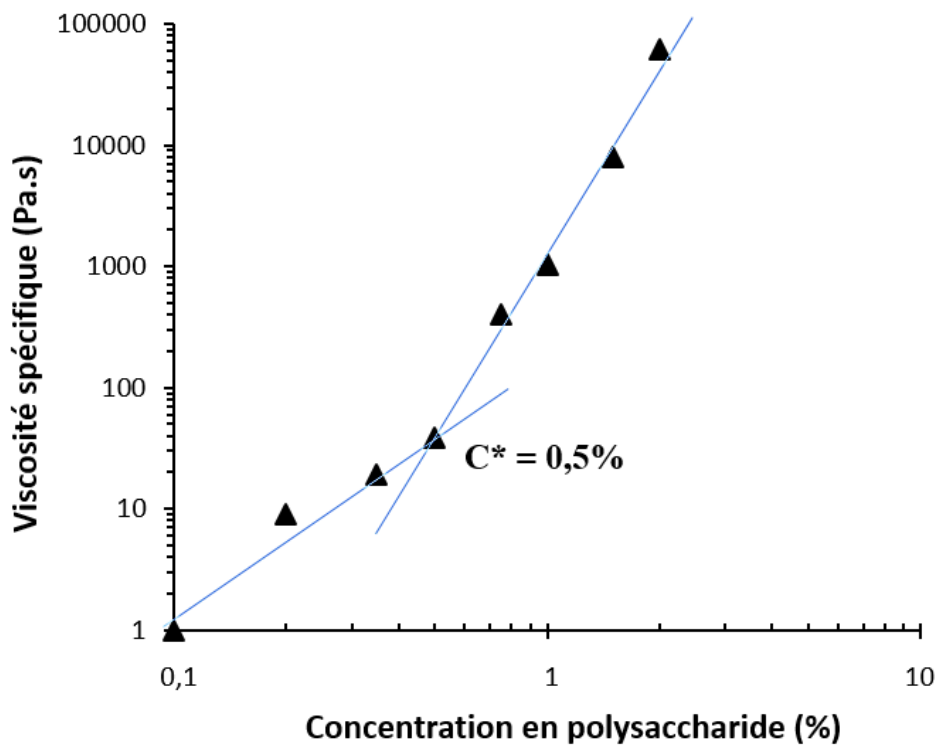
La concentration critique de recouvrement ( $C^*$ ) représente la limite entre le régime dilué et le régime semi-dilué. C'est en fait une plage de concentration de transition entre les deux régimes. Les viscosités spécifiques de solutions de PSPN (entre 0,5 et 2 % (m/v)) ont été mesurées pour évaluer 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  $C^*$ , concentration seuil qui est la signature du début de l'enchevêtrement des macromolécules (**Figure 57**).



**Figure 57.** Représentation des chaînes de polymères en régimes dilué et semi-dilué (source personnelle).

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'espace est occupé par les volumes hydrodynamiques des polysaccharides. La concentration critique de recouvrement ( $C^*$ ) de PSPN de *P. notata* L. dans l'eau à 25 °C a été calculée à 5g/L (**Figure 58**).

Pour une large gamme de polysaccharides, la viscosité spécifique à taux de cisaillement nulle est linéairement liée à  $C[\eta]$  et aux pentes des deux segments linéaires (au-dessous et au-dessus de la valeur de  $C^*$ , qui peuvent être définies par  $(4/[\eta])$  à 1,4 et 3,3 respectivement (Castelain et al., 1987). Dans ce travail, les deux pentes sont respectivement de 1,32 et 3,08 et la valeur théorique  $C^*$  calculée de 5,59 g/L, ce qui est proche de la valeur expérimentale de 5 g/L.

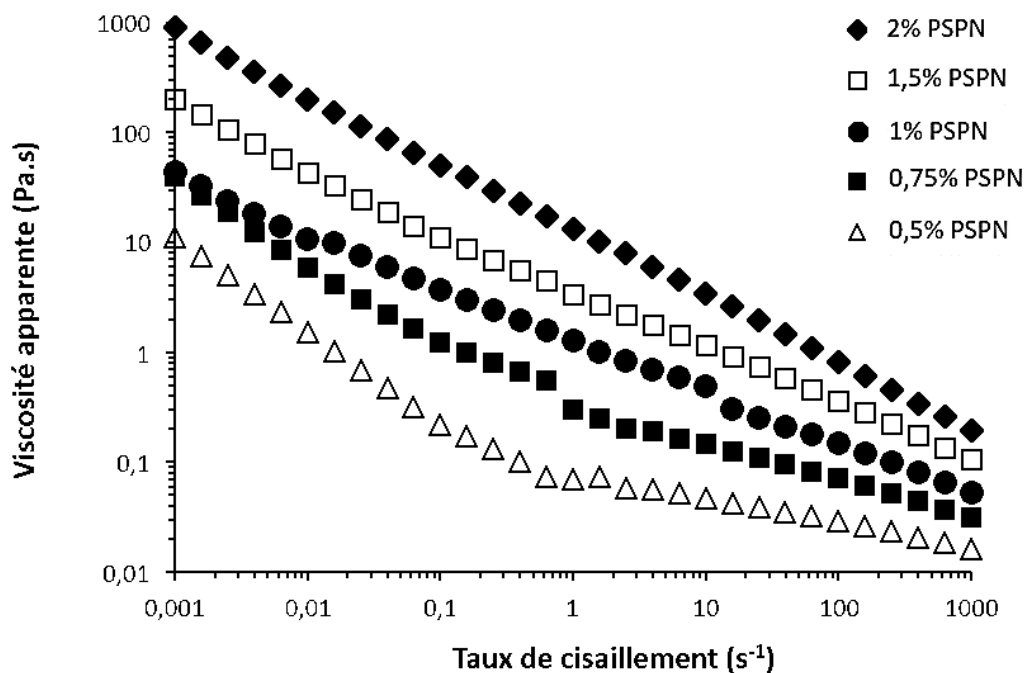


**Figure 58.** Détermination de la concentration critique de recouvrement  $C^*$  d'une solution aqueuse de PSPN à 25°C.

#### 4.3.2.2 Mesure en écoulement

La rhéologie est l'étude des comportements des matériaux soumis à des sollicitations mécaniques telles que le cisaillement ou l'élongation (Warrand, 2004 ; Vu, 2010). 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 (Cappelaere, 1996). En règle générale, les solutions de polysaccharides naturels voient leur viscosité diminuer lorsque le cisaillement augmente.

Ce phénomène propre aux fluides rhéofluidifiants peut être attribué à l'alignement des chaînes de hautes masses moléculaires disposées de façon aléatoire dans la solution avant l'application d'un cisaillement. Ces chaînes interagissent les unes avec les autres dans le milieu aqueux. En plus de la concentration, d'autres facteurs influent sur les propriétés d'écoulement des solutions de biopolymères, tels que la masse molaire, le degré de ramification, les charges électrostatiques et la température (Cappelaere, 1996). Le comportement rhéologique de PSPN a été étudié à différentes concentrations (0,5%, 0,75%, 1%, 1,5% et 2% (m/v)) à 25°C dans une gamme de taux de cisaillement allant de 0,001 à 1000 s<sup>-1</sup> et lors d'un balayage en gradient de cisaillement aller simple (*Figure 59*).



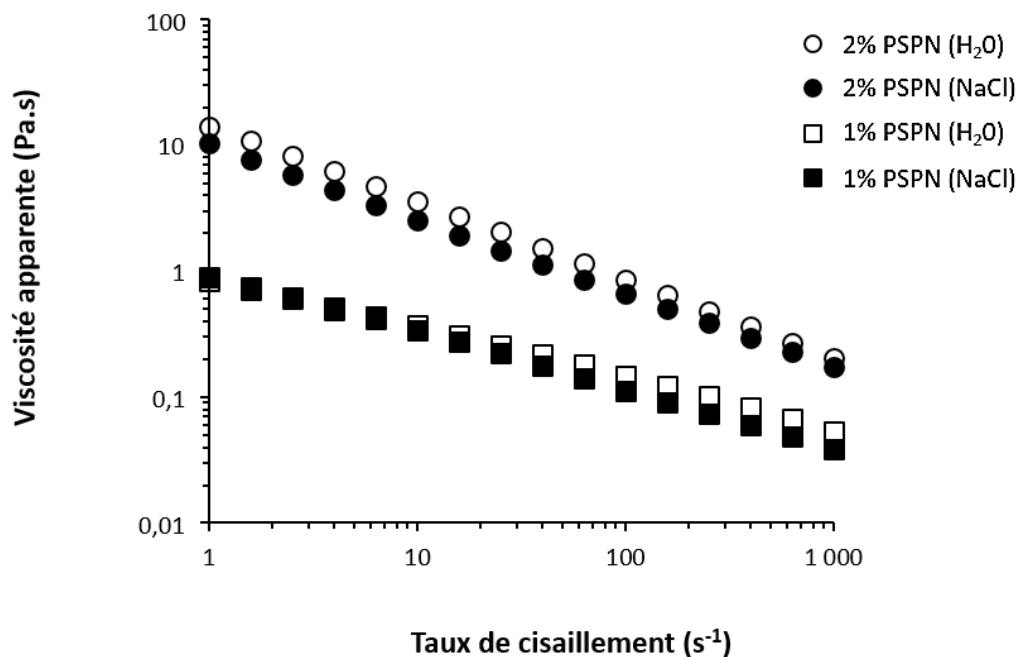
**Figure 59.** Variation de la viscosité apparente (Pa.s) de solutions de PSPN de (0,5 à 2 % (m/v)) en fonction de taux de cisaillement (s<sup>-1</sup>) à 25°C. (◆), (□), (●), (■) et (△) correspondent respectivement à 2%, 1,5%, 1%, 0,75% et 0,5% (m/v) de PSPN en solution dans l'eau.

Les différentes solutions de PSPN présentent un comportement non Newtonien quels que soient les concentrations testées. Pour toutes les concentrations testées la viscosité apparente diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement.

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 et cette propriété d'écoulement est conforme aux résultats précédents obtenus pour d'autres arabinoxylanes et/ou hétéroxylanes extraits d'autres espèces de *Plantago* (Farahnaky et al., 2010; Yin et al., 2016a).

#### 4.3.2.3 Evaluation de l'effet force ionique sur la viscosité des solutions

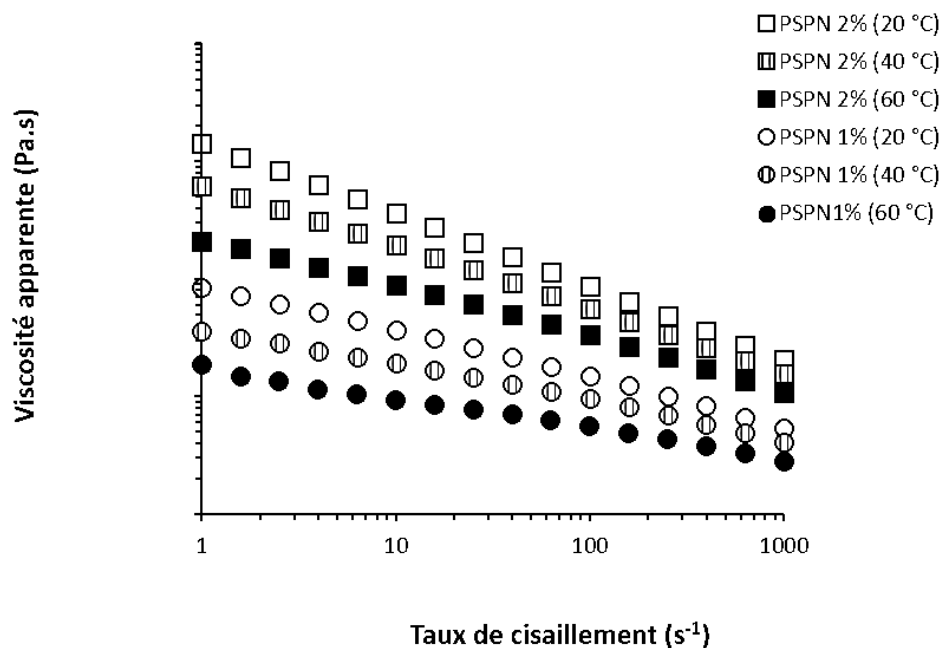
L'effet des ions sur la viscosité des polysaccharides est important surtout lorsqu'ils présentent un caractère poly-électrolytique. L'effet des sels sur les propriétés rhéologiques est important car en contre-ionisant les charges des polysaccharides, ils vont diminuer les phénomènes de répulsions électrostatiques, ce qui se traduit par une modification du comportement rhéologique (Peters, 2016). La **Figure 60** montre la viscosité des solutions de PSPN à des concentrations de 1% et 2% (m/v) en présence et en absence de NaCl 0,5M. Comme attendu du fait du caractère neutre de l'hétéroxylane, le NaCl n'a aucun effet sur la viscosité apparente des solutions (Marcotte et al., 2001).



**Figure 60.** Effet de la force ionique sur la viscosité apparente de solutions de PSPN à 25°C. (○) et (□) correspondent à des concentrations de PSPN en solution aqueuse de 2% et 1% (m/v) ; (●) et (■) correspondent à des concentrations de PSPN en solution saline (0,5 M NaCl) de 2 et 1%.

#### 4.3.2.4 Evaluation de l'effet température sur la viscosité des solutions

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'augmentation de la température de la solution. 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 intra-chaînes 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 61** représente l'effet de la température sur la viscosité de solutions de polysaccharides à 1% et 2% à 20 °C, 40 °C et 60 °C. Logiquement, la viscosité apparente diminue avec l'augmentation de la température. La contribution de la chaleur permet de générer de l'énergie, en plus de l'agitation thermique, ce qui réduit les interactions entre les molécules, telles que celles associées à des liaisons faibles (liaisons hydrogène, interactions électrostatiques, forces de Van Der Waals).

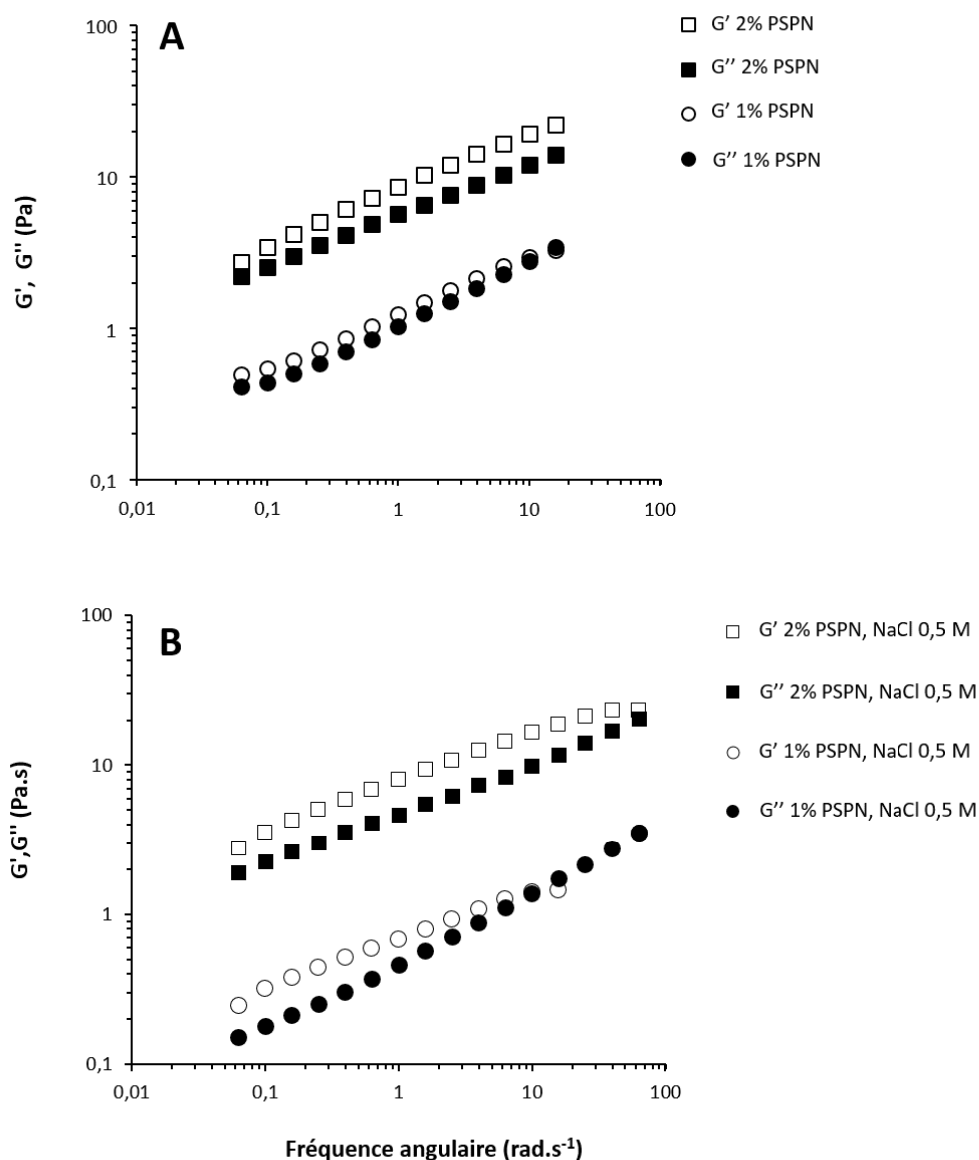


**Figure 61.** Effet de la température sur la viscosité apparente de solutions de PSPN. (□), (▨), (■) et (○), (⊙), (●) correspondent respectivement à des concentrations de PSPN en solution aqueuse de 2% (carré) et 1% (rond) à des températures de 20, 40 et 60°C.



#### 4.3.2.5 Comportement viscoélastique de PSPN

Des analyses en mode oscillatoire ont été réalisées sur des solutions de PSPN à 1 et 2 % (m/v) dans l'eau et dans des solutions salines (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 un rhéomètre à géométrie plan/plan (partie 3.6.2). Elles ont permis de caractériser le comportement viscoélastique des solutions de PSPN 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 0,01 à 100  $\text{rad.s}^{-1}$  (ou de la pulsation) sont présentées en **Figure 62**. Les valeurs du module élastique ( $G'$ ) sont supérieures à celles de module de viscosité ( $G''$ ) pendant toute la gamme des fréquences, avec une faible déformation. En outre, l'écart entre le module de conservation  $G'$  et le module de perte  $G''$  est stable, notamment pour la concentration de 2% qui peut être ensuite considérée comme un polysaccharide avec des propriétés de gel faible. L'augmentation de l'écart entre  $G'$  et  $G''$  pour la concentration de 2% par rapport à la concentration de 1% et pour toutes les fréquences a suggéré une contribution élastique plus élevée à la structure du gel (Chen et al., 2014b). Ces résultats ont clairement montré une faible viscoélasticité de cet hétéroxylane qui forme des gels faibles dans l'eau. Une fois encore, on n'observe pas d'effets significatifs des sels. Ces résultats sont cohérents avec ceux décrits dans la littérature (Al-Assaf et al., 2003 ; Fischer et al., 2004 ; Farahnaky et al., 2010) qui ont montré que pour toutes les concentrations utilisées de mucilage de *P. ovata*,  $G'$  est toujours supérieur à  $G''$ . Ce phénomène montre que ce mucilage présente principalement des propriétés élastiques. Les propriétés fonctionnelles maximales ont été observées pour les pH de 4 et 7. Les polysaccharides alcali-solubles isolés à partir des graines de *P. ovata* ont également été décrits comme ayant des propriétés de gel faible (Yu et al., 2017).



**Figure 62.** Représentation des modules complexes  $G''$  et  $G'''$  (Pa.s) en fonction de la déformation (%) des solutions aqueuses de polysaccharide à 1 % et 2 % (m/v). **(A)** dans l'eau et **(B)** dans du NaCl 0,5 M.

#### 4.4 Etude des activités biologiques

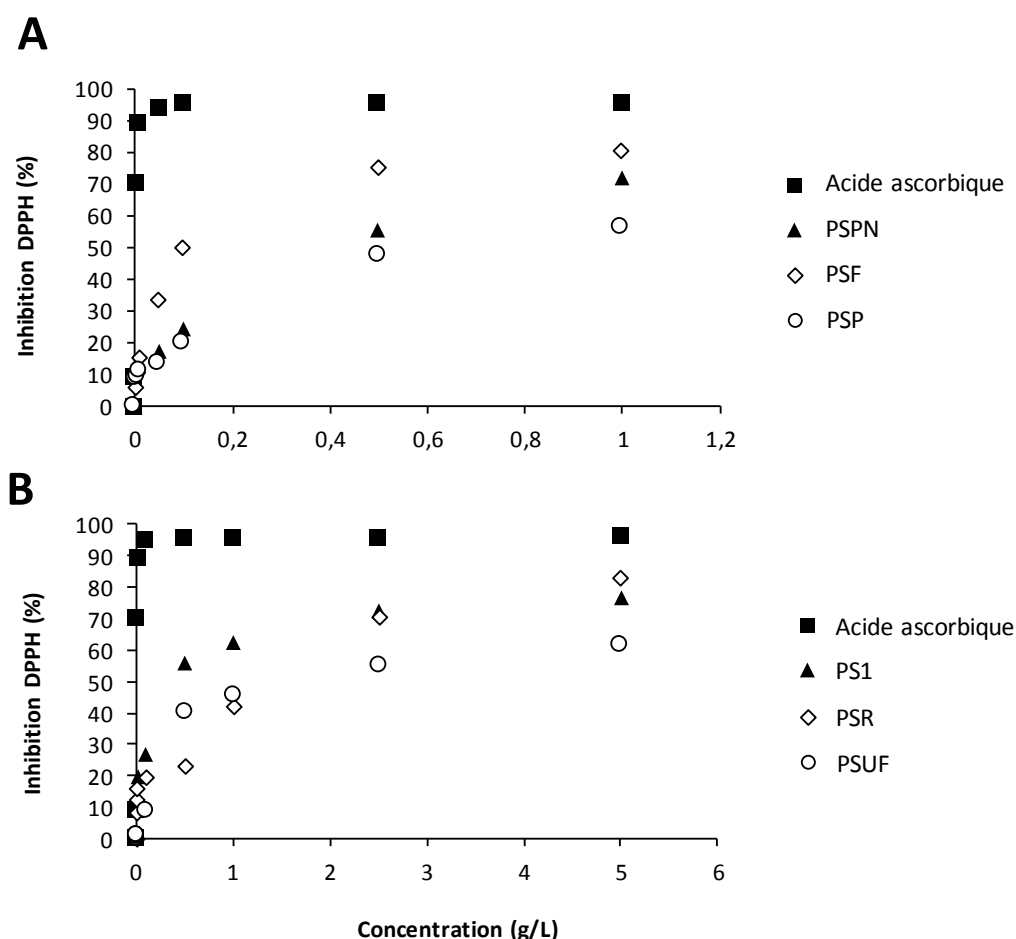
Les xylanes présentent une large gamme d'activités biologiques (da Silva et al., 2012 ; Kumar et al., 2016 ; Meng et al., 2017). Ils sont connus pour leurs activités anti-oxydantes (Wang et al., 2017a), immuno-modulatrices (Shen et al., 2017), antitumorales (Liu et al., 2017b), antidiabétiques (Guo et al., 2017), anticoagulantes (Muschin et al., 2016), prébiotiques (Singdevsachan et al., 2016) ou encore hépatoprotectrices (Zhou et al., 2017).

Quelques activités biologiques ont été étudiées au cours de ces travaux afin d'identifier les activités biologiques potentielles de PSPN. Les batteries de tests réalisés ont parfois été réalisés sur d'autres fractions extraites de *P. notata* mais aussi d'*U. noctiflora*. De manière générale, il s'agissait ici d'une première investigation, dont l'objectif principal était d'allumer certaines activités biologiques sans aller jusqu'à la compréhension des mécanismes mis en jeu, dont certains sont d'ailleurs très bien décrits dans la littérature, comme c'est le cas pour les propriétés prébiotiques des XOS et xylanes (partie 2.3.2.1.2).

#### 4.4.1 Activité anti-oxydante

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les radicaux libres sont produits en continu au cours du métabolisme. Ces radicaux libres sont, lorsque les systèmes de défense antioxydants sont insuffisants, à l'origine d'un état de stress oxydatif conduisant à diverses maladies dégénératives. En conséquence, l'utilisation de composés antioxydants naturels peut prévenir les troubles du stress oxydatif (Fakhfakh et al., 2017). Le DPPH ou 2,2-diphényl-1-picryl(hydrazyl) est un radical stable qui peut être utilisé pour évaluer le pouvoir de réductions des radicaux libres par des antioxydants. En effet Le DPPH absorbe à 517 nm et cette absorbance diminuera proportionnellement à la présence de substances oxydantes, excepté en présence d'antioxydants qui le maintiennent dans un état réduit (Han et al., 2016). Le pouvoir antioxydant de certains extraits de *P. notata* et d'*U. noctiflora* ainsi été évalué par le dosage du pourcentage d'inhibition de l'oxydation du DPPH (**Figure 63**). Les extraits de feuilles (PSF), de graines (PSPNE) et des épis (PSP) de *P. notata* ont été préparés à une concentration de 1g/L dans l'eau ultrapure et les extraits des bulbes (PS1), des feuilles (PSUF) et des racines (PSR) d'*Urginea* ont été préparés à une concentration de 5g/L. Par la suite des séries de dilutions ont été effectuées (partie 3.7.1). Les solutions d'acide ascorbique ont été préparées dans l'éthanol. Les résultats observés sur la **Figure 63** montrent que les extraits des deux plantes investies présentent des activités antioxydantes vis à vis des radicaux DPPH. Elles restent cependant nettement inférieures à celle de l'acide ascorbique utilisé comme témoin. Pour *P. notata*, les extraits de feuilles (PSF), de graines (PSPNE) et d'épis (PSP) présentent des concentrations inhibitrices (CI<sub>50</sub>) de respectivement 100, 410 et 480 µg/mL. Les extraits de bulbes (PS1), des racines (PSR) et des feuilles (PSUF) d'*U. noctiflora* présentent des CI<sub>50</sub> de 400, 1350 et 1600 µg/mL respectivement. Ces concentrations inhibitrices semblent faibles en comparaison avec la concentration CI<sub>50</sub> de l'acide ascorbique qui est de 3,5 µg/mL. L'extrait des feuilles de *P. notata* qui présente une concentration inhibitrice de 100 µg/mL est le plus antioxydant vis-à-vis du DPPH.

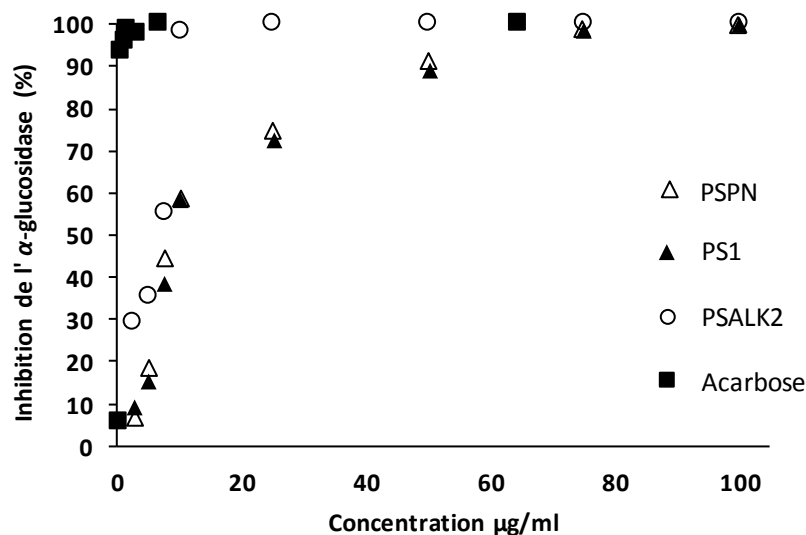
A une concentration de 1g/L, les extraits de feuilles, graines et épis de *P. notata* présentent des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 80,26%, 72,16% et 56,58%. Les polysaccharides de graines de *P. asiatica* L. ont été décrits comme ayant une activité antioxydante significative avec des taux d'inhibition de l'oxydation du DPPH de l'ordre de 81,4% à une concentration de 0,75 mg/ml. Ce taux est semblable à celui de l'acide ascorbique qui est de 81,5% pour une concentration de 0,75 mg/mL (Ye et al., 2011). Han et al. (2016) ont montré par ailleurs que le polysaccharide isolé des graines de *P. depressa* présente un pouvoir d'inhibition du DPPH de 61,5% à une concentration de 1 g/L. L'ensemble de ces résultats issus de la littérature doit cependant être analysé avec prudence faute d'information sur les degrés de pureté des polysaccharides obtenus qui peuvent renfermer des composés antioxydants tels que des composés phénoliques.



**Figure 63.** Activités anti-radicalaires (radical DPPH) des différents extraits (A) de *Plantago notata* L. et (B) d'*Urginea noctiflora* Batt. et Trab. L'acide ascorbique sert de référence. La description des fractions est donnée en Tableau 11 : PSPN (graines), PSF (feuilles), PSP (épis), PS1 (bulbes), PSR (racines), PSUF (feuilles). Réalisées en triplicats (écart-types < 3 %).

#### 4.4.2 Activité anti-diabétique

Le diabète sucré est une maladie métabolique prévalente et grave caractérisée par une hyperglycémie chronique et un manque absolu ou relatif d'insuline. Elle se classe au quatrième rang dans la prévalence mondiale après les maladies cardiovasculaires, les cancers et les maladies respiratoires chroniques (Wang & Zhu, 2016). L'utilisation de plantes médicinales et de produits phytochimiques pour le traitement du diabète peut être une alternative partielle aux traitements pharmaceutiques qui réduisent de manière transitoire la glycémie (Pan et al., 2017). L'étude de l'effet des polysaccharides sur l'activité de l' $\alpha$ -D-glucosidase est l'une des méthodes pour détecter des composés présentant une activité anti diabétique. Cette enzyme libère du glucose à partir de substrats tels que le maltose, le saccharose, et d'autres oligosaccharides dans l'intestin. Par conséquent, son inhibition permet de ralentir la production et l'absorption de glucose. Les tests anti-diabétiques ont été effectués uniquement sur l'extrait aqueux des bulbes (PS1) d'*Urginea noctiflora*, dont les propriétés médicinales des scilles (famille variée de bulbes à fleurs vivaces) sont reportées pour le traitement du diabète (Marles et Farnsworth, 1995). Les résultats des tests d'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase par PSPN, PS1 et PSALK2 sont présentés en **Figure 64**.



**Figure 64.** Activités anti-diabétiques des extraits des bulbes d'*U. noctiflora* Batt et Trab. (PS1, PSALK2), des graines de *P. notata* Lagasca (PSPN) et de l'acarbose (témoin positif). Réalisées en triplicats (écarts-types < 3 %).

PS1 présente une  $CI_{50}$  de l'ordre de 8  $\mu\text{g/mL}$  contre 2,60  $\mu\text{g/mL}$  pour le contrôle positif, l'acarbose. L'extrait des bulbes d'*U. noctiflora* présente donc un pouvoir inhibiteur plus faible de l' $\alpha$ -D-glucosidase en comparaison à l'acarbose mais qui reste bien meilleur que celui décrit pour des espèces proches d'*Urginea*. Selon Bisht et al. (2013), les arabinogalactanes issus d'*Acacia tortilis* sont pourtant des inhibiteurs partiels de l' $\alpha$ -D-glucosidase avec 76,77% d'inhibition à 5 mg/mL contre 74,88% pour l'acarbose à 16,14 mg/mL et avec une  $CI_{50}$  de 0,5 g/L. La  $CI_{50}$  reportée pour *U. noctiflora* reste toutefois trop forte pour être très intéressante d'un point de vue applicatif. Rappelons également que la structure des AG diffère de celles des (gluco)galactomannanes, ce qui rend scientifiquement peu crédible ce type de comparaisons. Concernant PSPN, l'activité anti-diabétique est dans l'ordre de grandeur des activités reportées dans les excellentes revues de synthèse de Gonçalves et Romano (2016) pour le genre *Plantago*, Madgulkar et al. (2015) pour *P. ovata* ou de Samuelsen (2000) concernant *P. major*.

#### 4.4.3 Activité phagocytaire

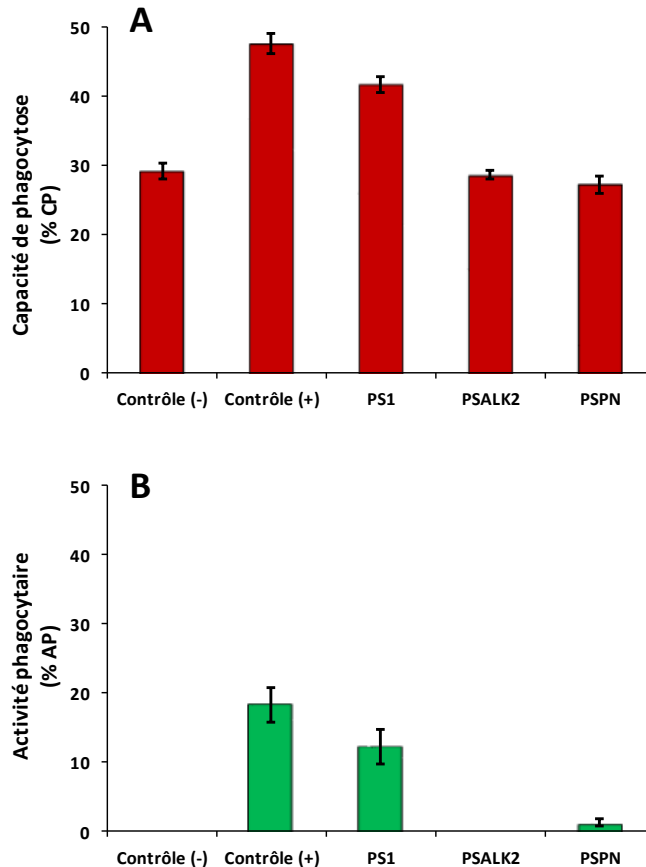
Dans l'immunité innée, le processus utilisé par certaines cellules pour internaliser les agents pathogènes est la phagocytose (Desjardins et Griffiths, 2003). Elle est considérée comme l'un des principaux mécanismes qu'utilisent les vertébrés pour combattre les infections microbiennes (Hoffmann et al., 2012). C'est un processus qui peut être divisé en plusieurs étapes distinctes et dans lequel les cellules phagocytaires jouent un rôle complexe (Tippett et al., 2007 ; Carneiro et al., 2014). Il est possible d'évaluer la capacité de certains composés à activer les cellules phagocytaires *in vitro* en comptabilisant au microscope l'activité phagocytaire sur des particules telles que le latex et le zymosan. La phagocytose est contrôlée par différents facteurs tels que les récepteurs de surface des cellules phagocytaires (macrophages) et les cytokines. L'appréciation des mécanismes d'activation de la phagocytose par des composés immunostimulants est fondamentale pour apprécier leurs effets secondaires (Gertsch et al., 2011). La levure *Candida albicans* est une espèce pathogène opportuniste fortement dépendante de la balance entre les mécanismes de défense mis en œuvre par le système immunitaire de l'hôte et l'expression de ses propres facteurs de virulence. En effet, le passage de l'état saprophyte à l'état infectieux est fonction de l'interaction des levures avec les macrophages et les granulocytes neutrophiles qui constituent la première barrière vis-à-vis des infections fongiques (El-Kirat-Chatel, 2010).

L'activité phagocytaire de cellules immunitaires issues de sang total sur les levures de *C. albicans* a été testée sur la fraction isolée à partir des bulbes d'*Urginea noctiflora* (PS1) en utilisant le zymosan. Cette fraction a fait l'objet de ce test sur la base des propriétés immunomodulatrices décrites chez les plantes de genre *Urginea*, en particulier pour leurs utilisations comme insecticide (Hammiche et al., 2013). Pour rappel, le zymosan est un composé est un extrait de levure contenant des protéines et de  $\beta$ -(1,3)-D-glucane. Il est utilisé expérimentalement pour déclencher des réactions inflammatoires comme contrôle positif. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentages de capacité phagocytaire (qui représente le pouvoir des cellules phagocytaire à ingérer des corps étrangers suite au déclenchement de la réponse phagocytaire par une substance donnée) vis-à-vis de *C. albicans* et en activité phagocytaire (qui représente la capacité d'une substance à activer les cellules phagocytaires par rapport au blanc) (partie 3.7.3) (**Figure 65** et **Figure 66**).



**Figure 65.** Observation microscopique de la phagocytose des *Candida albicans* en présence de PS1 (x 1000).

Le test montre des fortes capacités phagocytaires de PS1 et PSALK2 à 50  $\mu$ g/mL, mais qui restent toutefois inférieures à celles trouvées avec une mycobactérie ( $74,6 \pm 11,0\%$ ) (Le Cabec et al., 2000). La fraction PS1 des bulbes d'*Urginea noctiflora* présente une activité phagocytaire (pouvoir d'activation des phagocytes) de 12,33 %, activité inférieure à celle observée du contrôle positif (zymosan) (18,33%). Notons que cette activité est quasiment inexistante pour la fraction PSALK2.

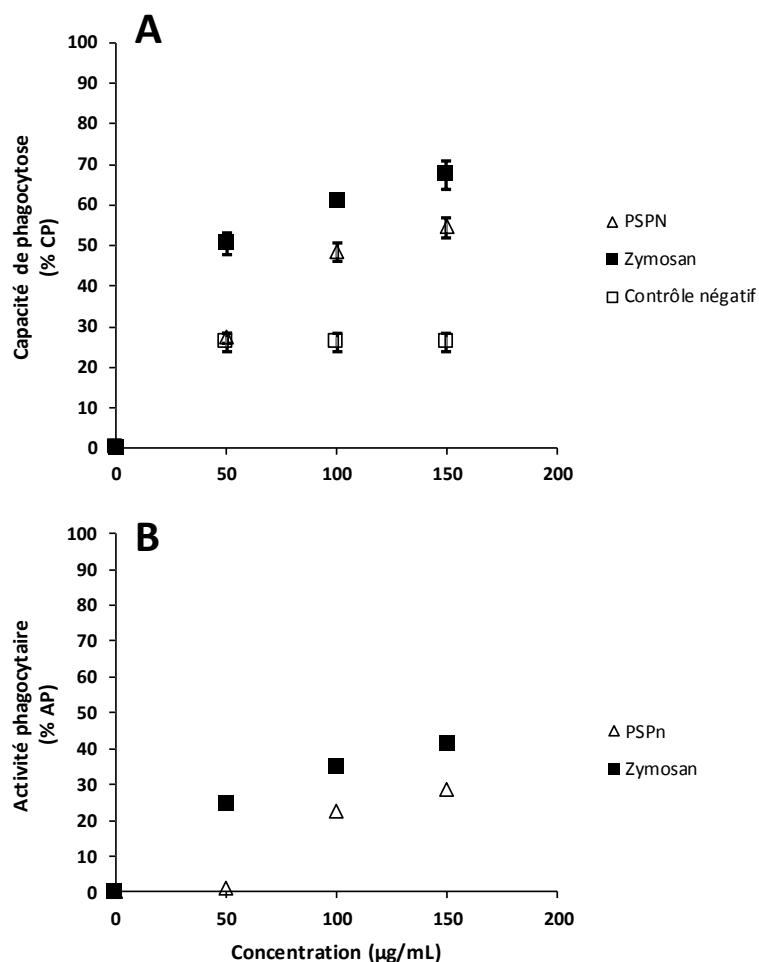


**Figure 66.**(A) Capacité phagocytaire et (B) activité phagocytaire des différentes fractions testées à 50 µg/mL. *Le zymosan est utilisé comme contrôle positif.*

Là encore, il est difficile de comparer ce résultat à la littérature quasiment inexistante pour les *Urginea*. L'extrait PSPN présente, quant à lui, une  $CI_{50}$  de 9 µg/mL contre 2,60 µg/mL pour le contrôle positif. Ces résultats suggèrent que l'hétéroxylane des graines de *P.notata* présente donc un pouvoir inhibiteur plus faible de l' $\alpha$ -D-glucosidase en comparaison à l'acarbose. Ren et al. (2017) ont montré qu'un hétéropolysaccharide acide composé de Xyl et isolé d'*Annona squamosa* présentait également une relative activité inhibitrice de l' $\alpha$ -D-glucosidase avec une concentration inhibitrice  $CI_{50}$  de 243,18 µM par rapport à 11,89 µM d'enzyme. Deux polysaccharides isolés de *C. oleifera* présentent aussi des  $CI_{50}$  de 11,80 et 10,95 µg/mL, respectivement, c'est-à-dire très proches des résultats obtenus pour PSPN (Zhang et al., 2015). Enfin, la **Figure 67** synthétise l'ensemble des résultats obtenus aux trois concentrations testées de PSPN (50, 100 et 150 µg/mL). A une concentration de 150 µg/ml, la fraction PSPN a inhibé la phagocytose de *C.albicans* à hauteur de 54,5% ( $\pm 2,54$ ).



Cette activité semble importante au regard de celle observée pour le zymosan ( $67,4 \pm 3,47\%$ ) mais à relativiser si l'on considère la concentration (« non physiologique ») importante de PSPN testé. Ainsi, les résultats montrent pour les % de CP et d'AP que les activités sont meilleures à des concentrations croissantes en PSPN, concentrations qui ne traduisent toutefois pas d'une efficacité réelle réponse/dose des fractions testées (en particulier pour une application *in vivo*). Dans la littérature, on peut citer les travaux de Sendl et al. (1993) concernant des polysaccharides hydrosolubles extraits à partir de feuilles du *Telephium Sedum* qui présentaient une capacité de phagocytose maximale par les granulocytes notable mais faible pour une éventuelle application biomédicale. De manière générale, l'activité anti-diabétique d'hétéroxylanes extraits de *Plantago* est intéressante, sans être révolutionnaire pour un marché de niche très spécifique et compétitif (Madgulkar et al., 2015 ; Gonçalves et Romano, 2016).

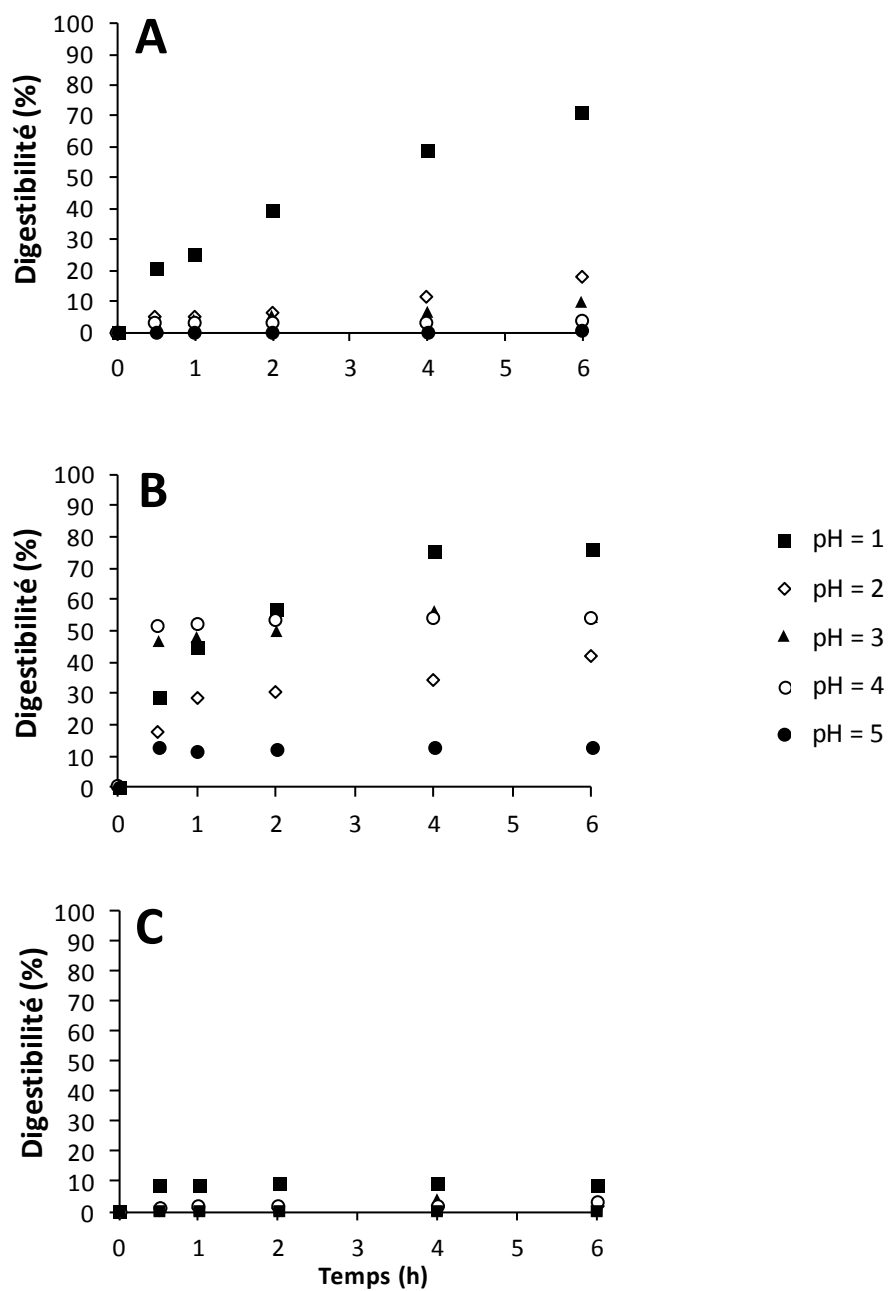


**Figure 67.** Effets doses-réponse de l'extrait PSPN pour (A) sa capacité de phagocytose et (B) son activité phagocytaire. Le zymosan est utilisé comme témoin positif. (B) réalisée en triplicats (écarts-types <5 %).

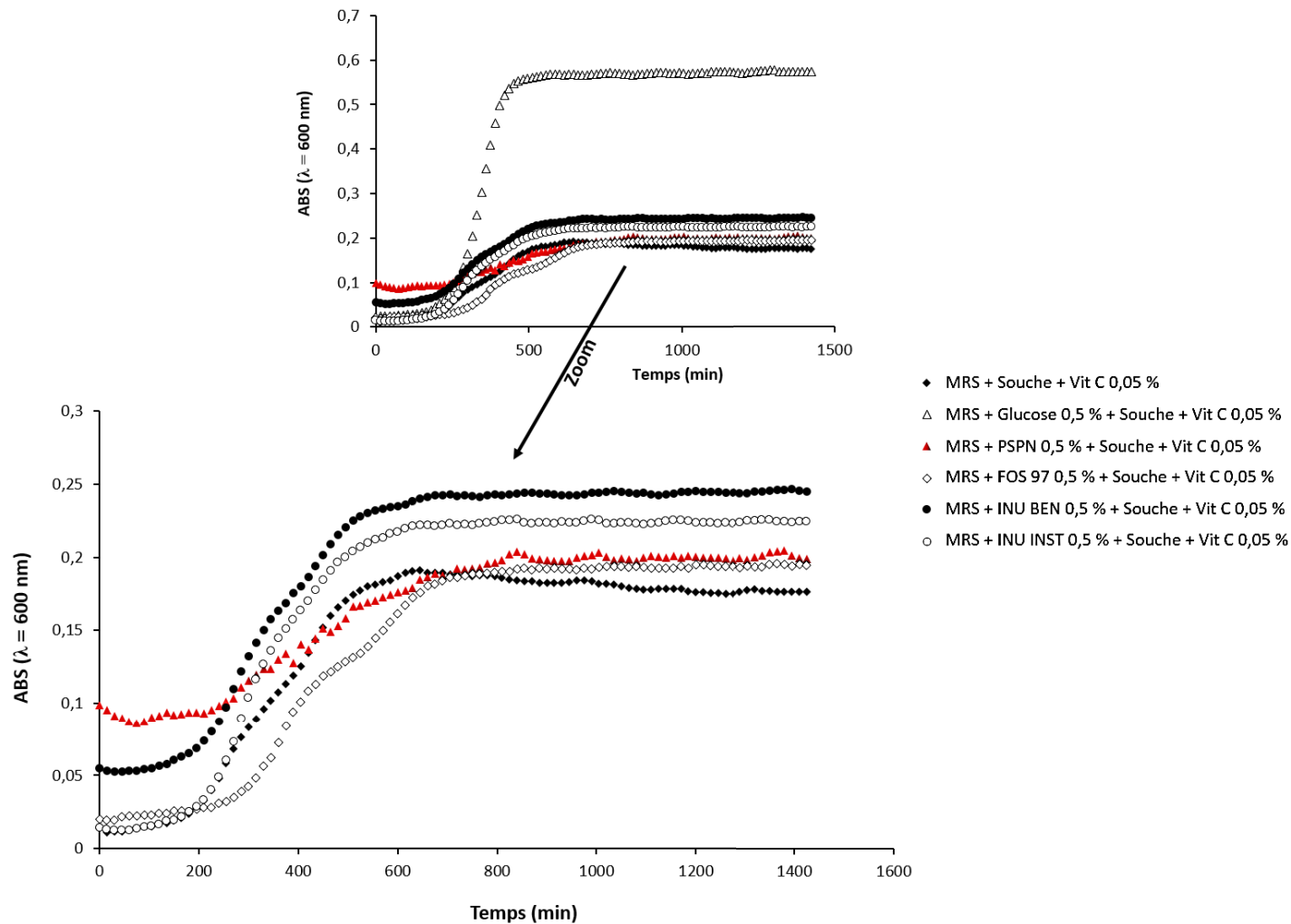
#### 4.4.4 Activité prébiotique et résistance à la digestibilité

Gibson et al. (2004) ont défini les prébiotiques comme des ingrédients alimentaires non digestibles par les enzymes de l'hôte et résistants aux sucs gastriques, qui ont un effet bénéfique sur son tractus digestif. Cette non-digestibilité leur permet en effet d'atteindre le gros intestin où ils sont catabolisés (fermentation) sélectivement par la flore endogène bénéfique (probiotiques). Comme reporté en [partie 3.7.4](#), les xylanes et XOS sont largement décrits dans la littérature pour leurs propriétés prébiotiques (Coelho et al., 2016 ; Centanni et al., 2017). L'hétéroxylane de *Plantago notata* (fraction PSPN) et des prébiotiques commerciaux (fructo-oligosaccharides ou FOS et inuline) ont été soumis dans un premier temps 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 ([partie 3.7.4.1](#)). Les cinétiques d'hydrolyse de PSPN, des FOS et de l'inuline par un suc gastrique artificiel sont présentées en **Figure 68**. Une différence significative de digestibilité est retrouvée en fonction du pH et du temps. Les résultats ont montré 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 la fraction PSPN (8,72%), des FOS (75,71%) et de l'inuline (71,12%) ont été identifiés pour 6h d'hydrolyse à pH 1. Par conséquent l'hétéroxylane peut être considéré comme un biopolymère non digestible. Au regard des résultats obtenus, cette fraction a été évaluée pour sa capacité à être fermentée par une souche qualifiée de probiotique : *Lactobacillus rhamnosus*.

Les prébiotiques isolés à partir de sources naturelles telles que les polysaccharides des plantes possèdent une large gamme de propriétés biologiques et peuvent offrir un grand potentiel pour leur utilisation comme ingrédients fonctionnels permettant une modulation des bactéries intestinales (Wang et al., 2015). Dans ce contexte, l'activité prébiotique de PSPN a été testée sur la souche probiotique *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103. La capacité de cette souche à utiliser la fraction PSPN comme substrat carboné a été évaluée *via* la réalisation de cinétiques de croissance. Les cinétiques réalisées avec une concentration en PSPN de 0,5% et comparées à des cultures témoins sur milieux MRS supplémentés ou non avec de la vitamine C (0,05%), du glucose (0,05%), ou des prébiotiques commerciaux (0,05%) tels que les FOS et l'inuline. Le suivi de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* a été effectué par mesure de la densité optique à 600 nm en lecteur de microplaques de type Bioscreen (**Figure 69**).



**Figure 68.** Etude de la digestibilité à 37 °C (A) de l'inuline, (B) des FOS et (C) de PSPN. (■),(◇),(▲), (○)et(●)correspondent respectivement à des pH de 1 à 5. Réalisée en triplicats (écart-types < 5 %).



**Figure 69.** Courbes de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu MRS supplémenté ou non par de la vitamine C (0,05 % m/v), du glucose (0,5 % m/v), des FOS (0,5 % m/v), de l'inuline (0,5 % m/v) et du PSPN de *Plantago notata* (0,5% m/v). Réalisées en quadruplicats (écarts-types < 3 %).

Par comparaison avec le témoin négatif (milieu MRS sans substrat, ◆), on remarque que la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* est logiquement stimulée en présence des substrats carbonés (glucose Δ, FOS ◇ et inulines ●, ○). Dans tous les milieux de culture en présence des sources carbonées (glucose, inulines 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 à celles observées avec d'autres 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 de ces oligosaccharides. En effet, on considère que l'accroissement de croissance des probiotiques d'au moins 0,1 unité d'absorbance (densité optique) après 16 h de culture correspond à un effet prébiotique de la solution (ou polymère) testé (Saad et al., 2013). Le potentiel prébiotique de la fraction PSPN de *Plantago notata* peut être comparé avec les croissances mesurées en présence de prébiotiques commerciaux (FOS). Une croissance significative de la souche de *L. rhamnosus* a ainsi été observée avec les milieux de culture MRS supplémentés avec PSPN. Ces résultats ont démontré la capacité de ce polymère à être métabolisé par les lactobacilles, témoignant de son potentiel prébiotique. Ces résultats sont en accord avec par exemple ceux mentionnés par Hu et al. (2013) concernant la fermentation des polysaccharides de graines de *P. asiatica* par les bactéries intestinales.

## 5 Conclusions et perspectives

Ce travail de thèse a été réalisé en cotutelle entre le Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-arides de la Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi-Merbah Ouargla (Algérie) et l'axe Génie des Procédés Energétique et Biosystèmes de l'Institut Pascal (UMR CNRS 6602) de l'Université Clermont Auvergne (France). Son objectif était d'extraire et de caractériser la structure, les propriétés physico-chimiques et le potentiel biologique des polysaccharides de deux plantes spontanées à caractère médicinal de Sahara Septentrional Est Algérien : *Plantago notata* Lagasca (*Plantaginaceae*) et *Urginea noctiflora* Batt.Trab (*Liliaceae*).

Les polysaccharides hydro et alcali-solubles présents dans les différents tissus des plantes ont été extraits de façon séquentielle et leurs compositions biochimiques ont été déterminées par des méthodes colorimétriques. A l'issue de ces investigations, l'extrait isolé à partir des graines de *Plantago notata* avec un rendement de 4,66% a été retenu pour sa caractérisation structurale et physico-chimique du fait de son homogénéité, de sa nature macromoléculaire et de sa richesse en oses totaux (85,55%). La caractérisation structurale réalisée par CPG/SM et spectroscopie RMN 1D et 2D a permis d'identifier un hétéroxylane complexe comme seul polysaccharide présent dans cet extrait. Ce biopolymère est constitué d'une chaîne principale de  $\beta$ -(1,3 ; 1,4)-D-xylane (Xylp) substituée en positions O-2 et O-3 des résidus  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp par des chaînes latérales et des monosaccharides terminaux tels que  $\alpha$ -L-Araf-(1,3)- $\beta$ -D-Xylp,  $\beta$ -D-Xylp-(1,2)- $\beta$ -D-Xylp, T- $\beta$ -D-Xylp ou T- $\alpha$ -L-Araf

La caractérisation de ce polymère en régime dilué par SEC/MALLS, réfractométrie différentielle et viscosimétrie en ligne a permis d'identifier sa masse molaire et sa viscosité intrinsèque à respectivement  $2,3 \times 10^6$  g/mol et 715 mL/g.

Des analyses rhéologiques conduites en régime semi dilué ont permis de caractériser les propriétés d'écoulement des solutions de l'hétéroxylane extrait de *P. notata* à plusieurs concentrations, températures et en présence de sels. Ce polymère présente un comportement rhéofluidifiant non affecté par la présence de sels (NaCl). L'absence de transition conformationnelle de ce polysaccharide 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 hétéroxylane à un épaississant au même titre que certaines gommes naturelles.

La recherche de certaines activités biologiques associées à cet hétéroxylane a complété l'étude rhéologique. 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'hétéroxylane de *P. notata* 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 polysaccharides de *P. notata* et de les comparer avec des prébiotiques commerciaux tels que l'inuline et les FOS. Les résultats obtenus ont montré très clairement que l'utilisation de polysaccharides de graines de *P. notata* permet la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* qui les utilise comme substrat carbone en conditions anaérobies, au même titre que les FOS ou l'inuline. Ce résultat justifie ainsi l'utilisation traditionnelle de cette plante en Algérie comme laxatif.

Finalement, ces travaux ont donc conduit aux caractérisations structurale et physico-chimique d'un hétéroxylane extrait à partir des graines de *P. notata*. Les rendements d'extraction importants associés à la possibilité de collecter des graines des Plantaginacées en grande quantité dans le Sahara Septentrional Est Algérien font de cette plante un bon candidat pour la production d'épaississants et de composés à activité prébiotique.

## Références bibliographiques

1. Abid, S., Khajuria, A., Parvaiz, Q., Sidiq, T., Bhatia, A., Singh, S., Ahmad, S., Randhawa, M.K., Satti, N.K., & Dutt, P. (2012). Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, 12(4), 626-634.
2. Abu-Darwish, M.S., Cabral, C., Gonçalves, M.J., M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Zulfiqar, A., Khan, I.A., Efferth, T., & Salgueiro, L. (2016). Chemical composition and biological activities of *Artemisia judaica* essential oil from southern desert of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*, 191, 161-168.
3. Achour, O., Poupard, N., Bridiau, N., Juchereau, S.B., Sannier, F., Piot, J.M., Arnaudin, I.F., & Maugard, T. (2016). Anti-heparanase activity of ultra-low-molecular-weight heparin produced by physicochemical depolymerization. *Carbohydrate Polymers*, 135, 316-323.
4. Adams, N.M., Furneaux, R.H., Miller, I.J., & Whitehouse, L.A. (1988). Xylan from *Leptosarca simplex* and Carrageenas from *Iridea*, *Cenacrum* and *Nemastoma* Species from the Subantarctic Islands of New Zealand. *Botanica Marina*, 31, 9-14.
5. 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.
6. Ahmad, I., Aqil, F., Owais, M. (2006). Modern Phytomedicine: *Turning Medicinal Plants into Drugs*. John Wiley & Sons.
7. Ainouche, A., Greinwald, R., Witte, L., & Huon, A. (1996). Seed Alkaloid Composition of *Lupinus tasselicus* Maire (Fabaceae: Genisteae) and Comparison with its Related Rough Seeded Lupin Species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24, 405-414.
8. Akaberi, M., Sobhani, Z., Javadi, B., Sahebkar, A., & Emami, S.A. (2016). Therapeutic effects of Aloe spp. in traditional and modern medicine: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 759-772.
9. Akhtar, M., Tariq, A.F., Awais, M.M., Iqbal, Z., Muhammad, F., Shahid, M., & Hiszczynska-Sawicka, E. (2012). Studies on wheat bran Arabinoxylan for its immunostimulatory and protective effects against avian coccidiosis. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 333-339.



10. Al-Assaf, S., Phillips, G.O., Williams, P.A., Takigami, S., Dettmar, P., & Havler, M. (2003). Molecular weight, tertiary structure, water binding and colon behavior of ispaghula husk fibre. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 211-216.
11. Allen, D.E., & Hatfield, G. (2004). *Medicinal Plants in Folk Tradition: An Ethnobotany of Britain and Ireland*. Timber Press.
12. Al-Masri, M.S., Amin, Y., Ibrahim, S., & Nassri, M. (2015). Transfer of  $^{210}\text{Po}$ ,  $^{210}\text{Pb}$  and  $^{238}\text{U}$  from some medicinal plants to their essential oils. *Journal of Environmental Radioactivity*, 141, 51-56.
13. Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Gallardo-Rivera, R., Varela-Guerrero, V., Alvarez-Ramirez, J., & Pérez-Alonso, C. (2017). Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid. *Journal of Food Engineering*, 209, 68-75.
14. Ameni, A.Z., Latorre, O.A., Torres, L.M.B., & Gorniak, S.L. (2015). Toxicity study about a medicinal plant *Casearia sylvestris*: A contribution to the Brazilian Unified Health System (SUS). *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 9-13.
15. Amin E.S., & Kandeel K.M. (1972). The hemicellulose of pollen grains of *Phoenix dactylifera*. *Carbohydrate Research*, 25, 261-263.
16. Aouar, L. (2007). Les propriétés mécaniques du réseau cellulose/xyloglucanes dans la croissance apicale du tube pollinique.
17. Archana, G., Sabinaa, K., Babuskina, S., Radhakrishnana, K., Fayidha, M.A., Azhagu Saravana Babua, P., Sivarajanb, M., & Sukumar, M. (2013). Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 98, 89-94.
18. Ayala-Soto, F.E., Serna-Saldívar, S.O., Pérez-Carrillo, E., & García-Lara, S. (2014). Relationship between hydroxycinnamic profile with gelation capacity and rheological properties of arabinoxylans extracted from different maize fiber sources. *Food Hydrocolloids*, 39, 280-285.
19. Bagdi, A., Tömösközi, S., & Nyström, L. (2016). Hydroxyl radical oxidation of feruloylated arabinoxylan. *Carbohydrate Polymers*, 152, 263-270.
20. Banani, M., & Shiva Kameshwari, M.N. (2015). Extraction and sugar composition of mucilage in *urginea indica/drimia indica* (roxb) kunth hyacinthaceae. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8, 335-338.
21. Barkaoui, M., Katiri, A., Boubaker, H., & Msanda, F. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha

- and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 338-350.
22. Barker, S.A., Bourne, E.J., Stacey, M., & Whiffen, D.H. (1954). Infra-red spectra of carbohydrates. Part I. Some derivatives of D-glucopyranose. *The Chemical Society*, 1, 171-176.
  23. Bayar, N., Kriaa, M., & Kammoun, R. (2016). Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica* cladodes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 441-450.
  24. Behbahani, B.A., Yazdi, F.T., Shahidi, F., Hesarinejad, M.A., Mortazavi, S.A., & Mohebbi, M. (2017). *Plantago major* seed mucilage: Optimization of extraction and some physicochemical and rheological aspects. *Carbohydrate Polymers*, 155, 68-77.
  25. Bemiller J.N. (1967). Acid-catalysed hydrolysis of glycosides. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 22, 25-108.
  26. Benaoun, F., Delattre, C., Boual, Z., Ursu, A. V., Vial, C., Gardarin, C., Wadouachi, A., Le Cerf, D., Varacavoudin, T., Ould El-Hadj, M.D., Michaud, P., & Pierre, G. (2017). Structural characterization and rheological behavior of a heteroxylan extracted from *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) seeds. *Carbohydrate Polymers*, 175, 96-104.
  27. Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, A.A., Elouissi, M., Khaldi, A., & Hamimed, A. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 626-637.
  28. Benhammou, N., Atik Bekkara, F., & Panovska, T.K. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Compte Rendue Chimie*, 12, 1259-1266.
  29. Bensalem, S., Soubhye, J., Aldib, I., Bournine, L., Nguyen, A.T., Vanhaeverbeek, M., Rousseau, A., Boudjeltia, K.Z., Sarakbi, A., Kauffmann, J.M., Nève, J., Prévostf, M., Stévigny, C., Maiza-Benabdesselam, F., Bedjou, F., Van Antwerpen, P., & Duez, P. (2014). Inhibition of myeloperoxidase activity by the alkaloids of *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 154, 361-369.
  30. Bhatt, A., Santo, A., & Gallacher, D. (2015). Seed mucilage effect on water uptake and germination in five species from the hyper-arid Arabian desert. *Journal of Arid Environments*, 128, 73-79.

31. Bibi, S., Sultana, J., Sultana, H., & Malik, R.N. (2014). Ethnobotanical uses of medicinal plants in the highlands of Soan Valley, Salt Range, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 352-361.
32. Bijalwan, V., Ali, U., Kesarwani, A.K., Yadav, K., & Mazumder, K. (2016). Hydroxycinnamic acid bound arabinoxylans from millet brans-structural features and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 296-305.
33. Bisht, S., Kant, R., & Kumar, V. (2013).  $\alpha$ -D-Glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from *Acacia tortilis* gum exudate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 214-220.
34. Blumenkrantz N., & Asboe-Hansen G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54, 484-489.
35. Bo, R., Zheng, S., Xing, J., Luo, L., Niu, Y., Huang, Y., Liu, Z., Hu, Y., Liu, J., Wu, Y., & Wang, D. (2017). The immunological activity of *Lycium barbarum* polysaccharides liposome in vitro and adjuvant activity against PCV2 in vivo. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 294-301.
36. Bonnin E., Saulnier L., Magali B., & Thibault J-F. (2002) b. 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.
37. Boual, Z. (2014). Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional Est algérien): *Activité biologique*. Thèse de doctorat, Biochimie, Université Kasdi-Merbah de Ouargla, Algérie, 159P.
38. Boual, Z., Chouana, T., Kemassi, A., Oudjana, A.H., Bouhoun, M.D., Michaud, P., & El Hadj, M.O. (2015a). Étude physicochimique et biologique des polysaccharides hydrosolubles de *Plantago notata* Lagasca (*Plantaginaceae*). *Phytothérapie*, 13(6), 396-402.
39. Boual, Z., Kemassi, A., Hamid Oudjana, A., Michaud, P., & Ould El Hadj, M.D. (2013). Physico-chemical and biochemical characterization of *Urginea noctiflora* bulb (Liliaceae) harvested from Ghardaïa (Septentrional Sahara Algerian): antioxidant and antimicrobial activities. *PhytoChem & BioSub Journal*, 7(2).
40. Boual, Z., Pierre, G., Delattre, C., Benaoun, F., Petit, E., Gardarin, C., Michaud, P., & Ould El Hadj, M.D. (2015b). Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a

- source of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5, 10-18.
41. Bouaziz, A., Mhalla, D., Zouari, I., Jlaiel, L., Tounsi, S., Jarraya, R., & Trigui, M. (2016a). Antibacterial and antioxidant activities of *Hammada scoparia* extracts and its major purified alkaloids. *South African Journal of Botany*, 105, 89-96.
  42. Bouaziz, F., Koubaa, M., Ben Jeddoua, K., Kallel, F., Boisset Helbert, C., Khelfa, A., Ellouz Ghorbel, R., & Ellouz Chaabouni, S. (2016b). Water-soluble polysaccharides and hemicelluloses from almond gum: Functional and prebiotic properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 359-368.
  43. Boucekrit, M., Laouer, H., Hajji, M., Nasri, M., Haroutounian, S.A., & Akkal, S. (2016). Essential oils from *Elaeoselinum asclepium*: Chemical composition, antimicrobial and antioxidant properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6, 851-857.
  44. Boughrara, B., & Belgacem, L. (2016). Ethnobotanical study close to the population of the extreme north east of Algeria: The municipalities of El Kala National Park (EKNP). *Journal of Industrial Crops and Products*, 88, 2-7.
  45. Bourmita, Y., Belboukhari, N., Cheriti, A., & Ould El Hadj, M.D. (2013). Recherche préliminaire des sources végétales Sahariennes a alcaloïdes pour usage bio-insecticides. *Algerian Journal of Arid Environment*, 3, 98-102.
  46. Bournine, L., Bensalem, S., Fatmi, S., Bedjou, F., Mathieu, V., Iguer-Ouada, M., Kiss, R., & Duez, P. (2017). Evaluation of the cytotoxic and cytostatic activities of alkaloid extracts from different parts of *Peganum harmala L.* (Zygophyllaceae). *European Journal of Integrative Medicine*, 9, 91-96.
  47. Boutaleb, N. (2007). Etude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thèse de doctorat, Chimie, Université de Bretagne-Sud, 153P.
  48. Bouzidi, M.A., Latreche, A., Attaoui, I., Mehdadi, Z., Benyahia, M., Bouguenaya, N., & Meliani, H. (2010). Caractérisation et valorisation des polysaccharides pariétaux d'*Urginea pancration* (Steinh) Phil. de Djebel Tessala (Nord-Ouest Algérien). *Les Technologies de Laboratoire*, 5(19), 23-29.
  49. Bozorgi, M., Amin, G., Shekarchi, M., & Rahimi, R. (2017). Traditional medical uses of *Drimia* species in terms of phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Traditional Chinese Medicine*, 37(1), 124-139.

50. Bradai, L., Neffar, S., Amrani, K., Bissati, S., & Chenchouni, H. (2015). Ethnomycological survey of traditional usage and indigenous knowledge on desert truffles among the native Sahara Desert people of Algeria. *Journal of Ethnopharmacology*, *162*, 31-38.
51. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1), 248-254.
52. Buckeridge, M.S., & Dietrich, S.M. (1996). Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth.(*Leguminosae-Faboideae*). *Plant Science*, *117*(1-2), 33-43.
53. Burnat, B., Walkowiak-Przybyło, M., Błaszczuk, T., & Klimek, L. (2013). Corrosion behaviour of polished and sandblasted *titanium alloys* in PBS solution. *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, *15*(1), 87, 95.
54. Bush, J.R., Liang, H., Dickinson, M., & Botchwey, E.A. (2016). Xylan hemicellulose improves chitosan hydrogel for bone tissue regeneration. *Polymers for Advanced Technologies*, *27*(8), 1050-1055.
55. Cantu-Jungles, T.M., Iacomini, M., Cipriani, T.R., & Cordeiro, L.M. (2017). Isolation and characterization of a xylan with industrial and biomedical applications from edible açai berries (*Euterpe oleraceae*). *Food Chemistry*, *221*, 1595-1597.
56. Cao, L., Liu, X., Qian, T., Sun, G., Guo, Y., Chang, F., Zhou, S., & Sun, X. (2011). Antitumor and immunomodulatory activity of arabinoxylans: A major constituent of wheat bran. *International Journal of Biological Macromolecules*, *48*(1), 160-164.
57. Cardoso, S.F., Lopes, L.M.X., & Nascimento, I.R. (2014). *Eichhornia crassipes*: an advantageous source of shikimic acid. *Revista Brasileira Farmacogn*, *24*, 439-442.
58. Carneiro C., Vaz C., Pereira J.C., Pais C., Sampaio P. (2014). A new method for yeast phagocytosis analysis by flow cytometry. *Microbiological Methods*, *101*, 56-62.
59. 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.
60. 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. *The Plant Journal*, *3*(1), 1-30.

61. Castelain, C., Doublier, J.L., & Lefebvre, J. (1987). A study of the viscosity of cellulose derivatives in aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 7, 1-16.
62. Casu, B. (1982). Structure and conformation of polysaccharides by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 2(4), 247-253.
63. Centanni, M., Hutchison, J.C., Carnachan, S.M., Daines, A.M., Kelly, W.J., Tannock, G.W., & Sims, I.M. (2017). Differential growth of bowel commensal *Bacteroides* species on plant xylans of differing structural complexity. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1374-1382.
64. Chanliaud, F., Roger, P., Saulnier, L., & Thibault, J.F. (1996). Static and dynamic light scattering studies of heteroxylans from maize bran in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 31(1), 41-46.
65. Chehama, A., & Djebbar, M.R. (2008). Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique, *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 17, 36-45.
66. Chen, M.L., Wu, S., Tsai, T.C., Wang, L.K., & Tsai, F.M. (2014a). Regulation of neutrophil phagocytosis of *Escherichia coli* by antipsychotic drugs. *International Immunopharmacology*, 23(2), 550-557.
67. Chen, R., Li, H., Li, S., Jin, C., & Lu, J. (2015). Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activity of polysaccharides from figs. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 185-194.
68. Chen, X., Chen, C.G., Zhou, Y.Z., Li, P.J., Ma, F., Nishiumi, T., & Suzuki, A. (2014b). Effects of high pressure processing on the thermal gelling properties of chicken breast myosin containing  $\kappa$ -carrageenan. *Food Hydrocolloids*, 40, 262-272.
69. Cheriti, A., Belboukhari, N., & Hacini, S. (2005). Savoir Traditionnel Et Valorisation Des Plantes Médicinales Du Sud Ouest Algerien. *Annales de l'Université de Bechar*, 1, 4-8.
70. Chopra, C., Abrol, B.K., & Handa, K.L. (1960). Les Plantes Médicinales Des Régions Arides. Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture, place de Fontenoy, Paris-7e Imprimeries Oberthur, Rennes © Unesco 1960 NS.59/III.17/F. Drug Research Laboratory, Jammu (Inde).
71. Christakopoulos, P., Katapodis, P., Kalogeris, E., Kekos, D., Macris, B.J., Stamatis, H., & Skaltsa, H. (2003). Antimicrobial activity of acidic xylo-oligosaccharides produced by family 10 and 11 endoxylanases. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31(4), 171-175.

72. Cipriani, T.R., Mellinger, C.G., de Souza, L.M., Baggio, C.H., Freitas, C.S., Marques, M.C., Gorin, P.A.J., Sasaki, G.L. & Iacomini, M. (2008). Acidic heteroxylans from medicinal plants and their anti-ulcer activity. *Carbohydrate Polymers*, 74(2), 274-278.
73. Ciucanu I., Costello C.E., 2003. Elimination of oxidative degradation during the per Omethylation of carbohydrates. *Journal American Chemical Society*, 125, 16213-9.
74. Coelho, E., Rocha, M.A.M., Moreira, A.S., Domingues, M.R.M., & Coimbra, M.A. (2016). Revisiting the structural features of arabinoxylans from brewers" spent grain. *Carbohydrate Polymers*, 139, 167-176.
75. Cong, Q., Shang, M., Dong, Q., Liao, W., Xiao, F., & Ding, K. (2014). Structure and activities of a novel heteroxylan from *Cassia obtusifolia* seeds and its sulfated derivative. *Carbohydrate research*, 393, 43-50.
76. Cordeiro, L.M., de Almeida, C.P., & Iacomini, M. (2015). Unusual linear polysaccharides:(1→ 5)- $\alpha$ -L-Arabinan,(1→ 3)-(1→ 4)- $\alpha$ -D-glucan and (1→ 4)- $\beta$ -D-xylan from pulp of buriti (*Mauritia flexuosa*), an edible palm fruit from the Amazon region. *Food Chemistry*, 173, 141-146.
77. Cosgrove D.J. (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6, 850-861.
78. Da Silva, A.E., Marcelino, H.R., Gomes, M.C.S., Oliveira, E.E., Nagashima Jr, T., & Egito, E.S.T. (2012). Xylan, a promising hemicellulose for pharmaceutical use. In *Products and Applications of Biopolymers*. InTech.
79. Dabin, J., (2008). Etude structurale et fonctionnelle des polysaccharides de *Rhodopirellula baltica*. Biochimie, Biologie Moléculaire. Paris 6. Français.
80. Daus, S. & Heinze, T. (2010). Xylan-based nano particles: Prodrugs for ibuprofen release. *Macromolecular Bioscience* , 10, 211-220.
81. de Padua, M.M.C., Cadena, S.M.S.C., de Oliveira Petkowicz, C.L., Martinez, G.R., & Noleto, G.R. (2017). Galactomannan from *Schizolobium amazonicum* seed and its sulfated derivatives impair metabolism in HepG2 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 464-473.
82. 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.
83. Delattre C., (2005). Stratégie d"obtention d"oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat, Biochimie, Université de Picardie jules verne, 195P.

84. Delattre, C., Pierre, G., Laroche, C., & Michaud, P. (2016). Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, *34*(7), 1159-1179.
85. Deng, D., Sun, P., Yan, C., Ke, M., Jiang, X., Xiong, L., Ren, W., Hirata, K., Yamamoto, M., Fan, S., & Yan, N. (2015). Molecular basis of ligand recognition and transport by glucose transporters. *Nature*, *526*(7573), 391.
86. Deniaud, E., Fleurence, J., & Lahaye, M. (2003). Preparation and chemical characterization of cell wall fractions enriched in structural proteins from *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Botanica Marina*, *46*(4), 366-377.
87. Desjardins, M., & Griffiths, G. (2003). Phagocytosis: latex leads the way. *Current Opinion in Cell Biology*, *15*, 498-503.
88. Dhugga, K.S. (2006). Golgi glucan synthases. *The Science and Lore of the Plant Cell Wall: Biosynthesis, Structure and Function*, 114-122.
89. Do Nascimento, G.E., Hamm, L.A., Baggio, C.H., de Paula Werner, M.F., Iacomini, M., & Cordeiro, L.M. (2013). Structure of a galactoarabinoglucuronoxylan from tamarillo (*Solanum betaceum*), a tropical exotic fruit, and its biological activity. *Food Chemistry*, *141*(1), 510-516.
90. Dob, T., Dahmane, D., Tayeb, B., & Chelghoum, C. (2005). Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, *15*, 110-114.
91. Doco, T., Williams, P., Vidal, S., & Pellerin, P. (1997). Rhamnogalacturonan II, a dominant polysaccharide in juices produced by enzymic liquefaction of fruits and vegetables. *Carbohydrate Research*, *297*(2), 181-186.
92. Dodd, D., & Cann, I.K. (2009). Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. *Global Change Biology Bioenergy*, *1*(1), 2-17.
93. Dong, Q., & Fang, J. (2001). Structural elucidation of a new arabinogalactan from the leaves of *Nerium indicum*. *Carbohydrate Research*, *332*, 109-114.
94. Dong, Q., Ding, S.W., Yang, X., & Fang, J.N. (1999). Structural features of a heteroxylan from *Sophora subprostrata* roots. *Phytochemistry*, *50*(1), 81-84.
95. 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.



96. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
97. Dumitriu, S. (2005). Polysaccharides: structural diversity and functional versatility. (Ed.). CRC press.
98. Duus, J. Ø., Gotfredsen, C.H., & Bock, K. (2000). Carbohydrate structural determination by NMR spectroscopy: modern methods and limitations. *Chemical Reviews*, 100(12), 4589-4614.
99. Ebringerová, A. (2005). Structural diversity and application potential of hemicelluloses. *Macromolecular Symposia*, 232,1-12.
100. Ebringerová, 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(9), 542-556.
101. Ebringerová, A., & Hromádková, Z. (1999). Xylans of industrial and biomedical importance. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 16(1), 325-346.
102. Ebringerová, A., Hromádková, Z., & Heinze, T. (2005). Hemicellulose. *Advances of Polymers Science*, 186, 1-67.
103. Ebringerová, A., Hromádková, Z., & Hřibalová, V. (1995). Structure and mitogenic activities of corn cob heteroxylans. *International Journal of Biological Macromolecules*, 17(6), 327-331.
104. Ebringerová, A., Hromádková, Z., Burchard, W., Dolega, R., & Vorwerg, W. (1994). Solution properties of water-insoluble rye-bran arabinoxylan. *Carbohydrate Polymers*, 24(3), 161-169.
105. Ebringerová, A., Kardošová, A., Hromádková, Z., Malovíková, A., & Hřibalová, V. (2002). Immunomodulatory activity of acidic xylans in relation to their structural and molecular properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 30(1), 1-6.
106. Eddouks, M., Ajebli, M., & Hebi, M. (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 516-530.

107. 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 A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 54, 903-920.
108. Edwards, S., Chaplin, M.F., Blackwood, A.D., & Dettmar, P.W. (2003). Primary structure of arabinoxylans of ispaghula husk and wheat bran. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 217-222.
109. El-Kirat-Chatel, S. (2010). Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions *Candida* -phagocytes; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez *C. lusitaniae*. Thèse de doctorat, Microbiologie, Université Victor Segalen-Bordeaux, 188P.
110. El-Seedi, H.R., Burman, R., Mansour, A., Turki, Z., Boulos, L., Gullbo, J., & Göransson, U. (2013). The traditional medical uses and cytotoxic activities of sixty-one Egyptian plants: discovery of an active cardiac glycoside from *Urginea maritima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(3), 746-757.
111. Emam, S.S. (2011). Bioactive constituents of *Atriplex halimus* plant. *Journal of Natural Products*, 4, 25-41.
112. Evtuguin, D., Tomás, J., Silva, A.S., & Neto, C. (2003). Characterization of an acetylated heteroxylan from *Eucalyptus globulus* Labill. *Carbohydrate Research*, 338(7), 597-604.
113. Fabricant, D.S., & Farnsworth, N.R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109, 69-75.
114. Faïd, V. (2008). Approches de glycomique appliquées à l'étude des pathologies métaboliques des glycoprotéines. Thèse de doctorat, Sciences de la Vie et de la Santé, Université de Lille 1, 128P.
115. Fakchich, D., & Elachouri, M. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *Journal of Ethnopharmacology*, 154, 76-87.
116. Fang, Z. (Ed.). (2013). *Pretreatment techniques for biofuels and biorefineries* (pp. 417-432). Berlin: Springer.
117. Farahnaky, A., Askari, H., Majzoobi, M., & Mesbahi, G. (2010). The impact of concentration, temperature and pH on dynamic rheology of psyllium gels. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 294-301.

118. Feng, L., Yin, J., Nie, S., Wan, Y., & Xie, M. (2017). Structure and conformation characterization of galactomannan from seeds of *Cassia obtusifolia*. *Food Hydrocolloids*.
119. Filisetti-Cozzi T.M.C.C., Carpita N.C. (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry*, 197, 157-162.
120. Fincher G.B., Stone B.A., Clarke A.E., (1983). Arabinogalactan-proteins: Structure, biosynthesis, and function. *Annual Review of Plant Physiology*, 34, 47-70.
121. Fischer, M.H., Yu, N., Gray, G.R., Ralph, J., Anderson, L., & Marlett, J.A. (2004). The gel-forming polysaccharide of psyllium husk (*Plantago ovata* Forsk). *Carbohydrate Research*, 339(11), 2009-2017.
122. Francoz, E., Ranocha, P., Burlat, V., & Dunand, C. (2015). Arabidopsis seed mucilage secretory cells: regulation and dynamics. *Trends in Plant Science*, 20, 515-524.
123. Funami, T. (2017). In vivo and rheological approaches for characterizing food oral processing and usefulness of polysaccharides as texture modifiers-A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 2-14.
124. Furuya, T., & Hikichi, M. (1971). Short communication Alkaloids and Triterpenoids of *Symphytum officinale*. *Phytochemistry*, 10, 2217-2220.
125. Gao, C., Ren, J., Kong, W., Sun, R., & Chen, Q. (2015). Comparative study on temperature/pH sensitive xylan-based hydrogels: their properties and drug controlled release. *Royal Society of Chemistry Advances*, 5(110), 90671-90681.
126. Gao, C., Ren, J., Zhao, C., Kong, W., Dai, Q., Chen, Q., & Sun, R. (2016). Xylan-based temperature/pH sensitive hydrogels for drug controlled release. *Carbohydrate Polymers*, 151, 189-197.
127. Garcia-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., & Gomez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Journal of Biotechnology Advances*, 18(7), 549-579.
128. Garon-Lardièrre, S. (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de doctorat, Chimie, Université de Bretagne Occidentale, 226 p.
129. Gazer, M.H., & Shalabi. L.F. (2016). The role of pollen morphology in the identification and classification of *Plantago* (Plantaginaceae). *The Egyptian Society of Experimental Biology*, 10, 125-132.

130. Ge, Y., Duan, Y., Fang, G., Zhang, Y., & Wang, S. (2009). Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* var. *francheti*: Isolation, purification, structural features and antioxidant activities, *Carbohydrate Polymers*, *77*, 188-193.
131. Getachew, A.T., & Chun, B.S. (2017). Molecular modification of native coffee polysaccharide using subcritical water treatment: Structural characterization, antioxidant, and DNA protecting activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, *99*, 555-562.
132. Ghedira, K., Chemli, R., Richard, B., Nwillard, J.M., Zeches, M., & Le Men-Olivier, L. (1993). Two cyclopeptide alkaloids from *Ziziphys lotus*. *Phytochemistry*, *32*, 1591-1594.
133. Ghoneum, M. (1998). Anti-HIV activity in vitro of MGN-3, an activated arabinoxylane from rice bran. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *243*(1), 25-29.
134. Ghoneum, M., & Gollapudi, S. (2004). Phagocytosis of *Candida albicans* by metastatic and non metastatic human breast cancer cell lines in vitro. *Cancer Detection and Prevention*, *28*(1), 17-26.
135. Ghosh, S., Chisti, Y., & Banerjee, U.C. (2012). Production of shikimic acid. *Biotechnology Advances*, *30*, 1425-1431.
136. Ghourri, M., Zidane, L., El Yacoubi, H., Rochdi, A., Fadli, M., & Allal, D. (2012). Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville d'El Ouatia (Maroc Saharien). *Journal of Forestry Faculty*, *12*, 218-235.
137. Gibson, G.R., & Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, *125*, 1401.
138. Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X., & Cummings, J.H. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, *108*, 975-982.
139. Gibson, G.R., Probert, H.M., Van Loo, J., Rastall, R.A., & Roberfroid, M.B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, *17*(2), 259-275.
140. Gillet, S., Blecker, C., Paquot, M., & Richel, A. (2014). La relation structure chimique-propriétés physiques des galactomannanes extraits de la caroube. *Comptes Rendus Chimie*, *17*(4), 386-401.

141. Gírio, F.M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L.C., Marques, S., & Bogel-Lukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. *Bioresource Technology*, *101*(13), 4775-4800.
142. Gnanasambandam, R., & Proctor, A. (2000). Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, *68*, 327-332.
143. Gollapudi, S., & Ghoneum, M. (2008). MGN-3/Biobran, modified arabinoxylan from rice bran, sensitizes human breast cancer cells to chemotherapeutic agent, daunorubicin. *Cancer Detection and Prevention*, *32*(1), 1-6.
144. Gonçalves, V.M., Evtuguin, D.V., & Domingues, M.R.M. (2008). Structural characterization of the acetylated heteroxylan from the natural hybrid *Paulownia elongata/Paulownia fortunei*. *Carbohydrate Research*, *343*(2), 256-266.
145. Gonçalves, S., & Romano, A. (2016). The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (*Plantaginaceae*). *Journal of Industrial Crops and Products*, *83*, 213-226.
146. Gorelick, J., & Bernstein, N. (2014). Elicitation: An Underutilized Tool in the Development of Medicinal Plants as a Source of Therapeutic Secondary Metabolites. *Advances in Agronomy*, *124*, 201-230.
147. Gorenflot, R., & Bourdu, K. (1962). Critères biochimiques et taxonomie expérimentale du genre *Plantago*. *Bulletin de la Société Botanique de France*, *109*, 349-360.
148. Grace, O.M., Dzajic, A., Jäger, A.K., Nyberg, N.T., Önder, A., & Rønsted, N. (2013). Monosaccharide analysis of succulent leaf tissue in Aloe. *Phytochemistry*, *93*, 79-87.
149. Gresta, F., Ceravolo, G., Presti, V.L., D'Agata, A., Rao, R., & Chiofalo, B. (2017). Seed yield, galactomannan content and quality traits of different guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products*, *107*, 122-129.
150. Guo, Q., Cui, S.W., Wang, Q., Goff, D.H., & Smith, A. (2009). Microstructure and rheological properties of psyllium polysaccharide gel. *Food Hydrocolloids*, *23*, 1542-1547.
151. Guo, Q., Cui, S.W., Wang, Q., Young, J.C. (2008). Fractionation and physicochemical characterization of psyllium gum. *Carbohydrate Polymers*, *73*, 35-43.

152. Guo, Y., Li, S., Li, J., Ren, Z., Chen, F., & Wang, X. (2017). Anti-hyperglycemic activity of polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* var. *franchetii* Makino on alloxan-induced mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, *99*, 249-257.
153. Gupta, P.K. (2016). *Fundamentals of Toxicology: Essential Concepts and Applications*. Academic Press.
154. Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, *27*, 1-93.
155. Ha, T.J., Lee, J.H., Lee, M.H., Lee, B.W., Kwon, H.S., Park, C.H., Shim, K.B., Hyun-Tae Kim, H.T., Baek, I.Y., & Jang, D.S. (2012). Isolation and identification of phenolic compounds from the seeds of *Perilla frutescens* (L.) and their inhibitory activities against  $\alpha$ -glucosidase and aldose reductase. *Food Chemistry*, *135*(3), 1397-1403.
156. Habibi, Y., Mahrouz, M., & Vignon, M.R. (2002). Isolation and structure of D-xylans from pericarp seeds of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, *337*(17), 1593-1598.
157. Habibi, Y., Mahrouz, M., Marais, M.F., & Vignon, M.R. (2004). An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, *339*(6), 1201-1205.
158. Haddouchi, F., Mohammed Chaouche, T., Zaouali, Y., Ksouri, R., Attou, A., & Benmansour, A. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chemistry*, *141*, 253-258.
159. Hajjaj, G., & Bahlouli, A. (2016). Pharmacological properties of some medicinal plants, its components and using fields. *Fruits, Vegetables, and Herbs*, *3*, 41-56.
160. Hammiche, V., & Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer Victoria. *Journal of Ethnopharmacology*, *105*, 358-367.
161. Hammiche, V., Merad, R., & Azzouz, M. (2013). *Plantes toxiques à usage medicinal du pourtour mediterraneen*. ISBN 978-2-8178-0374-6 Springer Paris Berlin Heidelberg New York © Springer-Verlag France, Paris, 2013.
162. Han, J.Y. (2000). Structural characteristics of arabinoxylan in barley, malt, and beer. *Food Chemistry*, *70*(2), 131-138.

163. Han, N., Wang, L., Song, Z., Lin, J., Ye, C., Liu, Z., & Yin, J. (2016). Optimization and antioxidant activity of polysaccharides from *Plantago depressa*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *93*, 644-654.
164. Hanks, J.H. (1975). Hanks' balanced salt solution and pH control. *Tissue culture Association*, *1*(1), 3-4.
165. Haq C., Adams G.A. (1961). Oligosaccharides from the sap of sugar maple (*Acer saccharum* marsh). *Canadian Journal of Chemistry*, *39*, 1165-1170.
166. Harun, N.H., Septama, A.W., & Jantan, I. (2015). Immunomodulatory effects of selected Malaysian plants on the CD18/11a expression and phagocytosis activities of leukocytes. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *5*(1), 48-53.
167. He, S., Wang, X., Zhang, Y., Wang, J., Suna, H., Wang, J., Cao, X., & Ye, Y. (2016). Isolation and prebiotic activity of water-soluble polysaccharides fractions from the bamboo shoots (*Phyllostachys praecox*). *Carbohydrate Polymers*, *151*, 295-304.
168. Hirono, I., Mori, H., & Haga, M. (1978). Carcinogenic Activity of *Symphytum officinale*. *The National Cancer Institute*, *61*, 865-869.
169. Hoch, G., (2007). Cell wall hemicelluloses as mobile carbon stores in non-reproductive plant tissues. *Functional Ecology*, *21*, 823-834.
170. Hoffman, M., Jia, Z., Peña, M.J., Cash, M., Harper, A., Blackburn, A. R., Darvill, A., & York, W.S. (2005). Structural analysis of xyloglucans in the primary cell walls of plants in the subclass *Asteridae*. *Carbohydrate Research*, *340*(11), 1826-1840.
171. Hoffmann, J., Beutler, B., Blay, J.Y., Lonberg, N., Vivier, E., & Kourilsky, P. (2012). Immunité innée. De La Découverte Révolutionnaire A La Révolution Thérapeutique. Institut Océanographique De Paris. 31p.
172. Hoffmann, R.A., Kamerling, J.P., & Vliegenthart, J.F. (1992). Structural features of a water-soluble arabinoxylan from the endosperm of wheat. *Carbohydrate Research*, *226*(2), 303-311.
173. Hongpattarakere, T., Cherntong, N., Wichienchot, S., Kolida, S., & Rastall, R.A. (2012). In vitro prebiotic evaluation of exopolysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, *87*, 846-852.
174. Hongshu, Z., Jingga, Y., & Yan, Z. (2002). The glucomannan from ramie. *Carbohydrate Polymers*, *47*(1), 83-86.
175. Hota, D. (2007). Bioactive Medicinal Plants.

176. Houari, E.K.D., Chehma, A., & Labadi, S. (2013). Stratégies D'adaptation Anatomique de Quelques *Amarantaceae* Vivaces Spontanées du Sud-Est Algérien. *Bioressources*, 3(1), 15-21.
177. Houël, E. (2011). ETUDE DE SUBSTANCES BIOACTIVES ISSUES DE LA FLORE AMAZONIENNE Analyse de préparations phytothérapeutiques à base de *Quassia amara* L.(Simaroubaceae) et de *Psidium acutangulum* DC.(Myrtaceae) utilisées en Guyane française pour une indication antipaludique. Identification et analyse métabolomique d'huiles essentielles à activité antifongique. Thèse de doctorat, Chimie des substances naturelles, Université des Antilles-Guyane, 283P.
178. Hromadkova, Z., Kovacikova, J. & Ebringerová, A. (1999). Study of the classical and ultrasound-assisted extraction of the corn cob xylan. *Industrial Crops and Products*, 9, 101-109.
179. Hromádková, Z., Paulsen, B.S., Polovka, M., Košťálová, Z., & Ebringerová, A. (2013). Structural features of two heteroxylan polysaccharide fractions from wheat bran with anti-complementary and antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 22-30.
180. Hu, J.L., Nie, S.P., Li, C., Wang, S., & Xie, M.Y. (2017a). Ultrasonic irradiation induces degradation and improves prebiotic properties of polysaccharide from seeds of *Plantago asiatica* L. during in vitro fermentation by human fecal microbiota. *Food Hydrocolloids*.
181. Hu, J.L., Nie, S.P., Min, F.F., & Xie, M.Y. (2013). Artificial simulated saliva, gastric and intestinal digestion of polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1143-1150.
182. Hu, Y., Zhang, J., Zoua, L., Fu, C., Li, P., & Zhao, G. (2017b). Chemical characterization, antioxidant, immune-regulating and anticancer activities of a novel bioactive polysaccharide from *Chenopodium quinoa* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 622-629.
183. Huang, D., Nie, S., Jiang, L., & Xie, M. (2014). A novel polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. induces dendritic cells maturation through toll-like receptor 4. *International Immunopharmacology*, 18, 236-243.
184. Huisman, M.M.H., Weel, K.G.C., Schols, H.A., & Voragen, A.G.J. (2000). Xyloglucan from soybean (*Glycine max*) meal is composed of XXXG-type building units. *Carbohydrate Polymers*, 42(2), 185-191.



185. Hwang, H.J., Kim, S.W., Xu, C.P., Choi, J.W., & Yun, J.W. (2003). Production and molecular characteristics of four groups of exopolysaccharides from submerged culture of *Phellinus gilvus*. *Applied Microbiology*, 94, 708-719.
186. 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.
187. Iserin, P. (2001). Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition).
188. Ishii, T. (1997). Structure and functions of feruloylated polysaccharides. *Plant Science*, 127(2), 111-127.
189. Ishurd, O., Ali, Y., Wei, W., Bashir, F., Ali, A., Ashour, A., & Pan, Y. (2003). An alkali-soluble heteroxyylan from seeds of *Phoenix dactylifera* L. *Carbohydrate Research*, 338(15), 1609-1612.
190. Isogai, A. (1994). Allomorphs of cellulose and other polysaccharides. In *Cellulosic Polymers, Blends and Composites*, 1-24.
191. Izydorczyk, M.S., Macri, L.J., & MacGregor, A.W. (1998). Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides-II. Alkaliextractable  $\beta$ -glucans and arabinoxylans. *Carbohydrate Polymers*, 35(3), 259-269.
192. Jackson, C.L. (2007). Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology*, 17, 805-819.
193. Jakimow-Barras, N. (1973). Les polysaccharides des graines de quelques Liliacées et Iridacées. *Phytochemistry*, 12(6), 1331-1339.
194. Ji, X., Peng, Q., Yuan, Y., Shen, J., Xie, X., & Wang, M. (2017). Isolation, structures and bioactivities of the polysaccharides from jujube fruit (*Ziziphus jujuba* Mill.): A review. *Journal of Food Chemistry*, 227, 349-357.
195. Kabera, J.N., Semana, E., Mussa, A.R., & HE, X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377-392.
196. Kacem, N., Goossens, J.F., Duhal, N., Roumy, V., Hennebelle, T., Christen, P., Hostettmann, K., & Rhouati, S. (2014). Determination of alkaloids in endemic *Genista quadriflora* Munby (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 56, 83-87.
197. Kacem, N., Roumy, V., Duhal, N., Merouane, F., Neut, C., Christen, P., Hostettmann, K., & Rhouati, S. (2016). Chemical composition of the essential oil from

- Algerian *Genista quadriflora* Munby and determination of its antibacterial and antifungal activities. *Industrial Crops and Products*, 90, 87-93.
198. Kale, M.S., Yadav, M.P., Hicks, K.B., & Hanah, K. (2015). Concentration and shear rate dependence of solution viscosity for arabinoxylans from different sources. *Food Hydrocolloids*, 47, 178-183.
  199. Kalegowda, P., Chauhan, A.S., & Nanjaraj Urs, S.M. (2017). *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw cladode mucilage: Physico-chemical, rheological and functional behavior. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1057-1064.
  200. 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.
  201. Kamerling, J.P., & Gerwig, G.J. (2007). Structural analysis of naturally occurring sialic acids. *Glycobiology Protocols*, 69-91.
  202. Karaki, N., Aljawish, A., Humeau, C., Muniglia, L., & Jasniewski, J. (2016). Enzymatic modification of polysaccharides: Mechanisms, properties, and potential applications: A review. *Enzyme and Microbial Technology*, 90, 1-18.
  203. Kardošová, A., Malovíková, A., Pätoprstý, V., Nosal'ova, G., & Matáková, T. (2002). Structural characterization and antitussive activity of a glucuronoxylan from *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt. *Carbohydrate Polymers*, 47(1), 27-33.
  204. 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.
  205. Kayser, O., & Quax, W. (2006). Medicinal Plant Biotechnology. Wiley-VCH.
  206. Keirsse, J. (2003). Spectroscopie infrarouge déportée: mise au point d'un biocapteur pour l'imagerie métabolique et la sécurité microbiologique. Thèse de doctorat, chimie, Université Rennes 1, 123P.
  207. Kennedy, J.F. Sandhu, J.S., & Southgate, D.A.T. (1979). Structural data for the carbohydrate of Ispaghula Husk ex *Plantago ovata* Forsk. *Carbohydrate Research*, 75, 265-274.
  208. Khamtache-Abderrahim, S., Lequart-Pillon, M., Gontier, E., Gaillard, I., Pilard, S., Mathiron, D., Djoudad-Kadji, H., & Maiza-Benabdesselam, F. (2016). Isoquinoline alkaloid fractions of *Fumaria officinalis*: Characterization and evaluation

- of their antioxidant and antibacterial activities. *Industrial Crops and Products*, *94*, 1001-1008.
209. Khodaei, N., Fernandez, B., Fliss, I., & Karboune, S. (2016). Digestibility and prebiotic properties of potato rhamnogalacturonan I polysaccharide and its galactose-rich oligosaccharides/oligomers. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 1074-1084.
  210. Kim, H., Hong, H.D., & Shin, K.S. (2017). Structure elucidation of an immunostimulatory arabinoxylan-type polysaccharide prepared from young barley leaves (*Hordeum vulgare* L.). *Carbohydrate Polymers*, *157*, 282-293.
  211. 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.
  212. Knittel, D.N., Stintzing, F.C., & Kammerer, D.R. (2015). Metabolic fate of cardiac glycosides and flavonoids upon fermentation of aqueous sea squill (*Drimia maritima* L.) extracts. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *110*, 100-109.
  213. Koko, W.S., Mesaik, M.A., Yousaf, S., Galal, M., & Choudhary, M.I. (2008). In vitro immunomodulating properties of selected Sudanese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, *118*(1), 26-34.
  214. Koorbanally, N.A., Koorbanally, C., Harilal, A., Mulholland, D.A., & Crouch, N.R. (2004). Bufadienolides from *Drimia robusta* and *Urginea epigea* (Hyacinthaceae). *Journal of Phytochemistry*, *65*(23), 3069-3073.
  215. Korakli, M., Gänzle, M.G., & Vogel, R.F. (2002). Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Journal of Applied Microbiology*, *92*(5), 958-965.
  216. Krenn, L., & Kopp, B. (1998). Bufadienolides from animal and plant sources. *Phytochemistry*, *48*(1), 1-29.
  217. Krenn, L., Hüfner, A., Kastenhuber, A., & Speta, F. (2004). Chemotaxonomic relevance of cardenolides in *Urginea fugax*. *Phytochemistry*, *65*(21), 2881-2884.
  218. Krenn, L., Jelovina, M., & Kopp, B. (2000). New bufadienolides from *Urginea maritime* sensu strictu. *Fitoterapia*, *71*(2), 126-129.
  219. Ktari, N., Feki, A., Trabelsi, I., Triki, M., Maalej, H., Ben Slima, S., Nasri, M., Ben Amara, I., & Ben Salah, R. (2017a). Structure, functional and antioxidant properties in Tunisian beef sausage of a novel polysaccharide from *Trigonella foenum-graecum* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, *98*, 169-18.

220. Ktari, N., Trabelsi, I., Bardaa, S., Triki, M., Bkhairiaa, I., Ben Slama-Ben Salema, R., Nasri, M., & Ben Salah, R. (2017b). Antioxidant and hemolytic activities, and effects in rat cutaneous wound healing of a novel polysaccharide from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 625-634.
221. Kumar, C.S., Sivakumar, M., & Ruckmani, K. (2016). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Cyphomandra betacea* and its biological activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 682-693.
222. Kuroda, K.I. (2000). Pyrolysis-trimethylsilylation analysis of lignin: preferential formation of cinnamyl alcohol derivatives. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 56(1), 79-87.
223. Lawal, O.A., & Ogunwande, I.A. (2013). Essential Oils from the Medicinal Plants of Africa. *Medicinal Plant Research in Africa*, 5, 203-224.
224. Le Cabec, V., Cols, C., & Maridonneau-Parini, I. (2000). Nonopsonic phagocytosis of zymosan and *Mycobacterium kansasii* by CR3 (CD11b/CD18) involves distinct molecular determinants and is or is not coupled with NADPH oxidase activation. *Infection and Immunity*, 68(8), 4736-4745.
225. Le Houerou, H.N. (1990). Définition et limites bioclimatiques du sahara. *Journal of Sècheresse*, 1, 246-259.
226. Le Houerou, H.N. (1995). Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique-Diversité biologique, développement durable et désertisation. Montpellier : CIHEAM (Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes), 1995.- 397 p.
227. Leclere, L., Van Cutsem, P., & Michiels, C. (2013). Anti-cancer activities of pH-or heat-modified pectin. *Frontiers in Pharmacology*, 4.
228. Lefebvre, J., & Doublier, J.L. (2005). Rheological behavior of polysaccharides aqueous systems. In *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility* (pp. 357-394). Marcel Dekker New York.
229. Lefsih, K., Delattre, C., Pierre, G., Michaud, P., Aminabhavi, T.M., Dahmoune, F., & Madani, K. (2016). Extraction, characterization and gelling behavior enhancement of pectins from the cladodes of *Opuntia ficus indica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 645-652.
230. Lewalle, J. (1978). Les plantains du sous-genre *Psyllium subgeneris*. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, 2, 69-74.

231. Li, C., Li, X., You, L., Fu, X., & Liu, R.H. (2017a). Fractionation, preliminary structural characterization and bioactivities of polysaccharides from *Sargassum pallidum*. *Carbohydrate Polymers*, 155, 261-270.
232. Li, D.L., & Xing, F.W. (2016). Ethnobotanical study on medicinal plants used by local Hoklos people on Hainan Island, China. *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 358-368.
233. 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.
234. Li, L., Tsao, R., Liu, Z., Liu, S., Yang, R., Young, J.C., Zhu, H., Deng, Z., Xie, M., Fu, Z. (2005). Isolation and purification of acteoside and isoacteoside from *Plantago psyllium* L. by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1063, 161-169.
235. Li, Q., Liu, R., Wu, T., & Zhang, M. (2017b). Aggregation and rheological behavior of soluble dietary fibers from wheat bran. *Food Research International*.
236. Li, S., Gao, A., Dong, S., Chen, Y., Sun, S., Lei, Z., & Zhang, Z. (2017c). Purification, antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from soybean residue fermented with *Morchella esculenta*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96, 26-34.
237. Li, S., Shah, N.P. (2017). Modification sulfonée des polysaccharides de *Pleurotus eryngii* et *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275 et étude des activités antioxydantes à l'aide de modèles CCD et Caco-2. *Food Chemistry*, 225, 246-257.
238. Li, W., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., Gu, G., & Guo, Z. (2015). Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke. *Carbohydrate Polymers*, 121, 315-319.
239. Li, X., Shi, X., Wang, M. & Du, Y. (2011). Xylan chitosan conjugate-A potential food preservative. *Food Chemistry*,126, 520-525
240. Li, Y., He, T., Liang, R., Luo, Z., Zhu, Y., & Yang, C. (2017d). Preparation and Properties of Multifunctional Sinapic acid Corn Bran Arabinoxylan Esters. *International Journal of Biological Macromolecules*.
241. Liang, B., Jin, M., & Liu, H. (2011). Water-soluble polysaccharide from dried *Lycium barbarum* fruits: Isolation, structural features and antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 83,1947-1951.

242. Liao, H., Ai, W., Zhang, K., Nakauma, M., Funami, T., Fang, Y., Nishinari, K., Draget, K., & Phillips, G.O. (2015). Mechanisms of oligogulonate modulating the calcium-induced gelation of alginate. *Carbohydrate Polymers*, 74, 166-175.
243. Lim, T.K. (2013). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, volume 6.
244. Lim, T.K. (2014). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, Volume 7.
245. Ling, K.H., Kian, C.T., Hoon, T.C., (2009). A Guide to medicinal plants.
246. Liu, F., Zhu, Z.Y., Sun, X., Gao, H., & Zhang, Y.M. (2017a). The preparation of three selenium-containing *Cordyceps militaris* polysaccharides: Characterization and anti-tumor activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 196-204.
247. Liu, J., Willför, S., & Xu, C. (2015). A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1), 31-61.
248. Liu, Q., Cao, X., Zhuang, X., Han, W., Guo, W., Xiong, J., & Zhang, X. (2017b). Rice bran polysaccharides and oligosaccharides modified by *Grifola frondosa* fermentation: antioxidant activities and effects on the production of NO. *Food Chemistry*, 223, 49-53.
249. Longo, G. (2003). Medicinal Plants and their Utilization. Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies.
250. Lopes, S.M.S., Krausová, G., Carneiro, J.W.P., Gonçalves, J.E., Gonçalves, R.A.C., & De Oliveira, A.J.B. (2017). A new natural source for obtainment of inulin and fructo-oligosaccharides from industrial waste of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Food Chemistry*, 225, 154-161.
251. Lyczakowski, J. J., Wicher, K. B., Terrett, O. M., Faria-Blanc, N., Yu, X., Brown, D., Brown, D., Krogh, K.B.R., Dupree, P., & Busse-Wicher, M. (2017). Removal of glucuronic acid from xylan is a strategy to improve the conversion of plant biomass to sugars for bioenergy. *Biotechnology for Biofuels*, 10(1), 224.
252. Madgulkar, A.R., Rao, M.R.P., & Warriar, D. (2015). Characterization of Psyllium (*Plantago ovata*) polysaccharide and its uses. In K. G. Ramawat, & J. -M. Mérillon (Eds.), *Polysaccharides* (pp. 871-890). Switzerland: Springer International Publishing.
253. Maiza, K., Brac De La Perriere, R.A., & Hammiche, V. (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. *Journal of Médicaments et Aliments : L'Approche Ethno Pharmacologique*, 169-171.

254. Majewska-Sawka A., Nothnagel E.A. (2000). The multiple roles of arabinogalactan proteins in plant development. *Plant Physiology*, 122, 3-9.
255. Mäkeläinen, H., Juntunen, M., & Hasselwander, O. (2009). Prebiotic potential of xylo-oligosaccharides. In *Prebiotics and Probiotics Science and Technology* (pp. 245-258). Springer New York.
256. Malunga, L.N., Izydorczyk, M., & Beta, T. (2017). Effect of water-extractable arabinoxylans from wheat aleurone and bran on lipid peroxidation and factors influencing their antioxidant capacity. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 10, 20-26.
257. Mandal, G., & Das, A. (1980). Structure of the D-galactan isolated from Aloe barbadensis Miller. *Carbohydrate Research*, 86(2), 247-257.
258. Maqbool, M., Vidyadaran, S., George, E., & Ramasamy, R. (2011). Optimisation of laboratory procedures for isolating human peripheral blood derived neutrophils. *Medical Journal of Malaysia*, 66(4), 297.
259. Marcotte, M., Taherian, A.R., & Ramaswamy, H.S., (2001). Evaluation of rheological properties of selected salt enriched food hydrocolloids. *Food Engineering*, 48, 157-167.
260. Marles, R. J., & Farnsworth, N. R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2), 137-189.
261. Marques, G., Gutiérrez, A., José, C., & Evtuguin, D.V. (2010). Acetylated heteroxylan from Agave sisalana and its behavior in alkaline pulping and TCF/ECF bleaching. *Carbohydrate Polymers*, 81(3), 517-523.
262. Martin, C. A. (2004). Les oligosaccharides en tant qu'outils thérapeutiques dans les cancers et autres affections. Thèse de doctorat, Pharmacie, Université de Bordeaux 2.
263. Marx, J., Pretorius, E., & Bester, M.J. (2006). Effects of *Urginea sanguinea*, a traditional asthma remedy, on embryo neuronal development. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(3), 315-321.
264. 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.

265. Maurer-Menestrina, J., Sasaki, G.L., Simas, F.F., Gorin, P.A., & Iacomini, M. (2003). Structure of a highly substituted  $\beta$ -xylan of the gum exudate of the palm *Livistona chinensis* (Chinese fan). *Carbohydrate Research*, 338(18), 1843-1850.
266. Mazzutti, S., Riehl, C.A., Ibañez, E., & Ferreira, S.R. (2017). Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. *The Journal of Supercritical Fluids*, 119, 211-220.
267. Mebs, D., Wunder, C., Toennes, S.W. (2017). Poor sequestration of toxic host plant cardenolides and their rapid loss in the milkweed butterfly *Danaus chrysippus* (Lepidoptera: Nymphalidae: Danainae: Danaini). *Toxicon*, 131, 1-5.
268. Mediani, A., Abas, F., Khatib, A., Tand, C.P., Ismail, I.S., Shaari, K., Ismail, A., & Lajis, N.H. (2016). Phytochemical and biological features of *Phyllanthus niruri* and *Phyllanthus urinaria* harvested at different growth stages revealed by <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics. *Industrial Crops and Products*, 77, 602-613.
269. Mejri, J., Abderrabba, M., & Mondher, M. (2010). Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. *Industrial Crops and Products*, 32, 671-673.
270. Melo-Silveira, R.F., Fidelis, G.P., Costa, M.S.S.P., Telles, C.B.S., Dantas-Santos, N., Elias, S.D.O., & Rocha, H.A.O. (2011). In vitro antioxidant, anticoagulant and antimicrobial activity and in inhibition of cancer cell proliferation by xylan extracted from corn cobs. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(1), 409-426.
271. Mendis, M., & Simsek, S. (2014). Arabinoxylans and human health. *Food Hydrocolloids*, 42, 239-243.
272. Meng, M., Cheng, D., Han, L., Chen, Y., & Wang, C. (2017). Isolation, purification, structural analysis and immunostimulatory activity of water-soluble polysaccharides from *Grifola frondosa* fruiting body. *Polymers*, 157, 1134-1143.
273. Mengome, L.E., Voxeurb, A., Akuec, J.P., & Lerouge, P. (2014). Screening of antioxidant activities of polysaccharides extracts from endemic plants in Gabon. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3, 77-88.
274. Miao, M., Jia, X., Jiang, B., Wu, S., Cui, S.W., & Li, X. (2016). Elucidating molecular structure and prebiotics properties of bioengineered  $\alpha$ -D-glucan from *Leuconostoc citreum* SK24.002. *Food Hydrocolloids*, 54, 227-233.



275. Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H., & Neffati, M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, *13*, 380-386.
276. Minjares-Fuentes, R., Rodríguez-González, V.M., González-Laredo, R.F., EIM, V., González-Centenoa, M.R., & Femenia, A. (2017). Effect of different drying procedures on the bioactive polysaccharide acemannan from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller). *Carbohydrate Polymers*, *168*, 327-336.
277. Mittal, N., Mattu, P., & Kaur, G. (2016). Extraction and derivatization of *Leucaena leucocephala* (Lam.) galactomannan: Optimization and characterization. *International journal of Biological Macromolecules*, *92*, 831-841.
278. Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, *11*(3), 266-277.
279. Mollard, A., Joseleau, J.P. (1994). *Acacia senegal* cells cultured in suspension secrete a hydroxyproline-deficient arabinogalactan-protein. *Plant*.
280. Monsigny, M., Petit, C., & Roche, A.C. (1988). Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acid micromethod. *Analytical Biochemistry*, *175*, 525-530.
281. Monzote, L. (2010). Screening of Natural Products to Drug Discovery. Recent Progress in Medicinal Plants. *Journal of Drug Plants III*, *29*, 61-68.
282. Moodley, N., Crouch, N.R., & Mulholland, D.A. (2007). Bufadienolides from *Drimys macrocentra* and *Urginea riparia* (Hyacinthaceae: Urgineoideae). *Phytochemistry*, *68*(19), 2415-2419.
283. Mosihuzzman, M., Naheed, S., Hareem, S., Talib, S., Abbas, G., Khan, S. N., Choudhary, M.I., Sener, B., Tareen, R.B. & Israr, M. (2013). Studies on  $\alpha$ -glucosidase inhibition and anti-glycation potential of *Iris loczyi* and *Iris unguicularis*. *Life Sciences*, *92*(3), 187-192.
284. Mounanga, M.B., Mewono, L., & Angone, S.A. (2015). Toxicity studies of medicinal plants used in sub-Saharan Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, *174*, 618-627.
285. Muddathir, A.M., Yamauchi, K., Batubara, I., Mohieldin, E.A.M., & Mitsunaga, T. (2017). Anti-tyrosinase, total phenolic content and antioxidant activity of selected Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, *109*, 9-15.

286. Mueller, M., Čavarkapa, A., Unger, F.M., Viernstein, H., & Praznik, W. (2017). Prebiotic potential of neutral oligo- and polysaccharides from seed mucilage of *Hyptis suaveolens*, *Food Chemistry*, 221, 508-514.
287. Muralikrishna, G., Salimath, P.V., & Tharanathan, R.N. (1987). Structural features of an arabinoxylan and a rhamno-galacturonan derived from linseed mucilage. *Carbohydrate Research*, 161(2), 265-271.
288. Muschin, T., Budragchaa, D., Kanamoto, T., Nakashima, H., Ichiyama, K., Yamamoto, N., Shuqin, H., & Yoshida, T. (2016). Chemically sulfated natural galactomannans with specific antiviral and anticoagulant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 415-420.
289. Muschitz, A. (2009). Réponses physiologiques des végétaux supérieurs aux stress métalliques. Caractérisation du rôle des parois cellulaires dans les stratégies défensives des cellules de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) face aux éléments traces métalliques. Thèse de doctorat, Université D'artois, physiologie végétale, 155P.
290. Nandini, C.D., & Salimath, P.V. (2001). Structural features of arabinoxylans from sorghum having good roti-making quality. *Food Chemistry*, 74(4), 417-422.
291. Naran, R., Chen, G., & Carpita, N. C. (2008). Novel rhamnogalacturonan I and arabinoxylan polysaccharides of flax seed mucilage. *Plant Physiology*, 148(1), 132-141.
292. Nergard, C.S., Diallo, D., Inngjerdingen, K., Michaelsen, T.E., Matsumoto, T., Kiyohara, H., Yamada, H., & Paulsen, B.S. (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(1), 255-269.
293. Neyrinck, A.M., Possemiers, S., Druart, C., Van de Wiele, T., De Backer, F., Cani, P.D., & Delzenne, N.M. (2011). Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in bifidobacteria, Roseburia and Bacteroides/Prevotella in diet-induced obese mice. *PLoS one*, 6(6), e20944.
294. Nie, S., Cui, S.W., Xie, M., Phillips, A.O., & Phillips, G.O. (2013a). Bioactive polysaccharides from *Cordyceps sinensis*: Isolation, structure features and bioactivities. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 1(1), 38-52.
295. Nie, S.P., Wang, C., Cui, S.W., Wang, Q., Xie, M.Y., & Phillips, G.O. (2013b). A further amendment to the classical core structure of gum arabic (*Acacia senegal*). *Food Hydrocolloids*, 31(1), 42-48.

296. Nieto-Domínguez, M., de Eugenio, L.I., York-Durán, M.J., Rodríguez-Colinas, B., Plou, F.J., Chenoll, E., & Martínez, M.J. (2017). Prebiotic effect of xylooligosaccharides produced from birchwood xylan by a novel fungal GH11 xylanase. *Food Chemistry*, 232, 105-113.
297. Nilsson, M., Saulnier, L., Andersson, R., & Åman, P. (1996). Water unextractable polysaccharides from three milling fractions of rye grain. *Carbohydrate Polymers*, 30(4), 229-237.
298. Nishinari, K. (2006). Polysaccharide Rheology and In-Mouth Perception. *Food Polysaccharides and Their Applications*, 541-588.
299. Nishinari, K. (2009). Some thoughts on the definition of a gel. In *Gels: Structures, Properties, and Functions* (pp. 87-94). Springer, Berlin, Heidelberg.
300. Norum, M., Bøgwald, J., & Dalmo, R.A. (2005). Isolation and characterisation of spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen) macrophages. *Fish & Shellfish Immunology*, 18(5), 381-391.
301. Nose, M., Terawaki, K., & Ogihara, Y. (1997). The role of a crude polysaccharide fraction in the macrophage activation by “Shosaikoto”. *Phytomedicine*, 4(1), 23-26.
302. Nwokocha, L.M., & Williams, P.A. (2016). Rheological properties of a polysaccharide isolated from *Adansoniadigitata* leaves. *Food Hydrocolloids*, 58, 29-34.
303. Nwokocha, L.M., Senan, C., Williams, P.A., & Yadav, M.P. (2017a). Characterisation and solution properties of a galactomannan from *Bauhinia monandra* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 904-909.
304. Nwokocha, L.M., Williams, P.A., & Yadav, M.P. (2017b). Physicochemical characterisation of the galactomannan from *Delonix regia* seed. *Food Hydrocolloids*.
305. Okamoto, K. Yano, K. (2017). Al resistance and mechanical impedance to roots in *Zea mays*: Reduced Al toxicity via enhanced mucilage production. *Rhizosphere*, 3,60-66.
306. 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 Polymer*, 94,179-184.
307. O'Neill, M., Albersheim, P., & Darvill, A.G. (1990). Methods in plant biochemistry. *Carbohydrates, Academic, London*, 2, 441.

308. Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T.N., & Khelifi, D. (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 196-218.
309. Ould El Hadj, M.D., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H., & Chehma, A. (2003). Importance des plantes spontanées médicinales dans la pharmacopée traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional - Est algérien), *Journal of Sciences & Technologie*, 20, 73-78.
310. Ozenda, P. (1977). Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, 15, quai Anatole-France, Paris: 360-361.
311. Ozenda, P. (1983). Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris : 617 p.
312. Pan, Y., Wang, C., Chen, Z., Li, W., Yuan, G., & Chen, H. (2017). Physicochemical properties and antidiabetic effects of a polysaccharide from corn silk in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice. *Carbohydrate Polymers*, 164, 370-378.
313. Paulsen, B. (2001). Plant polysaccharides with immunostimulatory activities. *Current Organic Chemistry*, 5(9), 939-950.
314. Pawar, H., & Varkhade, C. (2014). Isolation, characterization and investigation of *Plantago ovata* husk polysaccharide as superdisintegrant. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 52-58.
315. Pawar, H.A., & Lalitha, K.G. (2014). Isolation, purification and characterization of galactomannans as an excipient from *Senna tora* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 167-175.
316. Peđa, M.J., Tuomivaara, S.T., Urbanowicz, B.R., O'Neill, M.A., & York, W.S. (2012). Methods for structural characterization of the products of cellulose-and xyloglucan-hydrolyzing enzymes. *Methods in Enzymology*, 510, 121-139.
317. Pérez, S., & Mazeau, K. (2005). Conformation, Structures, and Morphologies of Celluloses. In *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. New York: CRC; 2 edition, pp. 41768.
318. Pérez, S., Rodríguez-Carvajal, M. A., & Doco, T. (2003). A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. *Biochimie*, 85(1), 109-121.
319. Pérez-Martínez, A., Valentín, J., Fernández, L., Hernández-Jiménez, E., López-Collazo, E., Zerbes, P., Schwörer, E., Nuñez, F., Martín, I.G., Sallis, H., Díaz,

- M.A., Handgretinger, R., & Díaz, M.Á. (2015). Arabinoxylan rice bran (MGN-3/Biobran) enhances natural killer cell-mediated cytotoxicity against neuroblastoma in vitro and in vivo. *Cytotherapy*, 17(5), 601-612.
320. 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.
321. Petera, B. (2016). Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladodes de *Cereus triangularis*. Thèse de doctorat, Sciences des aliments, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 150P.
322. Petera, B., Delattre, C., Pierre, G., Wadouachi, A., Elboutachfati, R., Engel, E., Poughon, L., Michaud, P., & Fenoradosa, T.A. (2015). Characterization of arabinogalactan-rich mucilage from *Cereus triangularis* cladodes. *Carbohydrate Polymers*, 127, 372-380.
323. Petroni, L.M., Huffmanb, M.A., & Rodrigues, E. (2017). Medicinal plants in the diet of woolly spider monkeys (*Brachyteles arachnoides*, E. Geoffroy, 1806)-a bio-rational for the search of new medicines for human use? *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27, 135-142.
324. Petzold-Welcke, K., Schwikal, K., Daus, S., & Heinze, T. (2014). Xylan derivatives and their application potential—Mini-review of own results. *Carbohydrate Polymers*, 100, 80-88.
325. Picking, D. (2017). The Global Regulatory Framework for Medicinal Plants. *Current Trends in Pharmacognosy Research*, 35, 663-675.
326. 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.
327. Pierre, G. (2010). Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. Thèse de doctorat, Biochimie, Université de La Rochelle, 272P.
328. Pierre, G., Zhao, J.M., Orvain, F., Dupuy, C., Klein, G.L., & Graber, M., Maugard, T. (2014). Seasonal dynamics of extracellular polymeric substances (EPS)

- in surface sediments of a diatom-dominated intertidal mudflat (Marennes-Oléron, France). *Journal of Sea Research*, 92, 26-35.
329. Pinto M., Coelho E., Nunes A., Brandão T. & Coimbra M. A. (2015). Valuation of brewers spent yeast polysaccharides: A structural characterization approach. *Carbohydrate Polymers*, 116, 215-222.
330. Pinto, P.C., Evtuguin, D.V., & Neto, C.P. (2005). Structure of hardwood glucuronoxylans: modifications and impact on pulp retention during wood kraft pulping. *Carbohydrate Polymers*, 60(4), 489-497.
331. Pohl, T., Koorbanally, C., Crouch, N.R., & Mulholland, D.A. (2001). Bufadienolides from *Drimia robusta* and *Urginea altissima* (Hyacinthaceae). *Phytochemistry*, 58(4), 557-561.
332. Popov, S.V., Popova, G.Y., Ovodova, R.G., Bushneva, O.A., & Ovodov, Y.S. (1999). Effects of polysaccharides from *Silene vulgaris* on phagocytes. *International Journal of Immunopharmacology*, 21(9), 617-624.
333. Pouletty, N. (2010). Frottis sanguin: réalisation et examen systématique. *Point Vétérinaire*, 41(305).
334. Prajapati, V.D., Maheriya, P.M., Jani, G.K., Patil, P.D., & Patel, B.N. (2014). *Lepidium sativum* Linn.: A current addition to the family of mucilage and its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 72-80.
335. Praznik, W., & Spies, T. (1993). Fructo-oligosaccharides from *Urginea maritime*. *Carbohydrate Research*, 243(1), 91-97.
336. Pujol, C.A., Damonte, E.B., Turjan, J., Yanbo, K.Z., & Capek, P. (2016). The antiviral potency of *Fagus sylvatica* 4-O-Me-glucuronoxylan sulfates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 195-200.
337. Qian, J. Y., Bai, Y.Y., Tang, J., & Chen, W. (2015). Antioxidation and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of barley polysaccharides modified with sulfation. *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 104-111.
338. Quentin, F., Gallet, P.F., Guilloton, M., Quintard, B. (2015). Biochimie en 84 fiches (2ed). Paris.
339. Quézel, P. (1983). Flore et végétation actuelles de l'Afrique du nord, leur signification en fonction de l'origine, de Involution et des migrations des flores et structures de végétation passées. *Bothalia*, 14, 3 & 4, 411-416.
340. Quézel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique, 1170 p.

341. Rajagopalan, G., Shanmugavelu, K., & Yang, K.L. (2017). Production of prebiotic-xylooligosaccharides from alkali pretreated mahogany and mango wood sawdust by using purified xylanase of *Clostridium* strain BOH3. *Carbohydrate Polymers*, 167, 158-166.
342. Ramesh, H.P., & Tharanathan, R.N. (1999). Water-extracted polysaccharides of selected cereals and influence of temperature on the extractability of polysaccharides in sorghum. *Food Chemistry*, 64(3), 345-350.
343. Rao, E.D., Divya, K., Prathyusha, I.V.S.N., Krishna, R.C.H., & Chaitanya, K.V. (2017). Insect-Resistant Plants. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 12, 259-282.
344. Rao, M.S., & Muralikrishna, G. (2001). Non-starch polysaccharides and bound phenolic acids from native and malted finger millet (Ragi, *Eleusine coracana*, Indaf-15). *Food Chemistry*, 72(2), 187-192.
345. Raveendran, S., Yoshida, Y., Maekawa, T., & Kumar, D.S. (2013). Pharmaceutically versatile sulfated polysaccharide based bionano platforms. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 9(5), 605-626.
346. Ren, Y. Y., Zhu, Z. Y., Sun, H. Q., & Chen, L. J. (2017). Structural characterization and inhibition on  $\alpha$ -glucosidase activity of acidic polysaccharide from *Annona squamosa*. *Carbohydrate Polymers*, 174, 1-12.
347. Renault, E., Barbat-Rogéon, A., Chaleix, V., Calliste, C.A., Colas, C., & Gloaguen, V. (2014). Partial structural characterization and antioxidant activity of a phenolic-xylan from *Castanea sativa* hardwood. *International journal of biological macromolecules*, 70, 373-380.
348. Rincón, F., Muñoz, J., Ramírez, P., Galán, H., & Alfaro, M.C. (2014). Physicochemical and rheological characterization of *Prosopis juliflora* seed gum aqueous dispersions. *Food Hydrocolloids*, 35, 348-357.
349. Rodrigues, D., Walton, G., Sousa, S., Rocha-Santos, T.A.P., Duarte, A.C., Freitas, A.C., & Gomes, A.M.P. (2016). In vitro fermentation and prebiotic potential of selected extracts from seaweeds and mushrooms. *LWT-Food Science and Technology*, 73, 131-139.
350. Ross, I.A. (2005). Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. *Medicinal Plants of the World*, Volume 3.

351. Rossi, G., Capitani, L., Ceciliani, F., Restelli, L., & Paltrinieri, S. (2013). Hyposialylated  $\alpha$ 1-acid glycoprotein inhibits phagocytosis of feline neutrophils. *Research in Veterinary Science*, 95(2), 465-471.
352. Roulard, R., Petit, E., Mesnard, F., Rhazi, L. (2016). Molecular investigations of flaxseed mucilage polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 840-847.
353. Ruff, Y. (2008). Biopolymères dynamiques : Oligo- et polysaccharides . Thèse de doctorat, Strasbourg 1, 308P.
354. 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 and Technology*, 50, 1-16.
355. Sadat-Hosseini, M., Farajpour, M., Boroomand, N., & Solaimani-Sardouf, F. (2017). Ethnopharmacological studies of indigenous medicinal plants in the south of Kerman, Iran. *Journal of Ethnopharmacology*, 199, 194-204.
356. Saghir, S., Iqbal, M.S., Hussain, M.A., Koschella, A., & Heinze, T. (2008). Structure characterization and carboxymethylation of arabinoxylan isolated from Ispaghula (*Plantago ovata*) seed husk. *Carbohydrate Polymers*, 74(2), 309-317.
357. Sajdak, M., Chrubasik, M., & Muzyka, R. (2017). Chemical characterisation of tars from the thermal conversion of biomass by 1D and 2D gas chromatography combined with silylation. *Analytical and Applied Pyrolysis*, 124, 426-438.
358. Sajjan, S.U., & Salimath, P.V. (1986). Isolation of a neutral linear xylan from guar seed husk. *Carbohydrate Research*, 145(2), 348-350.
359. Samout, N., Ettayaa, A., Bouzennaa, H., Ncib, S., Elfekia, A. & Hfaiedh, N. (2016). Beneficial effects of *Plantago albicans* on high-fat diet-induced obesity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1768-1775.
360. Samuelsen, A. B. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1), 1-21.
361. Samuelsen, A., Lund, I., Djahromi, J., Paulsen, B., Wold, J., & Knutsen, S. (1999a). Structural features and anti-complementary activity of some heteroxylan polysaccharide fractions from the seeds of *Plantago major* L. *Carbohydrate Polymers*, 38(2), 133-143.
362. Samuelsen, A.B., Cohen, E.H., Paulsen, B.S., & Wold, J.K. (1996). In: Visser J, Voragen AGJ (eds) Pectins and Pectinases. Elsevier Science, Amsterdam, p 619.



363. Samuelsen, A.B., Cohen, E.H., Paulsen, B.S., Brüll, L.P., & Thomas-Oates, J. E. (1999b). Structural studies of a heteroxylan from *Plantago major* L. seeds by partial hydrolysis, HPAEC-PAD, methylation and GC-MS, ESMS and ESMS/MS. *Carbohydrate Research*, 315(3), 312-318.
364. Samuelsen, A.B., Paulsen, B.S., Wold, J. K., Knutsen, S.H., & Yamada, H. (1998). Characterization of a biologically active arabinogalactan from the leaves of *Plantago major* L. *Carbohydrate Polymers*, 35(3-4), 145-153.
365. Samuelsen, A.B., Paulsen, B.S., Wold, J. K., Otsuka, H., Yamada, H., & Espevik, T. (1995). Isolation and partial characterization of biologically active polysaccharides from *Plantago major* L. *Phytotherapy Research*, 9(3), 211-218.
366. Sánchez, C., Nigen, M., Tamayo, V.M., Doco, T., Williams, P., Amine, C., & Renard, D. (2017). Acacia gum: History of the future. *Journal of Food Hydrocolloids*, 1-21
367. Sánchez, M.P. (2006). Polysaccharides ayant une activité immuno-modulatrice chez les champignons indigènes du Québec. Thèse de doctorat, Biologie végétale, Université Laval, 86P.
368. Sánchez-Bastardo, N., Romero, A., & Alonso, E. (2017). Extraction of arabinoxylans from wheat bran using hydrothermal processes assisted by heterogeneous catalysts. *Carbohydrate Polymers*, 160, 143-152.
369. Sandhu, J.S., Hudson, G.J., & Kennedy, J.F. (1981). The gel nature and structure of the carbohydrate of ispaghula husk ex *Plantago ovata* Forsk. *Carbohydrate Research*, 93(2), 247-259.
370. Santander, S.P., Aoki, M., Hernandez, J.F., Pombo, M., Moins-Teisserenc, H., Mooney, N., & Fiorentino, S. (2011). Galactomannan from *Caesalpinia spinosa* induces phenotypic and functional maturation of human dendritic cells. *International Immunopharmacology*, 11(6), 652-660.
371. Sato, M., Sano, H., Iwaki, D., Kudo, K., Konishi, M., Takahashi, H., Asai, Y., Lmaizumi, H., & Kuroki, Y. (2003). Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NF- $\kappa$ B activation and TNF- $\alpha$  secretion are down-regulated by lung collectin surfactant protein A. *The Journal of Immunology*, 171(1), 417-425.
372. Saulnier, L., Guillon, F., Sado, P.E., Chateigner-Boutin, A.L., & Rouau, X. (2013). Plant cell wall polysaccharides in storage organs: xylans (food applications).

373. Saulnier, L., Marot, C., Chanliaud, E., & Thibault, J.F. (1995). Cell wall polysaccharide interactions in maize bran. *Carbohydrate Polymers*, 26(4), 279-287.
374. Schittenhelm, N., & Kulicke, W.M. (2000). Producing homologous series of molar masses for establishing structure-property relationships with the aid of ultrasonic degradation. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 201, 1976-1984.
375. Sendl, A., Wagner, H., Mulinacci, N., & Vincieri, F.F. (1993). Anti-inflammatory and immunologically active polysaccharides of *Sedum telephium*. *Phytochemistry*, 34(5), 1357-1362.
376. Sharaf, A.M., Elhaw, M.H. & Kassem, N.N. (2017). Separation and Identification Main Polyphenolic Compounds from *Urginea undulata*. *Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3, 31-36.
377. Shareef, A., Parnis C.J., Angove M.J., Wells J.D., & Johnson B.B., (2004). Suitability of N,O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide and N-(tert.-butyldimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide as derivatization reagents for the determination of the estrogens estrone and 17 alpha-ethinylestradiol by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1026, 295-300.
378. Shen, C.Y., Zhang, W.L., & Jiang, J.G. (2017). Immune-enhancing activity of polysaccharides from *Hibiscus sabdariffa* Linn. via MAPK and NF-κB signaling pathways in RAW264. 7 cells. *Functional Foods*, 34, 118-129.
379. Shi, L. (2016). Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 37-48.
380. Shi, L., Dong, Q., & Ding, K. (2014). Structure elucidation and immunomodulatory activity in vitro of a xylan from roots of *Cudrania tricuspidata*. *Food chemistry*, 152, 291-296.
381. Shirsand, S.B., Suresh, S., Para, M.S., Swamy, P.V., & Kumar, D.N. (2009). *Plantago ovata* mucilage in the design of fast disintegrating tablets. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(1), 41.
382. Silva, A.K.A., Silva, E.L., Oliveira, E.E., Nagashima, J.T., Soares, L. A.L., Medeiros, A.C., Araujo, J.H., Araujo, I.B., Carriço, A.S. & Egito, E.S.T. (2007). Synthesis and characterization of xylan-coated magnetite microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 334, 42-47.
383. Simas-Tosin, F. F., de Souza, L. M., Wagner, R., Pereira, G. C., Barraza, R. R., Wendel, C. F., Sasaki, G., Iacomini, M., & Gorin, P. A. (2013). Structural

- characterization of a glucuronoarabinoxylan from pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill) gum exudate. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 704-711.
384. Singdevsachan, S.K., Auroshree, P., Mishra, J., Baliyarsingh, B., Tayung, K., & Thatoi, H. (2016). Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties: A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 7, 1-14.
385. Singh, R.D., Banerjee, J., & Arora, A. (2015). Prebiotic potential of oligosaccharides: a focus on xylan derived oligosaccharides. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1), 19-30.
386. Singh, R.S., Singh, R.P., & Kennedy, J.F. (2016). Recent insights in enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 565-572.
387. Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
388. Skerka, A. C., & Zipfel P. F. (2008). Complement factor H related proteins in immune diseases. *Vaccine*, 26, I9 - I14.
389. Smith, C.E., Hammarström, L.L., & Persson, U.C. (1978). Macrophage-dependence of mitogen responsiveness: Macrophages exposed to zymosan enhance the response to polyanions. *Cellular Immunology*, 41(1), 134-149.
390. Sofowora, A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Ed. KARTHALA.
391. Soltani, E., Cerezuela, R., Charef, N., Mezaache-Aichour, S., Angeles Esteban, M., & Zerroug, M.M. (2017). Algerian propolis extracts: Chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate immune responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 62, 57-67.
392. Somerville, C. (2006). Cellulose synthesis in higher plants. *Annual Review Cell Developmental Biology*, 22, 53-78.
393. Soumyanath, A. (2005). *Traditional medicines for modern times: antidiabetic plants*. (Ed.). CRC Press.
394. Spies, T., Praznik, W., Hofinger, A., Altmann, F., Nitsch, E., & Wutka, R. (1992). The structure of the fructan sinistrin from *Urginea maritima*. *Carbohydrate Research*, 235, 221-230.

395. Srivastava, R., & Kulshreshtha, D. K. (1989). Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry*, 28(11), 2877-2883.
396. Stegelmeier, B.L. (2011). Pyrrolizidine Alkaloid Containing Toxic Plants (*Senecio*, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Amsinckia*, *Heliotropium*, and *Echium* spp). *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 27, 419-428.
397. Stephen, A.M. (1983). Other plant polysaccharides. *The Polysaccharides*, 2, 97-193.
398. Steven, M.M., Lennie, S.E., Sturrock, R.D., & Gemmell, C.G. (1984). Enhanced bacterial phagocytosis by peripheral blood monocytes in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 43(3), 435-439.
399. Størseth, T.R., Chauton, M.S., & Krane, J. (2008). HR MAS NMR Spectroscopy of Marine Microalgae, Part 2: <sup>13</sup>C and <sup>13</sup>C HR MAS NMR Analysis Used to Study Fatty Acid Composition and Polysaccharide Structure. In *Modern Magnetic Resonance* (pp. 953-957). Springer Netherlands.
400. Strnad, S., Velkova, N., Saake, B., Doliska, A., Bracic, M., & Zemljic, L. F. (2013). Influence of sulfated arabino- and glucuronoxylans charging-behavior regarding antithrombotic properties. *Reactive and Functional Polymers*, 73(12), 1639-1645.
401. Su, W.F. (2013). *Principles of Polymer Design and Synthesis* (Vol. 82). Springer Science & Business Media.
402. Sukri, S.S.M., & Sakinah, A.M. (2017). Production of High Commercial Value Xylooligosaccharides from Meranti Wood Sawdust Using Immobilised Xylanase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-13.
403. Sun, H., Ni, X., Zeng, D., Zou, F., Yang, M., Peng, Z., Zhou, Y., Zeng, Y., Zhu, H., Wang, H., Yin, Z., Pan, K., & Jing, B. (2016). Bidirectional immunomodulating activity of fermented polysaccharides from *Yupingfeng*. *Journal of Research in Veterinary Science*, 110, 22-28.
404. Svoboda, K.P., Svoboda, T.G., & Syred, A.D. (2000). *Secretory structures of aromatic and medicinal plants: a review and atlas of micrographs*. Microscopix Publications.
405. Synytsya, A., Mičková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., Kovářiková, E., & Čopíková, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76, 548-556.

406. Tabasum, S., Noreen, A., Kanwal, A., Zuber, M., Anjum, M.N, &Zia, H.M. (2017). Glycoproteins functionalized natural and synthetic polymers for prospective biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 748-776.
407. Takshak, S., &Agrawal, S.B. (2015). Defence strategies adopted by the medicinal plant *Coleus forskohlii* against supplemental ultraviolet-B radiation: Augmentation of secondary metabolites and antioxidants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 97, 124-138
408. Tamura, Y., & Nishibe, S. (2002). Changes in the concentrations of bioactive compounds in plantain leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2514-2518.
409. 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., & Sasaki G.L.I., Iacomini, M. (2010). An arabinogalactan with anti-ulcer protective effects isolated from *Cereus peruvianus*. *Carbohydrate Polymers*, 82,714-721.
410. Tandon, N., &Yadav, S.S. (2017). Contributions of Indian Council of Medical Research (ICMR) in the area of Medicinal plants/Traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 197, 39-45.
411. Taskova, R., Evstatieva, L., Handjieva, N., &Popov, S. (2002). Iridoid Patterns of Genus *Plantago* L. and Their Systematic Significance. *Naturforsch. Z*, 57, 42-50.
412. Taubner, T., Marounek, M., & Synytsya, A. (2017). Preparation and characterization of amidated derivatives of alginic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*. 103, 202-207.
413. Tavanti, A., Campa, D., Bertozzi, A., Pardini, G., Naglik, J.R., Barale, R., & Senesi, S. (2006). *Candida albicans* isolates with different genomic backgrounds display a differential response to macrophage infection. *Microbes and Infection*, 8(3), 791-800.
414. Telefo, P.B., Lienou, L.L., Yemele, M.D., Lemfack, M.C., Mouokeu, C., Goka, C.S., Tagne, S.R., & Moundipa, F.P. (2011). Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of female infertility in Baham, Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology*, 136, 178-187.
415. Tenkanen, M., & Siika-aho, M. (2000). An  $\alpha$ -glucuronidase of *Schizophyllum commune* acting on polymeric xylan. *Journal of Biotechnology*, 78(2), 149-161.

416. 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.
417. Thomas, J., Darvill, A.G., & Albersheim, P. (1983). Characterization of cell-wall polysaccharides from suspension-cultured cells of Douglas fir. *Plant Physiology*, 72, 59-59.
418. Tigrine-Kordjani, N., Meklati, B, B.Y., & Chemat, F. (2006). Analysis by gas chromatography mass spectrometry of the essential oil of *Zygophyllum album* L., an aromatic and medicinal plant growing in Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, 16, 187-191.
419. 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.
420. 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.
421. Tischer, C.A., Iacomini, M., & Gorin, P.A.J. (2002). Structure of the arabinogalactan from gum tragacanth (*Astragalus gummifer*). *Carbohydrate Research*, 337, 1647-1655.
422. Tong, H., Liang, Z., & Wang, G. (2008). Structural characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Physalis alkekengi* L. *Carbohydrate Polymers*, 71, 316-323.
423. Trivedi, P.C. (2009). Medicinal plants. Utilisation and Conservation.
424. Tutel, B., Kandemir, I., Kuş, S., & Kence, A. (2005). Classification of Turkish *Plantago* L. Species Using Numerical Taxonomy. *Turkish Journal of Botany*, 29, 51-61.
425. Twentyman, L.R., & Ffhom, M.B. (1984). The Liliaceae. *The British Homoeopathic Journal*, 73, 125-131.
426. Ünlu, C.H., Günister, E. & Atici, O. (2009). Synthesis and characterization of NaMt biocomposites with corn cob xylan in aqueous media. *Carbohydrate Polymers*, 76, 585-592.
427. Upasani, S.V., Beldar, V.G., Tatiya, A.U., Upasani, M.S., Surana, S.J., & Pati, D.S. (2017). Ethno medicinal plants used for snake bite in India: A brief overview. *Integrative Medicine Research*, 6, 114-130.

428. Vaikousi, H., Biliaderis, C.G., & Izydorczyk, M.S. (2004). Solution flow behavior and gelling properties of water-soluble barley (1→ 3, 1→ 4)-β-glucans varying in molecular size. *Cereal Science*, 39(1), 119-137.
429. Van Craeyveld, V., Delcour, J.A., & Courtin, C.M. (2009). Extractability and chemical and enzymic degradation of psyllium (*Plantago ovata* Forsk) seed husk arabinoxylans. *Food Chemistry*, 112, 812-819.
430. Vardakou, M., Palop, C.N., Christakopoulos, P., Faulds, C.B., Gasson, M.A., & Narbad, A. (2008). Evaluation of the prebiotic properties of wheat arabinoxylan fractions and induction of hydrolase activity in gut microflora. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1), 166-170.
431. Varner, J.E., & Lin, L.S. (1989). Plant cell wall architecture is revealed by rapid-freezing and deep-etching. *Protoplasma*, 56, 231-239.
432. Verbeken, D., Dierckx S., & Dewettinck, K. (2003). Exudate gums: occurrence, production, and applications. *Applied Microbiology Biotechnology*, 63, 10-21.
433. Verma, N., & Shukla, S. (2015). Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2, 105-113.
434. Verpoort, R. (2017). New times for traditional medicine research. *Journal of Ethnopharmacology*, 197, 1.
435. Viana, R.L.S, Soeiro, V.C., Melo-Silveira, R.F., Câmara, R.B.G., Farias, E.H.C., & Rocha, H.A.O. (2013). Antioxidant activities of xylan fractions from agricultural byproduct. XLII Annual Meeting of SBBq.
436. Vierhuis, E., York, W.S., Kolli, V.K., Vincken, J.P., Schols, H.A., Van Alebeek, G.J.W., & Voragen, A.G. (2001). Structural analyses of two arabinose containing oligosaccharides derived from olive fruit xyloglucan: XXSG and XLSG. *Carbohydrate Research*, 332(3), 285-297.
437. Vignon, M.R., & Gey, C. (1998). Isolation, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR studies of (4-O-methyl-D-glucurono)-D-xylans from luffa fruit fibres, jute bast fibres and mucilage of quince tree seeds. *Carbohydrate Research*, 307(1), 107-111.
438. 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.

439. Vincken, J.P., Wijsman, A.J., Beldman, G., Niessen, W.M., & Voragen, A.G. (1996). Potato xyloglucan is built from XXGG-type subunits. *Carbohydrate Research*, 288, 219-232.
440. Vincken, J.P., York, W.S., Beldman, G., & Voragen, A.G. (1997). Two general branching patterns of xyloglucan, XXXG and XXGG. *Plant Physiology*, 114(1), 9.
441. Voisin A. (1987). Utilisation des plantes médicinales dans le souf au 19 ème siècle. Le Sahara, 1<sup>er</sup> trimestre, 100, 25-28.
442. 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.
443. 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.
444. Waffenschmidt, S., & Jaenicke, L. (1987). Assay of reducing sugars in the nanomole range with 2,2'-bicinchoninate. *Analytical Biochemistry*, 165(2), 337-340.
445. Wagner, H., & Jordan, E. (1988). An immunologically active arabinogalactan from *Viscum album* „berries“. *Phytochemistry*, 27(8), 2511-2517.
446. Wagner, H.K., & Wolff, P.M. (Eds.). (2012). New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity: *Proceedings of the First International Congress on Medicinal Plant Research*, Section A, Held at the University of Munich, Germany, September 6-10, 1976. Springer Science & Business Media
447. Wang, J., Liu, W., Chen, Z., & Chen, H. (2017a). Physicochemical characterization of the oolong tea polysaccharides with high molecular weight and their synergistic effects in combination with polyphenols on hepatocellular carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 160-170.
448. Wang, J., Nie, S., Chen, S., Phillips, A.O., Phillips, G.O., Li, Y., & Cui, S.W. (2017b). Structural characterization of an  $\alpha$ -1,6-linked galactomannan from natural *Cordyceps sinensis*. *Food Hydrocolloids*. In press.
449. Wang, L., Hongbin, Z., Xiaoyan, Z., & Chen, Z. (2008). Purification and identification of a novel heteropolysaccharide RBPS2a with anti-complementary activity from defatted rice bran. *Food Chemistry*, 110, 150-155.



450. Wang, L., Li, Y., Zhu, L., Yin, R., Wang, R., Luo, X., & Chen, Z. (2016). Antitumor activities and immunomodulatory of rice bran polysaccharides and its sulfates in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 424-432.
451. Wang, S., & Zhu, F. (2016). Antidiabetic dietary materials and animal models. *Food Research International*, 85, 315-331.
452. Wang, X., Huang, H., Yang, F., Sun, H., Zhou, X., Guo, Y., Wang, X., & Zhang, M. (2015). Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics in vitro. *Carbohydrate Polymers*, 125, 232-240.
453. Wannes, W., & Marzouk, B. (2016). Research progress of Tunisian medicinal plants used for acute diabetes. *Journal of Acute Disease*, 5(5), 357-363.
454. Warrand J., (2004). Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitatissimum*). Thèse de doctorat, Biochimie et bioconversions, Université de Picardie Jules Verne, 238p.
455. Watanabe, T., Mitsuishi, Y., & Kato, Y. (1999). Isolation and characterization of an acidic xylan from Jojoba (*Simmondsia chinensis*) hulls. *Applied Glycoscience*, 46(3), 281-284.
456. Wink, M. (2007). Bioprospecting: The Search for Bioactive Lead Structures from Nature. *Journal of Medicinal Plant Biotechnology*, 1, 97-115.
457. Wolff, K., & Schaal, B. (1992). Chloroplast DNA variation within and among five *Plantago* species. *Evolutionary Biology*, 5, 325-344.
458. Wood, P.J., Weisz, J., Beer, M.U., Newman, C.W., & Newman, R.K. (2003). Structure of (1→3)(1→4)- $\beta$ -D-glucan in waxy and nonwaxy barley. *Cereal Chemistry*, 80(3), 329-332.
459. Wood, P.J., Weisz, J., & Blackwell, B.A. (1994). Structural studies of (1→3)(1→4)- $\beta$ -D-glucan by  $^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal chemistry (USA)*.
460. Wrigstedt, P., Kylli, P., Pitkanen, L., Nousiainen, P., Tenkanen, M., & Sipila, J. (2010). Synthesis and antioxidant activity of hydroxycinnamic acid xylan esters. *Agricultural and food chemistry*, 58(11), 6937-6943.
461. Wu, S., Du, Y., Hu, Y., Shi, X., & Zhang, L. (2013). Antioxidant and antimicrobial activity of xylan-chitoooligomer-zinc complex. *Food Chemistry*, 138(2), 1312-1319.

462. Wu, S., Fu, X., You, L., Mehmood Abbasi, A., Meng, H., Liu, D., & Muhammad Aadil, R. (2016). Antioxidant, antitumor and immunomodulatory activities of water-soluble polysaccharides in *Abrus cantoniensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 707-716.
463. Wyatt, P. J. (1993). Light scattering and absolute characterization of macromolecules. *Analytica Chimica Acta*, 272, 1-40.
464. Xie, J. H., Tang, W., Jin, M. L., Li, J. E., & Xie, M. Y. (2016). Recent advances in bioactive polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Zizyphus jujuba* Mill, *Plantago spp.*, and *Morus spp.*: Structures and functionalities. *Food Hydrocolloids*, 60, 148-160.
465. Xu, H., Zhang, Y., Zhang, J. & Chen, D. (2007). Isolation and characterization of an anti-complementary polysaccharide D3-S1 from the roots of *Bupleurum smithii*. *International Immunopharmacology*, 7, 175 - 182.
466. Xu, Q., Wang, W., Qu, C., Gu, J., Yin, H., Jia, Z., Song, L., & Du, Y. (2017). Chitosan oligosaccharides inhibit epithelial cell migration through blockade of N-acetylglucosaminyltransferase V and branched GlcNAc structure. *Carbohydrate Polymers*, 170, 241-246.
467. Yamada, H. (1996). Contribution of pectins on health care. *Progress in Biotechnology*, 14, 173-190.
468. Yamada, H., Nagai, T., Cyong, J.C., Otsuka, Y., Tomoda, M., Shimizu, N., & Gonda, R. (1986). Relationship between chemical structure and activating potencies of complement by an acidic polysaccharide, plantago-mucilage A, from the seed of *Plantago asiatica*. *Carbohydrate research*, 156, 137-145.
469. Yamada, H., Nagai, T., Cyong, J.C., Otsuka, Y., Tomoda, M., Shimizu, N., & Shimada, K. (1985). Relationship between chemical structure and anti-complementary activity of plant polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 144(1), 101-111.
470. Yamada, H., Ra, K.S., Kiyohara, H., Cyong, J.C., Yang, H.C., & Otsuka, Y. (1988). Characterization of anti-complementary neutral polysaccharides from the roots of *Bupleurum falcatum*. *Phytochemistry*, 27(10), 3163-3168.
471. Yamagaki, T., Tsuji, Y., Maeda, M., & Nakanishi, H. (1997). NMR spectroscopic analysis of sulfated  $\beta$ -1, 3-xylan and sulfation stereochemistry. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 61(8), 1281-1285.

472. Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., & Terao, J. (1998). HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(6), 1201-1204.
473. Yamasaki, T., Enomoto, A., Kato, A., Ishii, T., Kameyama, M., Anzai, H., & Shimizu, K. (2012). Enzymatically derived aldouronic acids from *Cryptomeria japonica* arabinoglucuronoxylan. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1425-1432.
474. Yang, L., & Zhang, L. M. (2009). Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*, 76(3), 349-361.
475. Yaya, H.S., & Kengne, A.P. (2014). Le défi de la prévention des maladies cardiovasculaires et ses perspectives en Afrique. Presses de l'Université Laval.
476. Ye, C.L., Hu, W.L., & Dai, D.H. (2011). Extraction of polysaccharides and the antioxidant activity from the seeds of *Plantago asiatica* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(4), 466-470.
477. Yehya, A.H.S., Asif, M., Tan, Y.J., Sasidharana, S., Abdul Majid, A.M.S., & Ein Oon, C. (2016). Broad spectrum targeting of tumor vasculature by medicinal plants: An updated review. *Journal of Herbal Medicine*.
478. Yin, J., Lina, H., Li, J., Wang, Y., Cui, S.W., Nie, S., & Xie, M. (2012b). Structural characterization of a highly-branched polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2416-2424.
479. Yin, J.Y., Chen, H.H., Lin, H.X., Xie, M.Y., & Nie, S.P. (2016a). Structural Features of Alkaline Extracted Polysaccharide from the Seeds of *Plantago asiatica* L. and Its Rheological Properties. *Molecules*, 21(9), 1181.
480. Yin, J.Y., Lin, H.X., Nie, S.P., Cui, S.W., & Xie, M.Y. (2012a). Methylation and 2D NMR analysis of arabinoxylan from the seeds of *Plantago asiatica* L. *Carbohydrate Polymers*, 88(4), 1395-1401.
481. Yin, J.Y., Wang, J.Q., Lin, H.X., Xie, M.Y., & Nie, S.P. (2016b). Fractionation, physicochemical properties and structural features of non-arabinoxylan polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. *Food Hydrocolloids*, 55, 128-135.
482. Yu, L., Yakubov, G.E., Zeng, W., Xing, X., Stenson, J., Bulone, V., & Stokes, J.R. (2017). Multi-layer mucilage of *Plantago ovata* seeds: Rheological differences arise from variations in arabinoxylan side chains. *Carbohydrate Polymers*, 165, 132-141.

483. Yue, H., Liu, Y., Qu, H., & Ding, K. (2017). Structure analysis of a novel heteroxylan from the stem of *Dendrobium officinale* and anti-angiogenesis activities of its sulfated derivative. *International Journal of Biological Macromolecules*.
484. Zárate, R., El Jaber-Vazdekis, N., Cequier-Sánchez, E., Gutiérrez-Nicolás, F., & Ravelo, A.G. (2008). Biotechnology for the production of plant natural products. *Studies in Natural Products Chemistry*, 34, 309-392.
485. Zelaya, V.M., Fernández, P.V., Vega, A.S., Mantese, A.I., Federico, A. A., & Ciancia, M. (2017). Glucuronoarabinoxylans as major cell walls polymers from young shoots of the woody bamboo *Phyllostachys aurea*. *Carbohydrate Polymers*, 167, 240-249.
486. Zhang, S., Guan, Y., Fu, G.Q., Chen, B.Y., Peng, F., Yao, C.L., & Sun, R.C. (2014). Organic/inorganic superabsorbent hydrogels based on xylan and montmorillonite. *Nanomaterials*, 2.
487. Zhang, S., & Li, X. Z. (2015). Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase by polysaccharides from the fruit hull of *Camellia oleifera* Abel. *Carbohydrate Polymers*, 115, 38-43.
488. Zhao, H., Wang, Q., Sun, Y., Yang, B., Wang, Z., Chai, G., Guan, Y., Zhu, W., Shu, Z., Lei, X., & Kuang, H. (2014). Purification, characterization and immunomodulatory effects of *Plantago depressa* polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 112, 63-72.
489. Zhou, L., Wang, J., Wang, K., Xu, J., Zhao, J., Shan, T., & Luo, C. (2012). Secondary Metabolites with Antinematodal Activity from Higher Plants. *Studies in Natural Products Chemistry*, 37, 67-114.
490. Zhou, X., Deng, Q., Chen, H., Hu, E., Zhao, C., & Gong, X. (2017). Characterizations and hepatoprotective effect of polysaccharides from *Mori Fructus* in rats with alcoholic-induced liver injury. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 60-67.
491. Ziani, B.E.C., Calhelha, R.C., Barreira, J.C.M., Barros, L., Hazzit, M., & Ferreira, I.C.F.R. (2015). Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. *Industrial Crops and Products*, 77, 582-589.
492. Ziolkovska, A. (2012). Laws of flaxseed mucilage extraction. *Food Hydrocolloids*, 26, 197-204.

493. Zong, A., Cao, H., & Wang, F. (2012). Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1395-1410.
494. Zou, S., Zhang, X., Ya, W., Niu, Y., & Ga, X. (2010). Structure characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L. *Carbohydrate Polymers*, 80, 1161-1167.
495. Zoubiri, S., & Baaliouamer, A. (2011). Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. *Food Chemistry*, 129, 179-182.
496. Zubay, G.L., Parson, W.W., & Vance, D.E. (1995). *Principles of Biochemistry*. Wm. C. Brown.
497. Zuzarte, M., & Salgueiro, L. (2015). Essential Oils Chemistry. *Bioactive Essential Oils and Cancer*, 2, 19-63.
498. 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.



## Résumé

L'étude des polysaccharides de *Plantago notata* Lagasca. (*Plantaginaceae*) et *Urginea noctiflora* Batt. et Trab (*Liliaceae*), deux plantes spontanées à caractère médicinal récoltées au Sahara Septentrional Est Algérien, a permis d'isoler plusieurs fractions polysaccharidiques hydro- et alcali-solubles. Les analyses de la composition globale de ces fractions ont montré que l'extrait des graines de *P.notata* est la fraction la plus riche en oses totaux (85,55 %). Cette étude a consisté essentiellement en à définir les conditions d'extraction des polysaccharides hydro solubles, à en identifier la structure, à en caractériser les propriétés physico-chimiques et à explorer les activités biologiques. Ce travail a conduit à l'identification d'un hétéroxylane de haute masse molaire ( $2,3 \times 10^6$  g/mol). Ce polysaccharide est constitué d'une chaîne principale de  $\beta$ -(1,3)-D-Xylp et  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp substituée en positions O-2 et O-3 de  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp par des chaînes latérales et des monosaccharides terminales comme  $\alpha$ -L-Araf-(1,3)- $\beta$ -D-Xylp,  $\beta$ -D-Xylp-(1,2)- $\beta$ -D-Xylp, T-Xylp ou T-Araf. L'analyse physico-chimique de ce polysaccharide dans des régimes dilués et semi-dilués a montré que l'hétéroxylane présente un comportement rhéofluidifiant, ayant des propriétés de gel faible. La mise en œuvre de la digestibilité de cette hétéroxylane a conduit à l'obtention d'un polymère non digestible avec des propriétés prébiotiques.

**Mots clés :** Polysaccharides, mucilages, hétéroxylanes, plantes spontanées, potentiel biologique, Sahara.

## Abstract

The study of polysaccharides of *Plantago notata* Lagasca (*Plantaginaceae*) and *Urginea noctiflora* Batt. and Trab (*Liliaceae*), two spontaneous medicinal plants harvested from East Septentrional Algerian Sahara, allowed to isolate several hydro-and alkali-soluble polysaccharides fractions. Chemical composition analyses of these fractions showed that *P.notata* seeds extract was the fraction that have the highest neutral sugars composition (85.55%). In this study we have defined an extraction procedure to collect water-soluble polysaccharides and characterized their structure, prior to investigate their physico-chemical properties and biological activities. Structural analyses have revealed that *P.notata* polysaccharide is a heteroxylan with a backbone composed of  $\beta$ -(1,3)-D-Xylp and  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp. The backbone might be highly branched, through O-2 and O-3 positions of  $\beta$ -(1,4)-D-Xylp by various side chains and terminal monosaccharides such as  $\alpha$ -L-Araf-(1,3)- $\beta$ -D-Xylp,  $\beta$ -D-Xylp-(1,2)- $\beta$ -D-Xylp, T-Xylp or T-Araf. The physico-chemical analysis of this polysaccharide in dilute and semi-diluted regimes showed that this heteroxylan exhibited a molecular weight of  $2.3 \times 10^6$  g/mol and a pseudoplastic behavior. The use of the digestibility of this heteroxylan has led to the production of a non-digestible polymer with prebiotic properties.

**Keywords:** Polysaccharides, mucilages, heteroxylans, spontaneous plants, biological potential, Sahara.