

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb de Blida
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire présenté par
BENACHOUR Kenza
En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie des Substances Naturelles

Titre

**Application de l'hydrolyse enzymatique assistée par
ultrasons dans l'extraction des polysaccharides de l'espèce
«*ALLIUM SATIVUM.L*»**

Etude de l'activité biologique

Soutenu publiquement en juin 2016 devant le jury composé de :

N.. BOUZIDI	MCB	Président	Université de Blida
O. TOUAFEK	MCB	Examinatrice	Université de Blida
K. BOUTEMAK	MCB	Promotrice	Université de Blida

Promotion 2015-2016

Remerciements

Avant tout, je remercie Allah le Tout Puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Au terme de ce modeste travail, je tiens surtout à adresser mes plus vifs remerciements à ma promotrice Mme BOUTEMAK Khalida, qui m'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, par sa grande patience, par sa disponibilité et ses conseils judicieux.

Un remerciement chaleureux et sincère à Mr M. EL-HATTAB à Mme Y. DAGHBOUCHE, Mme O. TOUAFEK .N. BOUZIDI et S. KASMI qui ont fournis beaucoup d'efforts durant tout le long du cycle Master.

J'exprime ma profonde gratitude à tous les ingénieurs du Laboratoire de Chimie notamment Mme Asma et, Monsieur Issa ainsi que Melle Amina pour m'y avoir accueillie durant la réalisation de ce travail et permis de mener dans de bonnes conditions.

A tous les étudiants de Master de la promotion 2016.

A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail

:

A mes très chers parents

Sans eux je ne peux être ce que je suis, aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimée toute ma reconnaissance et tout l'amour que je leur porte.

Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices et vos encouragements.

Que dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A ma sœur

Pour leur soutien tout le long de mes études.

A mes amis ainsi que les étudiants de ma promotion de Master

A toute ma chère famille

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

Résumé

Ce présent travail a pour objectif l'extraction et l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydant des polysaccharides hydrosolubles de l'espèce *Allium sativum L.* extraits par les différents procédés : macération, extraction assistée par ultrasons, extraction assistée par cellulase, extraction par ultrason-assistée par hydrolyse enzymatique et extraction assistée par hydrolyse enzymatique –ultrason. Les résultats ont montré que le meilleur rendement d'extraction des polysaccharides (46.6%) a été obtenu avec l'extraction assistée par la cellulase. Cependant, les résultats de la concentration des oses totaux des extraits bruts des polysaccharides ont montré que la meilleur teneur en polysaccharides hydrosolubles était obtenu avec l'extraction par ultrason. L'évaluation de l'activité antioxydant par la méthode de piégeage du radical libre DPPH a montré que les polysaccharides présentaient un pouvoir antioxydant faible par rapport au standard acide ascorbique. Les résultats des tests d'activité antimicrobienne a montré que les polysaccharides d'*Allium sativum.L* ne présentaient aucune activité vis-à-vis les souches testées.

Mots clés : *Allium sativum.L*, extraction, les polysaccharides, enzyme, ultrason, antioxydante, DPPH, antimicrobienne.

Abstract

This present work aims extraction and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides of the species *Allium sativum L.* Extracts by various methods: maceration, extraction assisted by ultrasound, assisted extraction cellulose, extraction by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis and extraction assisted by enzymatic hydrolysis -ultrason. The results showed that the best yield extracting polysaccharides (46.6%) was obtained assisted extraction cellulose. However, the results of the concentration of total sugars crude extracts polysaccharides have shown that the best content in water-soluble polysaccharides was obtained by ultrasound extraction. Evaluation of the antioxidant activity by the method of trapping of the free radical DPPH showed that polysaccharides a weak antioxidant power compared to the standard ascorbic acid. The results of the antimicrobial activity tests showed that polysaccharides *Allium sativum.L* show no activity for strains tested.

Key words:

Allium sativum.L, extraction, polysaccharides, enzyme, ultrasound, antioxidant, DPPH, antimicrobial.

ملخص

يهدف هذا العمل الحالي لإستخلاص وتقييم النشاط المضادة للميكروبات ومضاد للأكسدة لمتعدد السكريات القابلة للذوبان في الماء من نوع الأليوم ساتيفوم. المستخرجة بطرق مختلفة: النقع، إستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية، إستخراج بمساعدة من السيلولوز، إستخراج بواسطة الموجات فوق الصوتية بواسطة التحليل المائي الإنزيمي و إستخراج بواسطة التحليل المائي الإنزيمي-الموجات فوق الصوتية. أظهرت النتائج أن أفضل مردود إستخراج متعدد السكريات (46.6%) تم الحصول عليها في إستخراج بواسطة السيلولوز. ومع ذلك، نتائج تركيز السكريات الكلية للمستخرجات الخام لمتعدد السكريات قد أظهرت أن أفضل محتوى لمتعدد السكريات القابلة للذوبان في الماء تم الحصول عليها عن طريق إستخراج بواسطة الموجات فوق الصوتية. تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة محاصرة الجذور الحرة أظهرت أن متعدد السكريات تملك قوة مضادة للأكسدة ضعيفة مقارنة مع حمض الأسكوربيك القياسية. نتائج إختبارات النشاط المضادة للميكروبات أظهرت أن متعدد السكريات الموجودة في الأليوم ساتيفوم لا تظهر أي نشاط بالنسبة للسلاطات التي تم اختبارها

كلمات البحث

الأليوم ساتيفوم، إستخراج، متعدد السكريات ، أنزيم، الموجات فوق الصوتية، مضادات الأكسدة، د ب ب اتش ، مضادات الميكروبات

Liste des abréviations

OMS : L'organisation mondiale de la santé.

EPNOE : le réseau de polysaccharide européen d'excellence.

EXT : Extrait;

EXT C : Extrait assisté par extraction conventionnelle.

EXT Enz : Extrait de l'extraction assisté par enzyme.

EXT Us : Extrait de l'extraction assisté par ultrason.

EXT Enz/Us : Extrait de l'extraction assistée par enzyme/ultrason

EXT Us/Enz : Extrait de l'extraction assisté par ultrason/enzyme

EXT L : Extrait lipidique

GLC : glucose

ST : sucre totaux

Abs : Absorbance;

ARP : Pouvoir Anti Radicalaire;

CE₅₀ : Concentration Effective nécessaire pour donner une absorbance égale 0,5;

°C : Degré Celsius;

DPPH : 2,2-Diphénylpicrylhydrazyl;

FTIR : Infrarouge à Transformer de Fourier;

g : Gramme;

I : Inhibition;

IC₅₀ : Concentration d'Inhibition requise pour diminuer la concentration initiale de 50% ;

IR : Infra-Rouge;

mg : Milligramme;

ml : Millilitre;

min : Minutes;

nm : Nanomètre;

mm : millimètre

PH : Potentiel Hydrogène;

UV: Ultra-Violet;

Vis : Visible;

Vit C : Vitamine C;

% : Pourcentage.

Liste des figures

Figure n°01: <i>Allium sativum.L</i>	03
Figure n°02 : Le bulbe d'ail.....	05
Figure n°03 : Structure de l'amidon [3].....	18
Figure n°04 : Structure d'un fructane isolé d' <i>Allium sativum.L</i> [41].....	19
Figure n° 05 : Structure de la cellulose [43].....	20
Figure n°06 : Représentation schématique des étapes expérimentales de notre étude.....	25
Figure n°07 : la poudre du bulbe d' <i>Allium sativum .L</i>	26
Figure n°08 : Schéma représentatif du procédé d'extraction conventionnel des polysaccharides hydrosolubles bruts.....	29
Figure n°09 : Schéma représentatif du procédé d'extraction des polysaccharides hydrosolubles brut par ultrason.....	31
Figure n°10 : Schéma représentatif du procédé d'extraction des polysaccharides hydrosolubles brut par enzyme.....	33
Figure n°11 : Réduction du radical DPPH.....	37
Figure n°12 : Représentation graphique des Rendements des différents extraits des polysaccharides hydrosolubles bruts d' <i>Allium sativum.L</i>	42
Figure n°13 : Courbe d'étalonnage de glucose pour le dosage des oses totaux.....	44
Figure n°14 : Représentation graphique des concentrations des oses totaux des différents extraits des polysaccharides bruts d' <i>Allium sativum.L</i>	45
Figure n°15 : Le spectre FTIR des polysaccharides bruts d'extraites d' <i>Allium sativum.L</i> ...	46
Figure n°16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides extrait Us de bulbe d' <i>Allium sativum.L</i>	48
Figure n°17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait Enz/Us de bulbe d' <i>Allium sativum.L</i>	48
Figure n°18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait Enz de bulbe d' <i>Allium sativum.L</i>	49
Figure n°19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait C de bulbe d' <i>Allium sativum.L</i>	49

Figure n°20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait Us/Enz de bulbe d' <i>Allium sativum.L</i>	49
Figure n°21 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de concentration de vitamine C « Acide Ascorbique ».....	50
Figure n° 22 : Représentation graphique des extraits et d'antioxydante standard selon leurs ARP « test DPPH ».....	51
Figure n°23 : Photographies représentatives des tests antimicrobiennes des extraits polysaccharides bruts.....	53
Figure n°24 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles bruts (EXTC).....	62
Figure n°25 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles bruts (EXT Us).....	63
Figure n°26 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides bruts (EXT Enz).....	63
Figure n°27 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles bruts (EXT Enz/Us).....	64
Figure n°28 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles (EXT Us/Enz) bruts.....	64
Figure n°29 : Photographie représentative du changement de couleur stable le jaune-orange de la gamme étudiée selon la méthode de DUBOIS (1956).....	65
Figure n°30 : Les spectres FTIR des polysaccharides bruts d'extraites d' <i>Allium sativum.L</i>	69

Liste des tableaux

Tableau n° 01: Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail [16].....	09
Tableau n° 02 : Composition chimique de l'ail frais [9].....	09
Tableau n° 03 : Composition chimique des principaux constituants des huiles essentielles obtenues à partir de bulbes d' <i>Allium sativum.L</i> [17].....	10
Tableau n° 04 : Relation entre le diamètre d'inhibition et la sensibilité des souches [80]....	40
Tableaux n°05 : Représentation des Rendements des différents extraits des polysaccharides hydrosolubles bruts d' <i>Allium sativum.L</i>	41
Tableau n°06: Les propriétés organoleptiques des extraits d' <i>Allium sativum.L</i>	42
Tableau n°07 : Absorbances de la gamme de concentration de glucose.....	44
Tableau n°08 : Les résultats de concentration des oses totaux des extraits bruts des polysaccharides.....	45
Tableau n°09 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraites d' <i>Allium sativum.L</i>	46
Tableau n°10 : La variation les valeurs d'IC ₅₀ et ARP pour chaque extrait et pour l'antioxydante standard.....	51
Tableau n°11 : Activité antifongique des l'extraits polysaccharides bruts sur milieu Sabouraud (mm).....	52
Tableau n°12 : Activité antibactérienne des l'extraits polysaccharides bruts et zone d'inhibition des souches (mm).....	53
Tableau n°13 : La variation des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits polysaccharides hydrosolubles bruts.	67
Tableau n°14 : La variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de antioxydant standards (vitamine C).....	67
Tableau n°15 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraite Us d' <i>Allium sativum.L</i>	69
Tableau n°16 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraite Enz d' <i>Allium sativum.L</i>	70
Tableau n°17 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraite Enz/Us d' <i>Allium sativum.L</i>	70
Tableau n°18 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraite Us/Enz d' <i>Allium sativum.L</i>	70

SOMMAIRE

1. Introduction Générale	01
Synthèse Bibliographique	
1.1. Introduction.....	03
1.2. Classification botanique.....	03
1.3. Dénominations vernaculaires.....	04
1.4. Synonymie taxonomique.....	04
1.5. Description botanique de l'espèce	04
1.6. Description du bulbe d' <i>Allium sativum.L</i>	05
1.7. Origine et culture.....	05
1.8. Différentes variétés	05
1.9 Composition chimique	07
1.10 Activités biologiques	10
2. Généralités sur les polysaccharides.....	15
3. Classification des polysaccharides Selon leurs sources.....	16
3.1. Les polysaccharides bactériens et fongiques.....	16
3.2. Les polysaccharides extraits d'algue	16
3.3. Les polysaccharides animaux.....	17
3.4. Les polysaccharides végétaux	17
3.4.1. Les polysaccharides de réserve.....	18
3.4.2. Les polysaccharides de structure	20
3.4.3. Exsudats et mucilages	20
4. Les propriétés physiques des polysaccharides.....	21
5. Activités biologiques des polysaccharides	22
6. Les applications des polysaccharides en médecine	23

Partie Expérimentale

Introduction	25
1. Matériels	26
1.1.Matière végétal	26
1.2.Réactif chimiques	26
2. Extraction des polysaccharides hydrosolubles	28
3. Extraction par ultra-sons ou sonication.....	30
4. Extraction assistée par enzyme	32
5. .Extraction assistée par enzyme /ultrason.....	34
6. Extraction assistée par ultrason /Enzyme	34
7. Caractérisation quantitative par la méthode de DUBOIS (1956), dosage des oses totaux par Colorimétrie.....	35
7.1. Dosages colorimétriques.....	35
8. Analyse structurale	36
8.1. Caractérisation par infra-rouge à transformé de Fourier « FTIR ».....	36
9. Etude de l'activité antioxydante	37
9.1.Test de piégeage du radical libre DPPH.....	37
10. Etude Activités biologiques.....	38
10.1. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique.....	38
Résultat et discussion	
11. Propriétés organoleptiques.....	42
12. Caractérisation quantitative par la méthode de DUBOIS (1956).....	43
13. Analyse structurale par FTIR.....	46
14. Etude de l'activité antioxydante.....	47
15. Activité antimicrobienne	52
Conclusion	54
Référence	55
Annexe	62

1. Introduction Générale

Un grand nombre de plantes aromatiques, médicinales et des plantes épicées sont utilisées dans le monde depuis des siècles pour des fins alimentaires, pharmaceutiques, thérapeutiques et agroalimentaires.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% des habitants de la planète continuent de s'appuyer principalement sur les systèmes de médecine traditionnelle pour leurs soins de santé. Les produits végétaux jouent également un rôle important dans les systèmes de soins de santé pour les 20% restants de la population. Sur les 119 composés chimiques purs extraits de plantes supérieures utilisées en médecine à travers le monde, 74% de ces composés ont la même utilisation que les plantes à partir desquelles sont dérivées [1].

Parmi les plantes médicinales les plus répandue dans le monde, nous avons choisi d'étudier L'ail, *Allium sativum.L*, c'est une plante herbacée, bulbeuse, vivace qui est connue depuis des temps immémoriaux. L'ail est utilisé depuis plusieurs centaines d'années pour traiter divers problèmes de santé. Un très grand nombre d'études ont été réalisées afin de mieux connaître les principes actifs de l'ail et leurs effets [2].

Les polysaccharides ainsi que les poly-nucléotides, les protéines et les lipides constituent les quatre bio-macromolécules les plus importants en sciences de la vie [3]. Ils ont attiré beaucoup l'attention des chercheurs dans les domaines alimentaires et biomédicales, en raison de leurs activités biologiques et physiologiques diverses comme la biodégradabilité, la non-toxicité, la bonne biocompatibilité, les activités hémostatique et antimicrobienne [4]. Ils sont des structures polymériques d'hydrates de carbone, formées d'unités reliées entre elles par des liaisons glycosidiques répétées. Ils peuvent être produits à partir de nombreuses sources comme les plantes, les microorganismes et les algues [5].

Des membres académiques universitaires de la recherche et de l'industrie dans le réseau de polysaccharide européen d'excellence (EPNOE) sont convaincus que les polysaccharides seront au point central du monde de demain pour les combustibles durables, la nourriture, les matériaux et la production de médicaments. Une telle vision, soutenue par la plupart des forces politiques, sociales et économiques, est à l'origine de la relance de la recherche dans ce domaine au cours des dernières décennies [6].

Ce travail présente deux parties principales :

- La première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle le premier chapitre présentera de l'espèce *Allium sativum.L*, sa composition chimique et ses activités biologiques. Par la suite, le second chapitre exposera et décrira la classe et le rôle des polysaccharides.
- La seconde partie est une étude expérimentale consacrée à :
 - L'extraction des polysaccharides hydrosolubles.
 - La caractérisation quantitative et structurale des cinq extraits polysaccharides.
 - L'évaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des cinq extraits.

A partir de l'interprétation des résultats expérimentaux, nous terminerons par une conclusion générale, qui nous permettra d'avoir des perspectives liées à ce travail.

Synthèse

Bibliographique

1.1. Introduction

Allium sativum.L appartient à la famille des Liliacées. C'est l'une des plus importantes familles selon la classification de Cronquist (1981) qui présente un rang taxinomique de plantes à fleurs monocotylédones, généralement à bulbes. Elle comprend des plantes bien connues comme le lys (ou lis), le muguet de mai, la jacinthe véritable, la tulipe, le muscari, le narcisse et la jonquille. C'est une famille de plantes particulièrement vaste. De l'ordre des Liliales, elle comprend plus de 250 genres pour plus de 2 500 espèces sous nos climats (4 000 sur l'ensemble de la planète). Certaines espèces de Liliacées, notamment l'oignon, l'ail, l'échalote, le poireau et les asperges produisent des bulbes très appréciés en cuisine, qui interviennent dans de nombreuses recettes. Ces espèces sont aujourd'hui classées dans la famille des Amaryllidacées. Les feuilles des Liliacées sont toujours alternes, se situant autour de la tige, avec généralement un départ du pied de la plante. Les liliacées sont des fleurs hypogynes, toutes les pièces florales du périanthe et de l'androcée (parties mâles) s'insèrent sous le gynécée (ensemble des parties femelles). C'est une caractéristique fondamentale de cette famille. Les fleurs des Liliacées sont rarement unisexuées (mâles ou femelles) mais hermaphrodites ou bisexuées [7].

1.2. Classification botanique

Classification botanique de l'espèce *Allium sativum* L.

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Sous-embranchement : *Magnoliophytina*

Classe : *Liliopsida*

Sous-classe : *Liliidae*

Ordre : *Liliales (Asparagales)*

Famille : *Aliaceae (ex Liliaceae)*

Genre : *Allium*

Espèce : *Allium sativum* L. [7].



Figure n°01 : *Allium sativum*.L

1.3. Dénominations vernaculaires

Français : ail commun, ail cultivé, ail blanc, thériaque des pauvres, ail de printemps, ail rose sans bâton.

Anglais : garlic, common garlic.

Allemand : Knoblauch, Knobloch, Knobl, Echter Knoblauch, Knoblauch, Gemeiner.

Arabe: ثوم [7].

1.4. Synonymie taxonomique

Synonyme : *Allium longicuspis* [7]

1.5. Description botanique de l'espèce

C'est une Plante herbacée, vivace, pouvant atteindre 25-90 cm, glabre. Le bulbe est formé de caïeux (les « gousses ») à tuniques membraneuses, insérés sur un plateau aplati, entourés d'une tunique commune blanchâtre. La tige est cylindrique, feuillée jusqu'au milieu, enroulée en cercle avant la floraison ; les feuilles sont linéaires, engainantes planes, lisses. Les fleurs sont blanches ou rougeâtres, en ombelle pauciflore et bulbillifère, elles sont entourées de spathe caduque, univalve, terminées en pointe très longue ; le périanthe est connivent en cloche ; les étamines sont incluses, les 3 intérieures sont à 3 pointes presque égales [8].

L'odeur est faible et se développe (forte et soufrée) dès que les tissus sont lésés.

La qualité de l'ail est évaluée par ses caractéristiques sensorielles, principalement la couleur et l'intensité de la saveur [9].

L'espèce *Allium sativum* L. se subdivise en principales variétés qui diffèrent par la taille et la forme du bulbe ainsi que par la couleur de leur enveloppe : [8].

– *Allium sativum* L. var. *Sativum*

– *Allium sativum* L. var. *ouphioscordum* (ou *ouphioscorodon*)

– *Allium sativum* L. var. *pekinense*.

En Algérie, l'ail pousse spontanément. Plante bulbeuse, vivace et rustique, estimée de tous temps des populations méridionales. Elle est aujourd'hui cultivée dans tous les jardins en divisant le bulbe appelé « tête d'ail » qui est formé de caïeux, appelés « gousses d'ail » [10].

1.6. Description du bulbe d'*Allium sativum.L*

Le bulbe est de forme arrondie ou ovale, d'un diamètre d'environ 4 cm, constitué d'un plateau dur formé de cailleux (« gousses ») en nombre de 8 à 20, disposés en deux cercles concentriques, allongés, légèrement courbés et anguleux. Le bulbe est enveloppé de minces feuilles ou tuniques membraneuses, blanches, mauves, rouges ou violettes selon les variétés. Chaque cailleu est formé d'une seule gaine foliaire charnue, entourée de plusieurs ébauches de feuilles superposées [8].



Figure n°02 : Le bulbe d'ail.

1.7. Origine et culture.

L'espèce *Allium sativum. L* est originaire des plaines d'Asie centrale. Elle est cultivée sur presque tout type de sol, notamment dans les régions du pourtour méditerranéen. L'ail préfère les sols argileux, profonds, riches en humus et en nutriments, situés dans des endroits ensoleillés. Sa multiplication se fait par voie végétative grâce à ses cailleux plantée de septembre à mi-octobre [8].

1.8. Différentes variétés

Il n'existe pas une variété d'ail, mais plusieurs dizaines. Elles se distinguent par leur saison de récolte, la couleur et la grosseur de leur bulbe, leur saveur, leur durée de

conservation... En France, on cultive deux grandes variétés d'ail, elles-mêmes divisées en plusieurs variétés appelées cultivars :

- **L'ail d'automne**, Violet (très précoce) ou blanc (précoce) planté à l'automne et récolté au début de l'été. Il est principalement originaire sud de la France.

On distingue aussi l'ail en fonction de son degré de développement lors de la récolte.

On différencie ainsi :

- **L'ail vert, aussi appelé ail nouveau ou aillet** : c'est un ail récolté très tôt, entre mars et mai, avant même que les gousses ne se soient développées. Il ressemble à de la ciboule ou à un poireau tout fin, avec une longue partie, et de grandes tiges vertes. On l'utilise en entier, simplement émincé, cuit ou cru dans les salades et les plats cuisinés. Son goût rappelle celui de l'ail, mais en moins prononcé. On ne le trouve sur les marchés qu'au printemps.
- **L'ail frais** : c'est un ail récolté avant que la partie aérienne ne devienne séchée. On le trouve à différents stades de développement : l'ail le plus « jeune » ressemble à un poireau avec une tige verte et un renflement volumineux et alvéolé sa base (c'est là que se trouvent les gousses). L'ail « moins jeune » ressemble à l'ail sec mais ses peaux extérieures et sa tige sont visiblement encore fraîches (contrairement à l'ail sec). Il n'a plus de tige verte. On en trouve sur les marchés généralement à partir du début ou de la mi- mars. Il a une saveur incomparable et un goût très doux... appréciés même par les personnes qui disent ne pas « aimer l'ail » ! riche en eau, il est également très juteux, et donc idéal pour les préparations type sauces, mayonnaises... Autre avantage : il est dépourvu de germe, donc vous pouvez le consommer en entier sans problème de digestion.
- **L'ail sec** : c'est l'ail que l'on trouve le plus couramment sur les marchés et dans les grandes surfaces. il s'agit d'un ail récolté une fois que sa partie aérienne soit séchée.
- **L'ail de printemps**, C'est l'ail rose, avec ou sans bâton, à plus forte dormance, capable de germer seulement à partir de fin janvier. On le plante donc à cette période. Il n'atteint sa complète maturité qu'à partir de juillet. Dans les régions méridionales, on peut planter cet ail en novembre ou en décembre ; la récolte sera avancée de 8 à 10 jours. L'ail rose se prête particulièrement bien à une longue conservation. Ses bulbes sont moins volumineux que ceux de l'ail d'automne [11].

1.9 Composition chimique

Les bulbes à tuniques concentriques des divers *Allium*, les caïeux d'*Allium sativum* sont plus ou moins riches en eau .Leur teneur en matière sèche est de 35% [12].

La composition de cette matière sèche est approximativement la suivante, d'après FENWICK et HANLEY (1990) :

- ✓ Les glucides contenus dans les bulbes à maturité se répartissent en : [13].

- 1,2 % de sucres réducteurs

- 3,6 % de saccharose

- 75 % d'un fructosane appelé fructosane 5 (=glucofructosane) .

- ✓ Les lipides sont moins de 1 % [12].

- ✓ Les protides : 10 à 20 % [12].

- ✓ Les cendres : 1 à 3 % [12]

L'ail renferme notamment des composés soufrés. La teneur est variable selon le cultivar, l'origine géographique et la période de la récolte (0,5 à 1,3 %).

- Les parties comestibles contiennent :

- 64,66 % d'eau

- 6,76 % de substances azotées

- 0,06 % de lipides

- 26,3 % de substances extractibles non azotées

- les sucres

- 0,77 % de substances de membrane

- 1,44 % de cendres (avec chaux et silice)

- Le bulbe contient;

- Manganèse (17,84 mg/kg de matière sèche)

- Cuivre (10,23 mg/kg de matière sèche)

- Zinc (31,7 mg/kg de matière sèche et 10,0 mg/kg de matière fraîche)

- Aluminium (36 mg/kg de matière sèche et 19,9 mg/kg de matière fraîche)

Brome (0,00051 g % de poids sec)

Chlore (0,066 g % de poids sec)

- Il a été aussi prouvé que l'ail est capable de fixer d'importantes quantités d'iode .
- Les caïeux donnent de 0,680 à 0,750 % d'huile essentielle (en % du poids sec).
- Les tiges fournissent 0,665 à 0,720 % d'huile essentielle par expression . Par distillation, seulement 0,05 à 0,09 % d'huile essentielle est obtenue. L'huile essentielle d'ail est jaune, d'odeur forte et désagréable et de saveur brûlante .

Le composé majoritaire de l'ail frais non contusé est l'alliine ou sulfoxyde de S-allyl-L-(+)-cystéine. Après broyage, l'alliine se dégrade par l'alliinase en acide pyruvique et acide 2-propène sulfénique qui est transformé aussitôt en allicine (3 % de la masse fraîche). L'oxydation à l'air de ce dernier conduit au disulfure de diallyle (constituant majoritaire de l'essence d'ail). Dans des extraits alcooliques, on a la présence de produits de condensation de l'allicine : 6Z- et 6E-ajoène et de produits de cycloaddition du propènethial : vinyldithiines [14].

- En 1909, Rundqvist avance une théorie (plus tard réfutée) que le précurseur des disulfures était un glucoside qu'il a nommé "alliine" mais n'a pas pu l'isoler sous une forme pure [15].

Selon la forme utilisée (essence, extraits alcoolique ou huileux, ail frais, poudre, ail « vieilli »), la composition chimique sera variable [14].

La poudre d'ail contient au plus 1 % d'alliine (il y a des pertes durant la déshydratation), environ 0,5 % à 2,5% d'allicine et de petites quantités d'autres composés soufrés [13].

Outre les composés organosoufrés, l'ail contient des glucosides stéroïdiens, des lectines, des prostaglandines, des fructanes, des pectines, une huile essentielle, des vitamines (B1, B2, B6, E), de la biotine, de l'acide nicotinique, des acides gras, des glycolipides, des phospholipides, des anthocyanosides, des flavonoïdes et des acides aminés essentiels [14].

La Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail illustre dans le tableau suivant

Tableau n° 01:Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail [16].

Constituants	Concentrations (mg / g)	Pourcentages
Diallylmonosulfure	106 ± 7	10.6
D.A. disulfure	530± 7	53.0
D.A. trisulfure	115 ± 4	11.5
D.A. tetrasulfure	43 ± 2	4.3
D.A. pentasulfure	10.5 ± 0.4	1.1
D.A. hexasulfure	0.14 ± 0.01	0.01
Méthyle allyl disulfure	44.1 ± 2	4.4
M.A. trisulfure	69.9 ± 2.2	7
M.A. tetrasulfure	24.6 ± 2.0	2.5
M.A. pentasulfure	6.3 ± 0.6	0.6
M.A. hexasulfure	1.5 ± 0.1	0.2
Diméthyl trisulfure	12.0 ± 1.3	1.2
D.M. tetrasulfure	4.3 ± 0.6	0.2
D.M. pentasulfure	2.0 ± 0.4	0.2

La Composition chimique de l'ail frais présenté dans le tableau n°02.

Tableau n° 02 : Composition chimique de l'ail frais [9].

Composés	Mg/g m.h.	Composés	Mg/g m.h
Eau	620-680	Adénosine	0.1
Carbohydrates	260-300	Saponines	0.4-1.1
Fructosanes	220-250	Vitamines	0.15
Fibres	15	Minéraux	7
Protéines	15-21	Sulfures	2.3-3.7
Acides aminés	10-15	Azote	6-13
Composants organosulfurés	11-35	Lipides	1-2
β-Sitosterol	0.015	Acides phénoliques	0.8
* m.h. /matière humide			

La Composition chimique des principaux constituants des huiles essentielles d' *Allium sativum.L* présenté dans le tableau suivant

Tableau n° 03 : Composition chimique des principaux constituants des huiles essentielles obtenues à partir de bulbes d' *Allium sativum.L* [17].

L'huile <i>Allium sativum.L</i>	
Composition	Pourcentages (% du poids total)
Diallyl trisulfide	49.8
Diallyl disulfide	29.8
Diallyl sulfide	1.3
Limonene	1.2
Allyl-methyl disulfide	0.9

1.10 Activités biologiques

a) Activité antimicrobienne

Les activités antibactériennes et antifongiques attribuées à l'ail ont été vérifiées expérimentalement par des études in vitro [8].

- **Activité antibactérienne** : L'ail possède un large spectre d'activité antibactérienne et ceci contre des germes Gram positif et négatif, notamment les espèces appartenant aux genres *Bacillus* et *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigellasonnei*, *Erwiniacarotovora*, *Mycobacteriumtuberculosis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* [8].

L'étude de l'activité antibactérienne de gousses d'ail frais a été réalisée vis-à-vis de germes pathogènes alimentaires : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*. L'effet inhibiteur maximal fut observé contre *E. coli*.

Le principe actif responsable est l'allicine dont le mécanisme d'action consiste en un changement du profil lipidique de la membrane cellulaire bactérienne.

L'huile essentielle extraite de l'ail inhibe, à différents degrés, la prolifération in vitro de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus enteritidis* .

Les souches d'entérocoques et autres bactéries pathogènes intestinales, responsables de diarrhées aussi bien chez les humains que chez les animaux, sont plus facilement inhibées par l'ail que par la flore commensale intestinale.

Pour l'*Helicobacter pylori*, agent impliqué dans la majorité des ulcères et des cancers d'estomac, on note une inhibition de la croissance de 90 % avec un extrait aqueux d'ail à 5 mg/ml (in vitro) [8].

- **Activité antifongique**

L'ail a des effets antifongiques in vitro contre *Cryptococcus neoformans*, *Candida* spp, *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Aspergillus* spp., et *Mucor pusillus* [18].

- b) Activité antivirale**

L'ail a été démontré dans des études in vitro comme ayant une activité antivirale contre plusieurs virus, dont le cytomégalovirus , le virus B , le virus Herpes simplex types 1 et 2, le virus parainfluenza de type 3 et le rhinovirus humain de type 2 . L'activité antivirale est considérée comme étant provoquée par le composant de plus de ajoene que la composante allicine de l'ail [18].

- c) Activité anti-inflammatoire**

L'administration par voie intragastrique d'un extrait alcoolique de bulbe d'*Allium sativa* réduit l'œdème de la patte du rat induit par la carragénine à une dose de 100 mg/kg de poids corporel. L'activité anti-inflammatoire serait due à son action anti-prostaglandine [19].

- d) Activité antispasmodique**

Des extraits aqueux ou éthanoliques issus de la drogue présentent une activité antispasmodique vis-à-vis de l'acétylcholine, de la prostaglandine E2 et des contractions induites par le baryum au niveau de l'intestin grêle et de l'estomac chez le cobaye.

Le suc issu de la drogue est responsable d'un relâchement du muscle lisse de l'iléon chez le cobaye, du cœur et chez le lapin et du côlon et du fundus chez le rat [20].

j) Ail et cholestérolémie

Les effets antihypercholestérolémiques et antihyperlipidémiques ont été mis en évidence sur plusieurs modèles animaux (rat, lapin, poulet, porc) après administration par voie orale ou intragastrique d'ail haché. L'administration per os d'allicine à des rats pendant 2 mois est responsable d'une diminution des concentrations de lipides totaux, de phospholipides, de triglycérides et du cholestérol total. Les taux de lipides et de cholestérol plasmatique chez les rats ont été réduits après injection intrapéritonéale d'un mélange de disulfure de diallyl et trisulfure de diallyl. Le mécanisme d'action antihypercholestérolémique et antihyperlipidémique de l'ail serait en rapport avec l'inhibition de l'hydroxyméthylglutaryl-CoA (HMG-CoA) réductase et à la réorganisation des lipoprotéines et des membranes cellulaires [8].

k) Ail et athérosclérose

Les propriétés anti sclérotiques de l'ail ont pu être démontrées à la fois chez l'homme et par des expérimentations animales. L'administration d'ail pulvérisé (300 mg/j, pendant 2 ans) chez des sujets âgés, contribue au maintien de l'élasticité de leurs artères [8].

l) Ail et hypertension

L'activité anti hypertensive de l'ail a été mise en évidence in vivo. L'administration intragastrique ou par voie orale de bulbes d'ail haché, d'extraits alcooliques ou aqueux de la drogue abaisse la pression artérielle chez le chien, le cobaye, le lapin, et chez le rat. La drogue serait responsable d'une diminution de la résistance vasculaire par un relâchement direct du muscle lisse [8].

m) Ail et agrégation plaquettaire

L'ail inhibe l'agrégation plaquettaire aussi bien in vitro qu'in vivo. Des extraits aqueux, chloroformique ou méthanolique issus de la drogue inhibent le collagène, l'ADP, l'acide arachidonique, l'épinéphrine et la thrombine induits in vitro par l'agrégation plaquettaire. L'administration intragastrique prolongée (pendant 3 mois) d'huile essentielle ou d'extrait chloroformique de bulbe d'ail inhibe l'agrégation plaquettaire chez le lapin. Les composés responsables de l'inhibition de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaires sont les vinyldithiines et les dialkyloligosulfures [8].

n) Usage traditionnelle

L'ail est utilisé comme adjuvant dans le traitement de l'hyperlipidémie et dans la prévention des changements vasculaires observés en cas d'athérosclérose. La drogue serait utile dans le traitement de l'hypertension légère. Il est également utilisé dans le traitement des infections des tractus respiratoires et urinaires, des mycoses et des rhumatismes. La drogue a également été préconisée comme carminatif dans le traitement de la dyspepsie. L'ail est considéré comme aphrodisiaque, antipyrétique, diurétique, emménagogue, expectorant et sédatif [8].

2. Généralités sur les polysaccharides

Les polymères naturels peuvent être généralement divisés en différentes catégories, y compris les polysaccharides, les protéines et les acides nucléiques. Les polysaccharides sont définis comme des structures glucidiques polymériques composées d'unités mono-osidiques répétitifs reliées par des liaisons glycosidiques. En tant que biopolymères naturels, les polysaccharides sont stables, non toxiques, biodégradables et biocompatibles. Ils disposent de plusieurs ressources provenant des algues, des plantes, des micro-organismes et des animaux [23].

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur structure, leur composition chimique, leur solubilité, leurs sources et leurs applications. Pour la composition chimique, les polysaccharides sont classés en deux types, des homopolysaccharides ou des homoglycans, qui sont constitués d'un seul type de monosaccharide. Les hétéropolysaccharides ou hétéroglycans, sont constitués de plus d'un type de monosaccharides. Selon la nature des molécules liées au glycane, les polysaccharides peuvent également être classés comme des protéoglycans, des glycoprotéines et des glycolipides. En se basant sur les origines, les polysaccharides bioactifs peuvent être d'origine végétale ou de lichens. Certains polysaccharides bioactifs sont issus d'animaux [3].

L'extraction fractionnée des polysaccharides non amylicés peut être contrôlée en modifiant le pH des solutions. La compréhension initiale des propriétés des fibres alimentaires a permis une simple division entre celles qui présentent principalement des effets sur l'absorption du glucose et des lipides de l'intestin grêle (solubles) et celles qui sont lentement et incomplètement fermentés et possèdent des effets plus prononcés sur les habitudes intestinales (insolubles) [24].

Les polysaccharides natifs sont hydrosolubles et, ont la capacité élevée de gonflement. Ceux-ci ont des propriétés qui les rendent extrêmement adaptées pour des applications biomédicales, pharmaceutiques et cosmétiques. Une large gamme de polysaccharides a déjà trouvé des applications dans la santé humaine, à savoir le chitosane, la cellulose, les alginates, le dextrane, l'amidon, l'acide hyaluronique, l'héparine, le κ -carraghénane, les pectines et la gomme de guar [6].

3. Classification des polysaccharides Selon leurs sources

3.1. Les polysaccharides bactériens et fongiques

Les micro-organismes produisent une grande variété d'exopolysaccharides ayant des caractéristiques physiques et chimiques uniques. Ces exopolysaccharides peuvent être des homopolysaccharides ou des hétéropolysaccharides [25].

3.1.1. Dextrane

Les dextrans sont des polymères de glucose de longues chaînes [26]. Ces polymères sont produits par des souches appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* et *Weisella* [27].

3.1.2. Xanthane

La gomme xanthane est un exo-polysaccharide hydrosoluble d'une espèce bactérienne GRAM négatif *Xanthomonas campestris* (Pseudomonaceae) produite industriellement par fermentation à partir d'une source de carbone [28]. Cette gomme est un hétéropolysaccharide ayant une structure primaire constituée d'unités pentasaccharidiques répétées [29].

3.1.3. Pullulane

Le pullulane est un exopolysaccharide hydrosoluble produit par *Aureobasidium pullulans* (Dothideaceae) [30].

3.2. Les polysaccharides extraits d'algues

De nombreuses espèces d'algues sont utilisées comme nourriture et, elles ont également trouvé une utilisation dans la médecine traditionnelle en raison de leurs avantages perçus pour la santé. Les algues sont riches en polysaccharides sulfatés, dont certains sont devenus des additifs de valeur dans l'industrie alimentaire en raison de leurs propriétés rhéologiques comme agents gélifiants et épaississants [31].

3.2.1. Carraghénanes

Les carraghénanes sont D-galactanes sulfatés de poids moléculaires élevés, composés d'unités disaccharidiques répétitives avec une alternance de 3- β -D-galactopyranose et 4- α -galactopyranose ou 3,6-anhydro- α -galactopyranose [31]. Selon la quantité et la position du groupe de SO₃⁻, les carraghénanes sont classés en λ (Lambda), κ (Kappa), ι (Iota), ν (Nu), μ (Mu), θ (Thêta) et ξ (Ksi), tous contenant environ 22 à 35% des groupes sulfates [32].

3.2.2. Fucoïdane

Le fucose est le désoxy galactose (C₆H₁₂O₅). C'est la sous-unité fondamentale de fucoïdane. Le fucoïdane est un type de polysaccharide sulfaté complexe, trouvé principalement dans la matrice de la paroi cellulaire de diverses espèces d'algues brunes. Il contient des pourcentages importants de L-fucose et d'ester sulfate [33].

3.2.3. Ulvane

L'ulvane est le principal polysaccharide hydrosoluble qui se trouve dans les algues vertes de l'ordre des Ulvales. Il a le sulfate, le rhamnose, le xylose, les acides iduronique et glucuronique comme principaux constituants [31].

3.3. Les polysaccharides animaux

Les glycosaminoglycanes sulfatés GAGs représentent un autre groupe de polysaccharides bioactifs issus d'animaux [3].

3.3.1. Chitosane

Le chitosane est trouvé dans les exosquelettes des arthropodes [34].

3.3.2.- Kératane sulfate

Le kératane sulfate est un glycosaminoglycane largement retrouvé dans les matrices extracellulaires de certains tissus, tels que la cornée, les cartilages et les os [35].

3.3.3.- Glycogène

Le glycogène est particulièrement abondant dans les hépatocytes (10% environ du poids de l'organe) et les myocytes (1 à 2% de la masse musculaire) [36].

3.4.- Les polysaccharides végétaux

Les sources de polysaccharides végétaux sont multiples. Ils se distinguent les polysaccharides de réserve (amidon, caroube), les polysaccharides de structures (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages [37].

3.4.1. Les polysaccharides de réserve

Pour les polysaccharides de réserve, il est décrit l'amidon, le fructane et la gomme de caroube au titre d'exemples.

3.4.1.1. Amidon

L'amidon, le principal glucide dans la plupart des régimes, est le glucide de stockage de plantes telles que les céréales, les légumes racinaires et les légumineuses. Il se compose seulement de molécules de glucose [38]. L'amidon est stocké sous forme de granules de semi-cristallines discrètes chez les plantes supérieures, et se compose de deux éléments principaux à savoir l'amylose linéaire et l'amylopectine fortement ramifié [39].

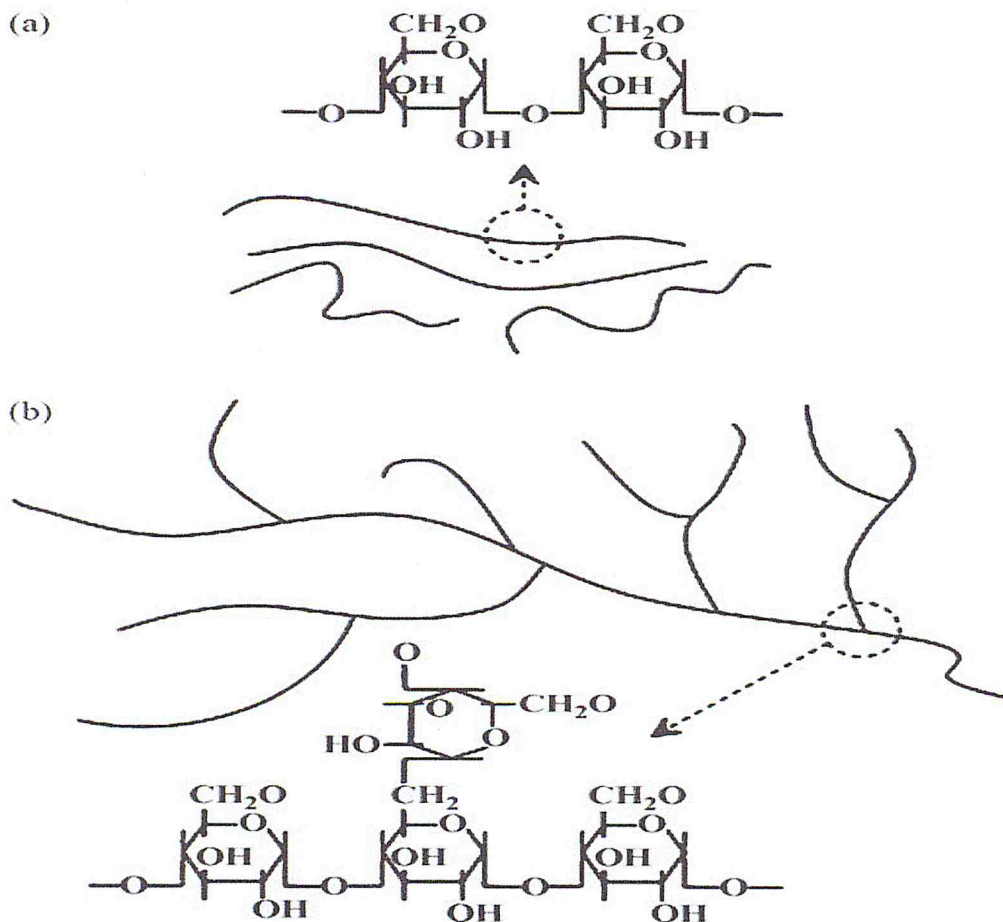


Figure n° 03 : Structure de l'amidon [3].

3.4.1.2. Fructane

Les fructanes sont des glucides qui se composent principalement ou exclusivement de fructose. Ils contiennent une unité de glucose ou pas. Ils sont classés en fonction du type de

liens fructose-fructosyl [β (2 \rightarrow 1) ou β (2 \rightarrow 6)] et sur leur molécule centrale. Ces molécules de base sont synthétisées par l'addition de fructose au sucrose [40]. La figure n° 04 montre un fructane isolé d'*Allium sativum* .L .

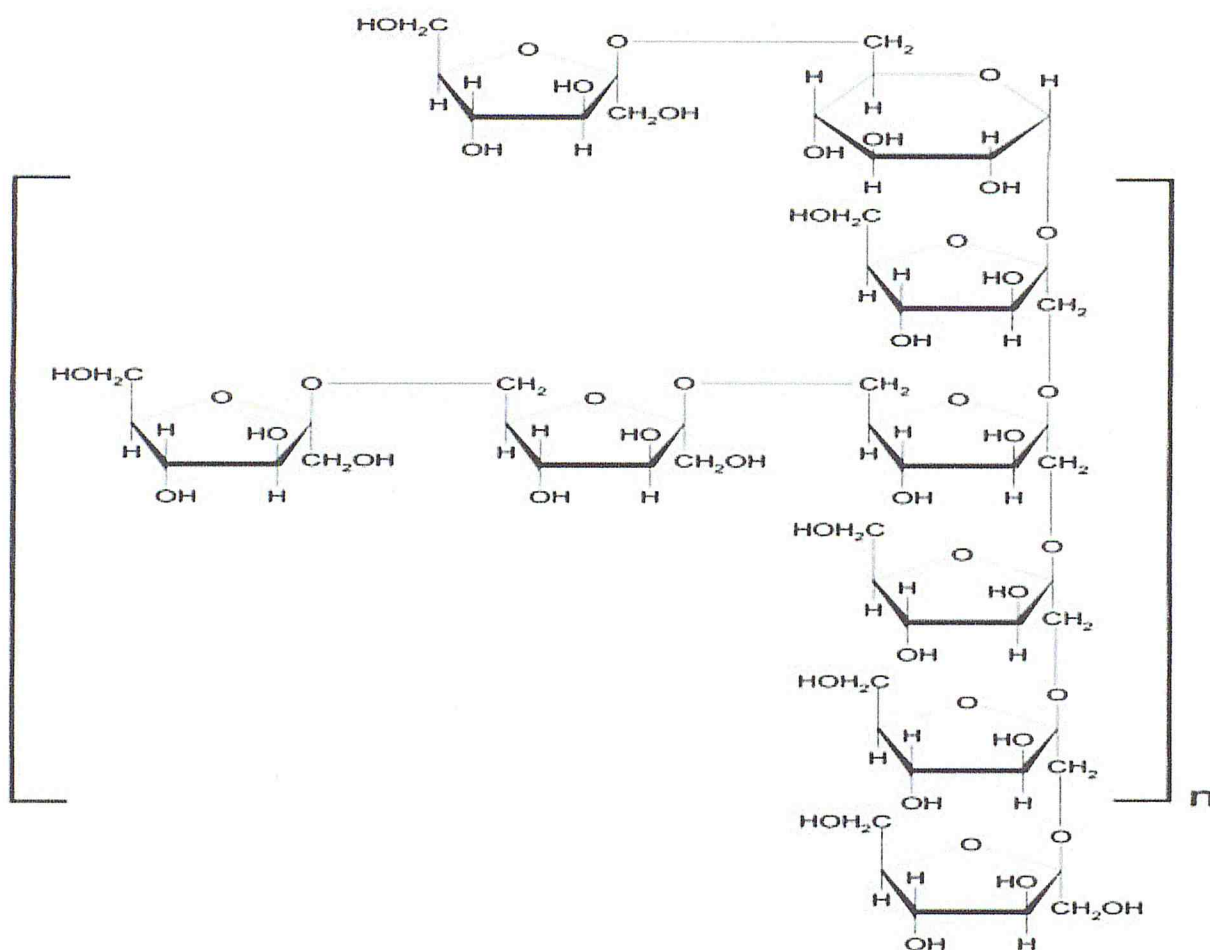


Figure n° 04 : Structure d'un fructane isolé d'*Allium sativum*.L [41].

3.4.1.3. Gomme de la caroube

La gomme de caroube est un galactomannane hétéropolysaccharidique extrait en écrasant l'endosperme de graines de la gousse de fruit de l'arbre de caroube *Ceratonia siliqua* L. (légumineuses). La caroube est cultivée dans les régions méditerranéennes [42].

3.4.2. Les polysaccharides de structure

Les polysaccharides de structure sont nombreux parmi lesquelles la cellulose et la pectine.

3.4.2.1. Cellulose

La cellulose, principale biopolymère de structure des végétaux, est l'un des composés organiques les plus abondants de la biosphère. C'est un polymère non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons β (1 \rightarrow 4) (fig. 13), comme dans la cellobiose, deux molécules de D-glucopyranose unies par une liaison β (1 \rightarrow 4) (β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-glucopyranose) [36].

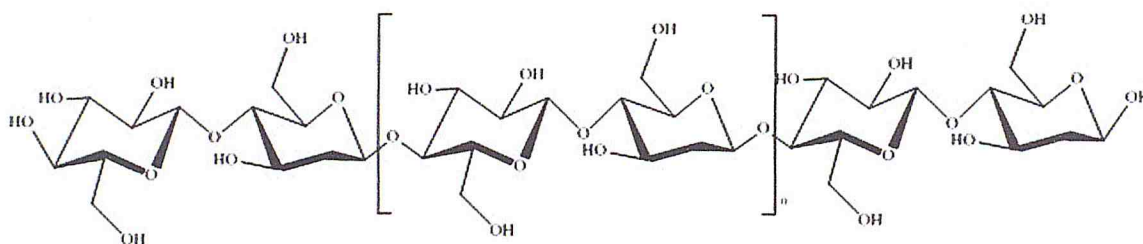


Figure n° 05 : Structure de la cellulose [43].

3.4.2.2. Pectines

Les pectines sont une classe de polysaccharides hétérogènes trouvés dans les parois cellulaires de la plante. La pectine commerciale est extraite de citrous, de pomme, ou d'autres plantes supérieures. Elle est utilisée en tant que stabilisant, épaississant, agent gélifiant, émulsifiant, et comme véhicule de médicaments dans les industries alimentaires et pharmaceutiques [44].

3.4.3. Exsudats et mucilages

Les gommes et les mucilages ont certaines similitudes. Les deux sont des hydrocolloïdes végétaux. Ce sont des polymères d'un monosaccharide ou monosaccharide mixte et beaucoup d'entre eux sont combinés avec des acides uroniques [45].

3.4.3.1. Exsudats

Les exsudats provenant des écorces, forment un groupe reconnaissable appelé gommes [46]. Les gommes sont considérées comme des produits pathologiques formés suite à une blessure à la plante ou en raison de conditions défavorables, comme la sécheresse, par une

ventilation des parois cellulaires (formation extracellulaire) [45]. Le terme "gomme" est utilisé pour décrire un groupe de polysaccharides d'origine naturelle qui trouvent des applications industrielles généralisées en raison de leur capacité, soit pour former le gel, pour faire la solution visqueuse ou pour stabiliser les systèmes d'émulsion. Les gommés hydrosolubles aussi connues comme 'hydrocolloïdes', sont utilisés pour diverses applications telles que des fibres alimentaires, des modificateurs de la texture, des agents gélifiants, épaississants, stabilisants et émulsifiants [42].

3.4.3.2. Mucilages

Les mucilages sont généralement des produits normaux du métabolisme, formés à l'intérieur de la cellule (formation intracellulaire) et / ou sont produits sans dommage pour la plante, Bien que le rôle biologique des mucilages dans les semences de plantes est encore incertain, il est pensé que c'est pour aider à la dispersion et/ou de la protection de la plantule émergents au cours de l'imbibition et de la germination. Il est noté que le composant majeur des mucilages est les pectines, un polysaccharide acide qui forme des gels dans la matrice extracellulaire. Il est présent dans toutes les parois cellulaires [45].

4. Les propriétés physiques des polysaccharides

Les propriétés seront mises en exergue en fonction de leur utilisation dans le domaine alimentaire. La nature des polysaccharides influence fortement leurs propriétés physiques. En milieux aqueux les molécules linéaires forment généralement des solutions plus visqueuses que les molécules branchées car elles ont un volume hydrodynamique plus important. Les molécules linéaires ont aussi une plus grande tendance à précipiter en milieux concentré car leur conformation favorise les interactions intermoléculaires. Il peut en résulter un état plus ou moins cristallin ; comme pour l'amidon lors de la rétrogradation certains homoglycanes comme la cellulose sont insolubles car les ponts hydrogène intra et intermoléculaires sont très stable et forment un réseau cristallin hautement organisé empêchant la pénétration de l'eau. Les composés ramifiés sont souvent plus solubles que les composés linéaires et forment plus facilement des gels car les interactions intermoléculaires sont moins fortes. Par contre, les solutions sont souvent plus collantes à cause de l'enchevêtrement des chaînes latérales. La charge des polymères exerce aussi une influence sur leur comportement en fonction du pH ou de la présence de sels, par exemple, la pectine et l'alginate précipitent à bas PH lorsque les groupements carboxyles sont neutralisés, par contre, lorsque ces groupements sont

déprotonés, la répulsion entre les charges fait que les molécules prennent une conformation étendue, donnant des solutions visqueuses. La présence de sels peut aussi induire des associations de chaînes car des cations divalents peuvent stabiliser des groupements chargés, et forme des structures de type Egg-box ou boîte à oeufs.

La viscosité d'une solution est fonction de la taille de la structure des molécules. La structure des molécules influence leur flexibilité ou leur rigidité, par exemple la rotation autour des liaisons glycosidiques, et ainsi la forme que la molécule adoptera en solution [47].

5. Activités biologiques des polysaccharides

La diversité structurale des polysaccharides quelle que soit leur origine, qui peut être animale, végétale ou microbienne, confère à ses macromolécules de nombreuses activités biologiques. Grâce à leurs propriétés interactives et régulatrices, les polysaccharides participent au contrôle de l'activité cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration) mais également dans l'activité de nombreuses enzymes [48].

5.1. Activité antioxydante

L'étude *in vitro*, montre que ce polysaccharide possède une activité de piégeage des radicaux 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) et des radicaux hydroxyl, et également une puissance réductrice et une activité chélatrice forte sur l'ion ferreux [49].

5.2. Activité anticoagulante des polysaccharides

Quatre classes distinctes de polysaccharides sulfatés (héparine, dermatane-sulfate, chondroïtine sulfate fucosylé et fucoïdane des algues) ont toutes une activité anticoagulante, due à leur interaction avec les enzymes et les inhibiteurs du système de la coagulation. Leurs effets anticoagulants dépendent d'un modèle exact de substitution sulfurique. Une petite modification dans la structure de dermatane-sulfate, du galactosamine-4-O-sulfate à un galactosamine-6-O-sulfate, conduit à une perte presque complète de l'activité anticoagulante, en dépit d'un niveau global élevé de sulfatation. Le chondroïtine-6-sulfate-3-fucose, isolé du concombre de mer possède une activité anticoagulant et antithrombotique en fonction de ses branches de fucose sulfatés. L'activité anticoagulante des fucanes d'algues, est comparée à celle des fucanes-sulfate réguliers et linéaires à partir des échinodermes marins. De même une forte activité semble être en corrélation avec la présence des branches sulfatés de fucose [50].

5.3. Activité immunomodulatrice des polysaccharides

Certains polysaccharides alimentaires ont montré des effets immunomodulateurs divers dans certains tissus animaux, y compris le sang, le tractus gastro-intestinal et la rate. Dans des essais contrôlés sur les êtres humains, l'apport de polysaccharides a stimulé le système immunitaire dans le sang d'adultes en bonne santé. Cet apport a atténué la réponse allergique à un agent inflammatoire des voies respiratoires. Il a amélioré la survie chez les patients cancéreux [51].

Le mécanisme de base de l'immunostimulant, l'anti-tumoral, le bactéricide et d'autres effets thérapeutiques des polysaccharides végétaux, semble survenir via la stimulation des macrophages et la modulation du système du complément [52].

Généralement, les polysaccharides sont considérés comme des antigènes cellulaires T-indépendantes classiques qui ne provoquent pas de réponses immunitaires à médiation cellulaire mais qui provoquent une immunité humorale. Cependant, certains polysaccharides d'origine microbienne, sont décrits comme immunomodulateurs puissants ayant une activité spécifique pour les cellules T et les cellules présentatrices d'antigènes telles que les monocytes et les macrophages [53].

5.4. Activités antitumorale et anticancéreuse

De nombreuses études ont suggéré que les polysaccharides peuvent inhiber la croissance tumorale par des mécanismes communs comme la prévention de l'oncogenèse par la consommation orale de préparations actives; une activité anticancéreuse directe, telle que l'induction de l'apoptose des cellules tumorales; l'activité immunopotentialisation associée à une chimiothérapie et l'inhibition de la métastase tumorale [54].

6. Les applications des polysaccharides en médecine

Les polysaccharides sont les principales substances nutritives de la plupart des organismes. Ils fournissent l'énergie et les carbones nécessaires pour la biosynthèse de protéines, d'acides nucléiques, de lipides et d'autres glucides. Les herbes officinales, contenant des polysaccharides sont largement utilisées pour le traitement des maladies dans la médecine traditionnelle et moderne.

Les polysaccharides ont reçu, en raison de leurs propriétés immunomodulatrices, une attention particulière de la part des chercheurs oeuvrant dans le domaine biomédical.

Plusieurs polysaccharides fongiques ont en effet la particularité de stimuler les défenses de l'hôte en favorisant la maturation, la différenciation et la prolifération des cellules immunitaires, ce qui leur confère plusieurs propriétés thérapeutiques notamment des propriétés anticancérigènes, antibactériennes et antivirales [55].

Partie

Expérimentale

Introduction

Ce chapitre est consacré à :

- L'extraction des polysaccharides hydrosolubles d'*Allium sativum L.* utilisant différents procédés d'extraction.
- Détermination de la teneur des polysaccharides obtenus par les différents procédés,
- Caractérisation structurale par infra rouge,
- Evaluation de l'activité antioxydant des extraits bruts des polysaccharides par la méthode de piégeage de radical libre DPPH et tester l'activité antimicrobienne.

Le schéma directeur de l'expérimentation est donné dans la figure suivante :

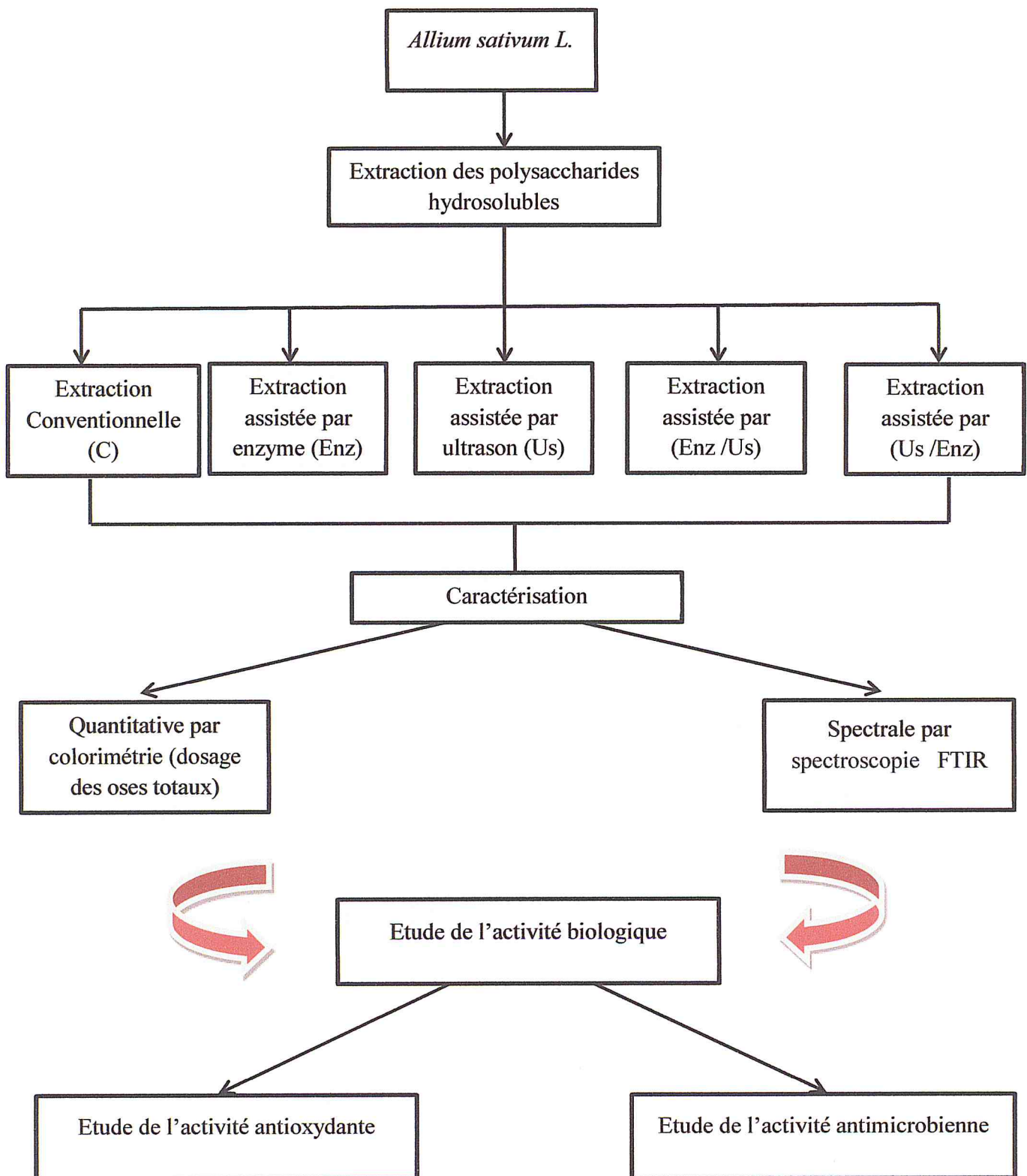


Figure n° 06 : Représentation schématique des étapes expérimentales de notre étude.

1. Matériels

1.1. Matière végétal

Notre étude a porté sur les bulbes d'*Allium sativum*. L (l'ail) (var. l'ail rouge). Ont été recueillis le mois d'Avril 2015, dans la région de Béni Slimane située à une centaine de kilomètres au sud-ouest d'Alger, de la wilaya de Médea. Les bulbes ont été pelés puis coupés en morceaux et séchés dans une étuve de type bimder memmert à 60 °C. Jusqu'à l'obtention d'un taux d'humidité égale à 10%. Les matériaux secs ont été moulus en poudre à l'aide d'un mélangeur mécanique à haute vitesse [56].



Figure n° 07 : la poudre du bulbe d'*Allium sativum* .L.

1.2 Réactifs chimiques

Les différents réactifs utilisés sont : l'éthanol, le méthanol, l'éther de pétrole, l'acétone, le chloroforme, fournis par Sigma-Aldrich (Allemagne), et le butanol par Panreac Quimica (Espagne). L'acide ascorbique par Panreac Quimica (Espagne), l'acide sulfurique par falc, l'acide citrique par janssen chimica. le DPPH diphénylpicryl β hydrazyl ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) Alfa Aesar, (Allemagne). L'enzyme Cellulase E.C.3.2.1 (1000u/g) par Sigma-Aldrich (Allemagne), Le phénol par falc, le glucose (Panreac Quimica (Espagne).

2. Extraction des polysaccharides hydrosolubles

50g de poudre d'*Allium sativum.L* a été extraite avec des solvants organiques de polarité différente (l'éther de pétrole, l'acétone et le méthanol), dans un appareil de soxhlet pour éliminer les lipides et les molécules de faible poids moléculaire [56].

Après séchage, 10 g de la poudre a été macérée dans 1L l'eau distillée à 100°C pendant deux heures, le mélange a été soumis à une douce agitation. Après une filtration sur papier filtre.

Le filtrat (la phase surnageant a été concentré 20 % (P/V) sous pression à l'aide d'un rota vapeur de type Heidolph à température égale à 80°C.

Les protéines sont éliminées par le procédé SEVAG (1:4 n-butanol: chloroforme, v/v, 40 ml). L'extrait sont précipités par trois volumes d'éthanol absolu [57], le mélange a été conservé dans un réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures. Les polysaccharides bruts sont obtenus après centrifugation à 4000 tpm pendant 15 min [58]. L'extrait brut des polysaccharides a été séché à l'air libre à une température de 40°C [59]. Les étapes de cette extraction sont détaillées dans le schéma de la figure n°08.

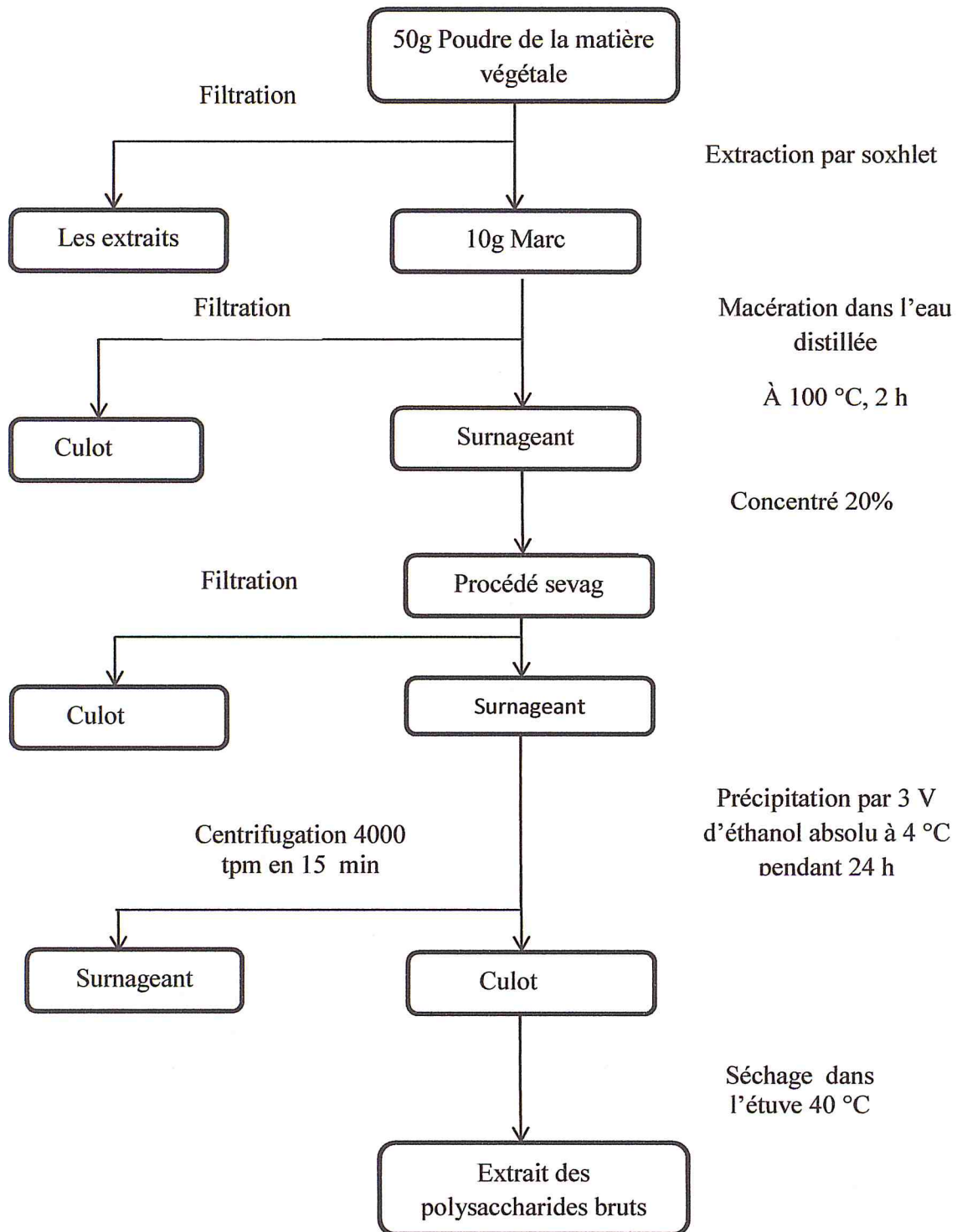


Figure n° 08 : Schéma représentatif du procédé d'extraction conventionnel des polysaccharides hydrosolubles bruts.

3. Extraction par ultra-sons ou sonication

L'utilisation des ultrasons est une technique qui est apparue en 1950 [60], avec des équipements de taille laboratoire. Les deux types d'appareillage utilisés sont les bains à ultrasons et les extracteurs fermés équipés d'un capteur ultrasonique. Les ultrasons sont des ondes sonores inaudibles par l'humain de fréquence comprises entre 20 KHz et 100MHz. Au-delà de 20 KHz, Les ondes génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. La technique d'extraction par ultrasons est basée sur le principe de cavitation. Lorsque les US se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de décompression. Ce phénomène est appelé cavitation [61]. Les zones de décompression et compression provoquent, si elles sont suffisamment intenses, des cavités de faible taille [62]. Une étude comparative entre l'extraction assistée par ultrason et l'extraction des composés aromatiques de l'*Allium sativum* .L [63] a montré la diminution significative du risque de dégradation thermique et la diminution du temps d'extraction. Les effets mécaniques des ultrasons incitent la libération des composés solubles de la plante par la destruction des parois cellulaires, augmentant le transfert de masse et facilitant l'accès du solvant au contenu de la cellule. Cet effet mécanique est considérable à faible fréquence (20- 40 KHz) et pratiquement négligeable à 400-800 KHz [64]. L'extraction assistée par ultrasons est une alternative rapide, peu coûteuse, simple et efficace par rapport aux techniques conventionnelles d'extraction. Cette méthode offre de nombreux avantages en termes de rendement, de sélectivité, de temps, d'énergie et d'extraction des composés thermolabiles.

➤ Mode opératoire

Après prétraitement du broyat séché d'*Allium sativum*.L avec les solvants organiques dans un appareil soxhlet (comme décrit dans le paragraphe 2), 10g de poudre séchée est macérée dans l'eau distillé (proportion de 1% (p/v)) dans le bécher. Ensuite, le bécher est placé dans un bain d'un ultrason de marque falc, Mod LBS2 10 Lt 550 W, exposé à l'extraction pendant 60 minutes sous les conditions optimisées suivantes : la puissance ajustée à 220 W (40 %), la fréquence de 40 KHz, à température 50 ° C [65]. Après l'extraction avec le traitement ultrasonique, l'extrait est ensuite filtré. Le filtrat a été concentré à 20 % (P/V) sous pression à une température de 80 ° C par un rota vapeur. Les protéines sont éliminées par le réactif de SEVAG [59]. Les extraits sont précipités par trois

volumes d'éthanol absolu, le mélange a été conservé dans un réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures. Les polysaccharides bruts sont obtenus après centrifugation à 4000 tpm pendant 15 min [58]. L'extrait brut des polysaccharides a été séché à l'air libre à une température de 40°C [59]. Les étapes de cette extraction sont détaillées dans le schéma de la figure n°09.

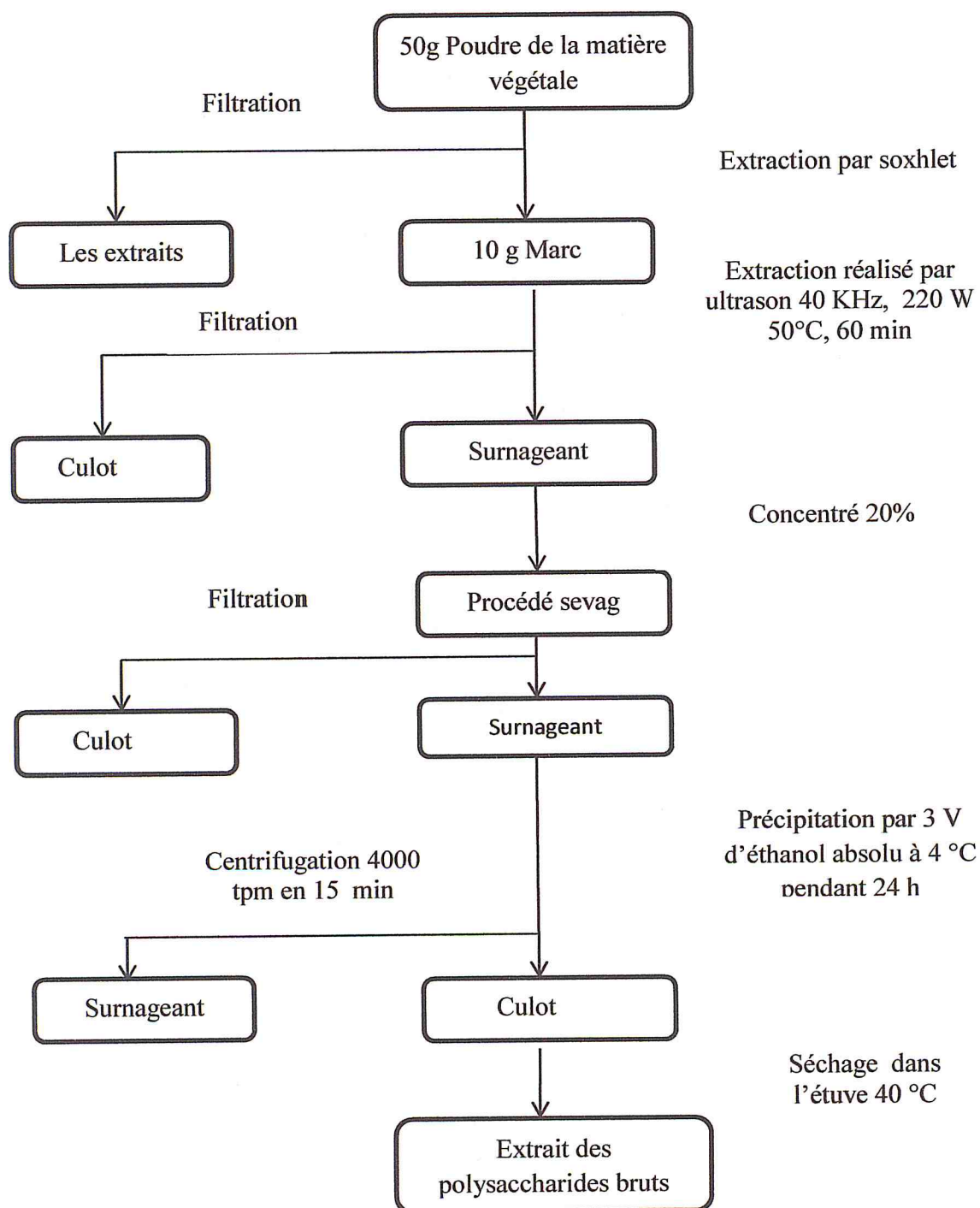


Figure n° 09 : Schéma représentatif du procédé d'extraction des polysaccharides hydrosolubles brut par ultrason.

4. Extraction assistée par enzyme

Les méthodes d'extraction assistée par l'enzyme reçoivent de plus en plus d'attention en raison du besoin de la technologie à l'extraction écologique. Une caractéristique quantitative du traitement enzymatique dans l'industrie est représentée dans la littérature par une faible application des enzymes. La réaction des enzymes est souvent considérée comme une alternative à la destruction thermo-mécanique des parois cellulaires.

La connaissance préalable de la composition de la paroi cellulaire de la matière première permet dans la sélection d'une enzyme ou d'enzymes utile pour le prétraitement. Pour cela diverses enzymes telles que la cellulase, l'hémicellulase, ect... sont souvent nécessaires pour rompre l'intégrité de la structure de la paroi cellulaire de la plante, ce qui améliore l'extraction de composés bioactifs à partir de plantes. Ces enzymes qui peuvent être dérivées des bactéries, des champignons, des organes d'animaux ou d'extraits de légumes / fruits, hydrolysent les composants de la paroi cellulaire, ce qui accroît la perméabilité de la paroi cellulaire qui se traduit par des meilleurs rendements d'extraction de composés bioactif [66].

Des méthodes d'extraction assistée par l'enzyme ont donné des rendements élevés d'extraction pour des composés comprenant les polysaccharides [67]. Les études récentes sur l'extraction assistée par l'enzyme ont montré une extraction plus rapide et offre une économie en énergie une fois comparée aux méthodes non enzymatiques, elle a un impact environnemental moindre. Les extractions à base d'enzymes font l'objet de la recherche continue et ont le potentiel d'être commercialement intéressants [66].

➤ Mode opératoire

Après le prétraitement du broyat séché d'*Allium sativum.L* avec les solvants organiques dans un appareil soxhlet (comme décrit dans le paragraphe 2). 10g de poudre séchée a été macéré dans l'eau distillée pour obtenir une suspension à une concentration 1%(P/V) [56]. Le pH de la suspension est ajusté à 4,8 par l'acide citrique (2 ml, 1M) [68], ensuite une concentration de 0.5% de l'enzyme cellulase (1000 u/g) a été ajoutée [69]. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 80 min. L'extrait a été filtré à l'aide d'un papier filtre et le filtrat a été concentré 20 % (P/V) ; sous pression à une température de 80 °C à l'aide d'un rota vapeur. Les protéines sont éliminées par le réactif de SEVAG. Les extraits sont précipités par trois volumes d'éthanol absolu [56], le mélange a été conservé dans un réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures. Les polysaccharides bruts sont obtenus après centrifugation à 4000 tpm pendant

15 min [58]. L'extrait brut des polysaccharides a été séché à l'air libre à une température de 40°C [59].

Cette expérimentation est schématisée par la figure suivante :

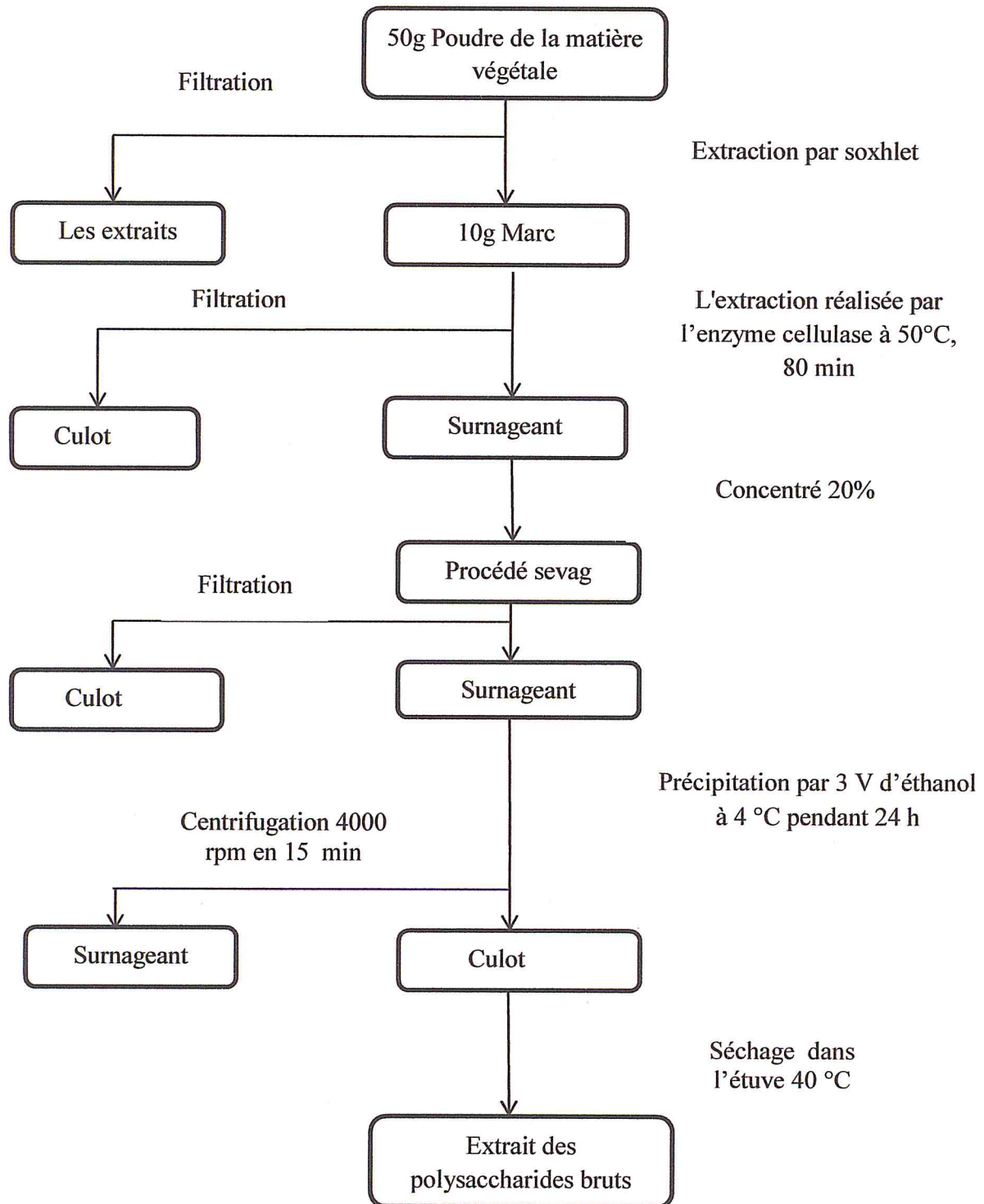


Figure n° 10 : Schéma représentatif du procédé d'extraction des polysaccharides hydrosolubles brut par enzyme.

5. Extraction assistée par enzyme /ultrason

L'extraction des polysaccharides a été réalisée par l'enzyme cellulase. Après prétraitement du broyat séché d'*Allium sativum.L* avec les solvants organiques dans un appareil soxhlet (comme décrit dans le paragraphe 2). 10g de poudre séchée a été trempée dans l'eau distillée pour obtenir une suspension à une concentration 1%(P/V). Le pH de la suspension est ajusté à 4,8 par l'acide citrique (2 ml, 1M), ensuite une concentration de 0.05% de l'enzyme cellulase (1000 u/g) a été ajoutée. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 60 min. La solution est placée dans un bécher qui a été ensuite mis dans le bain d'ultrason pendant 30 minutes à une température de 50°C. La puissance est ajustée à 220 W (40 %) à une fréquence de 40 KHz. Le filtrat a été concentré 20 % sous pression à une température de 80 °C par un rota vapeur. Les protéines sont éliminées par le réactif SEVAG. Les extraits sont précipités par trois volumes d'éthanol absolu, le mélange a été conservé dans un réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures. Les polysaccharides bruts sont obtenus après centrifugation à 4000 tpm pendant 15 min. L'extrait brut des polysaccharides a été séché à l'air libre à une température de 40°C.

6. Extraction assistée par ultrason /Enzyme

10g de la poudre séchée d'*Allium sativum.L* extraite par soxhlet est mélangée avec de l'eau distillée à une proportion de 1% (P/V) dans un bécher. Ensuite le bécher a été placé dans le bain ultrason. La poudre a été extraite en utilisant les ondes ultrason pendant 30 min à une température de 50°C et une puissance ajustée à 220 W (40 %), fréquence 40 KHz. Le pH de la solution est ajusté à 4,8 par l'ajoute 2 ml l'acide citrique (1M). Ensuite, une concentration de 0.05% de l'enzyme cellulase (1000 u/g) a été ajoutée. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 60min.

Le filtrat a été concentré à 20 % sous pression à une température de 80 °C par un rota vapeur. Les protéines sont éliminées par le réactif de SEVAG et l'extrait a été précipité en ajoutant trois volumes d'éthanol absolu, Les extraits sont précipités par trois volumes d'éthanol absolu, le mélange a été conservé dans un réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures. Les polysaccharides bruts sont obtenus après centrifugation à 4000 tpm pendant 15 min. L'extrait brut des polysaccharides a été séché à l'air libre à une température de 40°C.

Le rendement d'extraction est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$R(\%) = M_{\text{extrait}} / M_{\text{échantillon}} \cdot 100$$

Avec :

R(%) : rendement d'extraction en pourcentage ;

M_{extrait} : masse de l'extrait en gramme ;

M_{échantillon} : masse de l'échantillon en gramme.

7. Caractérisation quantitative par la méthode de DUBOIS (1956), dosage des oses totaux par Colorimétrie

7.1. Dosages colorimétriques

Une solution mère de 1g/l soit 0,1% est préparée à partir de chaque extrait brut de polysaccharides à analyser. Cette solution est diluée à 1/10 pour obtenir une solution de 0,01% utilisée pour les différents dosages [1].

➤ Dosages des oses totaux

Pour déterminer la concentration des oses totaux dans les extraits bruts, la quantification se fait selon la méthode de DUBOIS (1956) [70].

➤ Principe

Les oses simples, les oligosaccharides, les polysaccharides et leurs dérivés donnent une couleur jaune-orange lorsqu'ils sont traités avec du phénol et de l'acide sulfurique concentré. La réaction est sensible et de coloration stable [70]. Elle se base sur la formation des chromophores. L'acide sulfurique provoque l'hydrolyse des liaisons osidiques et une tétradéshydratation suivie d'une cyclisation des monosaccharides libérés pour donner des dérivés furfuraliques et des dérivés d'acide 5 - formylfuroïque réagissant avec le phénol ce qui forme un complexe orange [71]

➤ **Réactif**

La solution de réactif de phénol à 5 % est préparée par l'ajout de 100 ml d'eau distillée à 5g de phénol. La solution mère d'étalon est préparée par l'ajout de 10 mg de glucose dans 100ml d'eau distillée [72].

➤ **Mode opératoire**

Dans des tubes en verres placer un mélange de 200 μ l d'échantillon et 200 μ l de phénol 5 %. Après homogénéisation, 1ml d'acide sulfurique H₂SO₄ (96%), est rapidement introduit dans le milieu réactionnel. Les tubes sont ensuite incubés à 100 °C pendant 5 mn, puis ils sont laissés 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 492 nm [72].

Une gamme étalon de glucose (Glc) est réalisée avec des concentrations comprises entre 0,01 et 0.1 g/l. dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage, les Polysaccharide contient on a été calculé par rapport le glucose standard [1].

8. Analyse spectrale

8. 1. Caractérisation par infra-rouge à transformé de Fourier « FTIR »

➤ **Principe**

Spectroscopie infrarouge est une méthode rapide permettant la caractérisation des groupements fonctionnels et des composants majeurs de différents échantillons. La spectroscopie infrarouge se caractérise par des excitations vibrationnelles et rotationnelles à chacune des régions spécifiques du spectre électromagnétique.

Avec l'arrivée de la génération des spectromètres à transformer de Fourier, l'évaluation qualitative et quantitative des données se fait plus facilement et de façon plus précise [73].

Les échantillons en phase solide ont été préparés à l'aide d'une solution solide de bromure de potassium, KBr, où la concentration de l'échantillon à analyser est de 1,0 mg de polysaccharides pour 200 mg de KBr. Le spectre de la référence de KBr est pris dans les mêmes conditions d'analyse pour être soustrait du spectre des échantillons. Il en résulte un spectre expérimental n'incluant pas la référence et la réduction du bruit de fond permet de maximiser l'interprétation. La région étudiée s'étend de 4000 à 400 cm^{-1} [74].

9. Etude de l'activité antioxydante

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé un test chimique à savoir : le piégeage du radical libre DPPH.

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de notre matière végétale nous avons appliqué ce test sur les cinq extraits des polysaccharides d'*Allium sativum* .L .

9.1 . Test de piégeage du radical libre DPPH

➤ Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des polysaccharides. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le radical DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire [75].

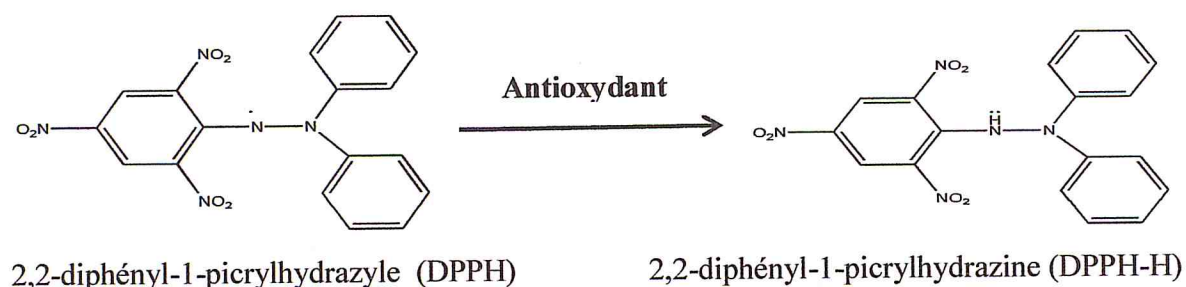


Figure n°11 : Réduction du radical DPPH.

Dans ce test, les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune, le DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu éthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non coûteux [76]

➤ Protocole expérimental

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait ainsi exprimées en mg/ml (0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2, 0.3, 0.4) ajoutées à 1.95 µl de la solution éthanolique du DPPH (0.025 mg/ml) fraîchement préparé. Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 517 nm [77].

Le blanc est représenté par l'eau distillée puisque nous avons réalisé la dilution de notre gamme par l'eau distillée, le témoin négatif est composé de 1.95 µl de la solution éthanolique de DPPH et 50 µl de solvant, le témoin positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard: l'acide ascorbique (vitamine C).

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire (Radical Scavenger Activity) ou pourcentage d'inhibition (I%) est estimée selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle négatif}} \times 100$$

Détermination d'IC₅₀ :

Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante [78]. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et des standards.

10. Etude Activités biologiques

10.1 Etude de l'activité antibactérienne et antifongique

Le pouvoir antifongique et antibactérien des extraits polysaccharides hydrosolubles d'*Allium sativum.L* a été déterminé sur deux milieux différents : gélose de Muller Hinton et gélose de Sabouraud. Pour ce faire, nous avons utilisé la technique de diffusion sur milieu Solide [79]. C'est une méthode similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche microbienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs produits.

➤ **Préparation des milieux de culture**

Les géloses ont été coulées dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées avant l'emploi.

➤ **Microorganismes utilisés**

Les souches utilisées dans notre étude sont référencées ATCC (American Type Culture Collection). Elles ont été choisies pour leurs contaminations élevées et leurs pathogénicités. Les tests sont réalisés sur quatre bactéries (*Escherichia coli* (Gram⁻), Pseudomonadacées (Gram⁻), *Staphylococcus aureus* (Gram⁺), *Bacillus subtilis* (Gram⁺), et les souches fongiques Souche fongique, *Candida albicans*, *Aspergillus*, *Saccharomyces cerevisiae* provenant du laboratoire d'Hygiène de Blida. Ces souches ont été reçues dans des tubes stériles contenant 10ml de l'eau physiologique.

➤ **Préparation des extraits**

Les différents extraits ont été dissous dans l'eau distillée, à concentration 50mg/ml puis 100 mg/ml.

➤ **Ensemencement**

Des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sontensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la solution bactérienne, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

➤ **Préparation des disques**

Des disques de papier Wathman n°1 de 9 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait naturel à tester.

➤ **Dépôts des disques**

A l'aide d'une pince stérile, les disques stériles de papier de Wathman 9 mm du diamètre, contenant les extraits sont déposés sur la surface gélosée. Après diffusion des extraits dans la gélose pendant 30min à température ambiante, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture:**

La lecture s'effectue après 24h d'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des HV. L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure à l'aide d'un pied à coulisse des diamètres des zones d'inhibition (mm) formées autour des disques. La sensibilité des microorganismes cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition.

Tableau n° 04 : Relation entre le diamètre d'inhibition et la sensibilité des souches [79].

Diamètre d'inhibition (mm)	Sensibilité des souches
0-8 mm	non sensible
9-14 mm	Sensible
15-19 mm	très sensible
> 20 mm	extrêmement sensible

Résultats Et discussion

Extraction des polysaccharides hydrosolubles d'*Allium sativum.L*

Les polysaccharides hydrosolubles d'espèce végétale *Allium sativum.L*. Obtenus par cinq procédés différents, extraction conventionnelle/macération (EXT C), extraction assistée par enzyme (cellulase) (EXT Enz), extraction par ultrason (EXT Us), extraction assistée par enzyme/ultrason (Enz/Us), extraction par ultrason /enzyme (Us/enzyme).

Les rendements d'extraction des polysaccharides bruts et l'extrait lipidique de l'espèce *Allium sativum.L*. Sont présentés dans le tableau suivant :

Tableaux n°05 : Représentation des Rendements des différents extraits des polysaccharides hydrosolubles bruts d'*Allium sativum.L*.

Les extraits	M _{extrait} (g)	Rendement %
EXT lipidique	0.35	0.7%
EXT C	3.35	33.5%
EXT Enz	4.66	46.6%
EXT US	3.8	38%
EXT Enz/Us	4.48	44.8%
EXT Us/Enz	2.8	28%

L'examen du tableau montre que les rendements en polysaccharides varient selon la méthode d'extraction. Le meilleur rendement est obtenu avec l'extrait assisté par l'enzyme cellulase (EXT Enz) (46.6%), suivi par l'extrait (EXT Enz/Us) (44.8%), suivi par l'extrait assisté par ultrason (EXT Us) (38%) et l'extrait obtenu par la méthode conventionnelle (EXT C)/macération (33,5%). Quant à la fraction lipidique obtenue après extraction par soxhlet, elle ne présentait que 0,7% de la masse totale de la poudre de l'*Allium sativum.L*.

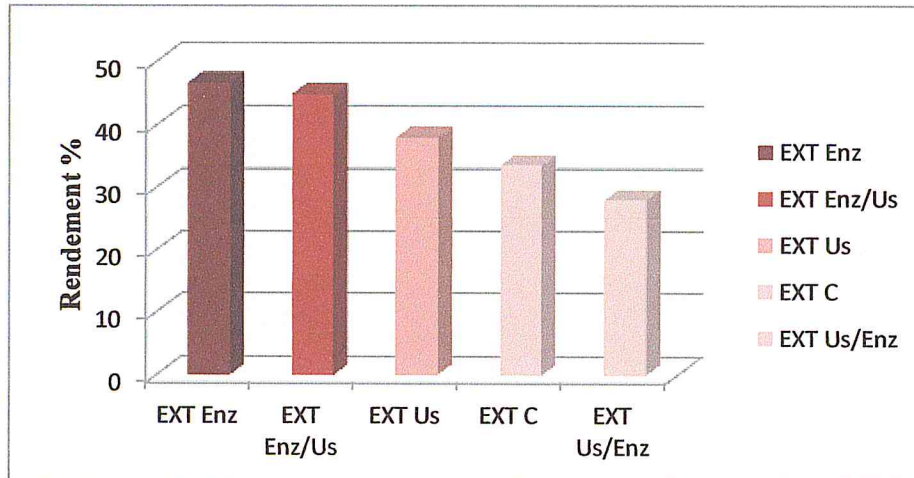





Figure °12 : Représentation graphique des Rendements des différents extraits des polysaccharides hydrosolubles bruts d'*Allium sativum.L*

11. Propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques (aspect, couleur et odeur) des différents extraits sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau n°06: Les propriétés organoleptiques des extraits d'*Allium sativum.L*

L'extrait	propriétés organoleptiques	
EXT C	<ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : jeune claire • Odeur : caractéristique 	
EXT Enz	<ul style="list-style-type: none"> • Aspect : miel • Couleur : jeune foncé • Odeur : caractéristique 	
EXT Us	<ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : jeune claire • Odeur : caractéristique 	

EXT Enz/Us	<ul style="list-style-type: none"> • Aspect : miel • Couleur : jeune • Odeur : caractéristique 	
EXT Us/Enz	<ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : jeune claire • Odeur : caractéristique 	
EXT L	<ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : jeune vert • Odeur : caractéristique 	

12 Caractérisation quantitative par la méthode de DUBOIS (1956),

12.1. Dosage des oses totaux par Colorimétrie

La quantité des oses totaux a été déterminée par la méthode de DUBOIS (1956). Le glucose a été utilisé comme standard, l'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 492 nm. Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur des oses totaux présents dans l'échantillon.

La méthode de DUBOIS (1956), a été choisie pour doser les oses totaux pour les raisons suivantes ; c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, la disponibilité et la méthode est bien standardisée, la grande longueur d'onde (492nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche des antioxydants alimentaires à travers le monde [70].

La quantification des oses totaux a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par une solution étalon (glucose) à différentes concentrations. Le tableau suivant enregistre les absorbances de glucose à chaque concentration :

Tableau n°07 : Absorbances de la gamme de concentration de glucose.

C (mg/ml)	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.07	0.08	0.09
Abs	0	0.092	0.139	0.255	0.311	0.416	0.573	0.635	0.716

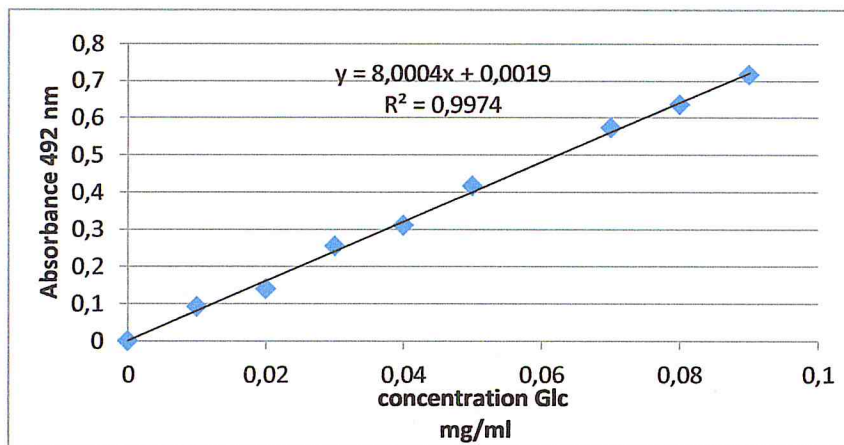


Figure n°13 : Courbe d'étalonnage de glucose pour le dosage des oses totaux.

La concentration des oses totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le glucose ($Y=8.0004X + 0.0019$) sachant que : $R=0,9974$. En remplaçant le Y par l'absorbance de notre extrait qui a subi le même traitement que les solutions filles.

Tableau n°08 : Les résultats de concentration des oses totaux des extraits bruts des polysaccharides.

Les extraits	EXT C	EXT Us	EXT Enz	EXT Enz/US	EXT US/Enz
Abs	0.341	0.558	0.379	0.431	0.309
Concentration mg/ml	0.042	0.07	0.047	0.054	0.038

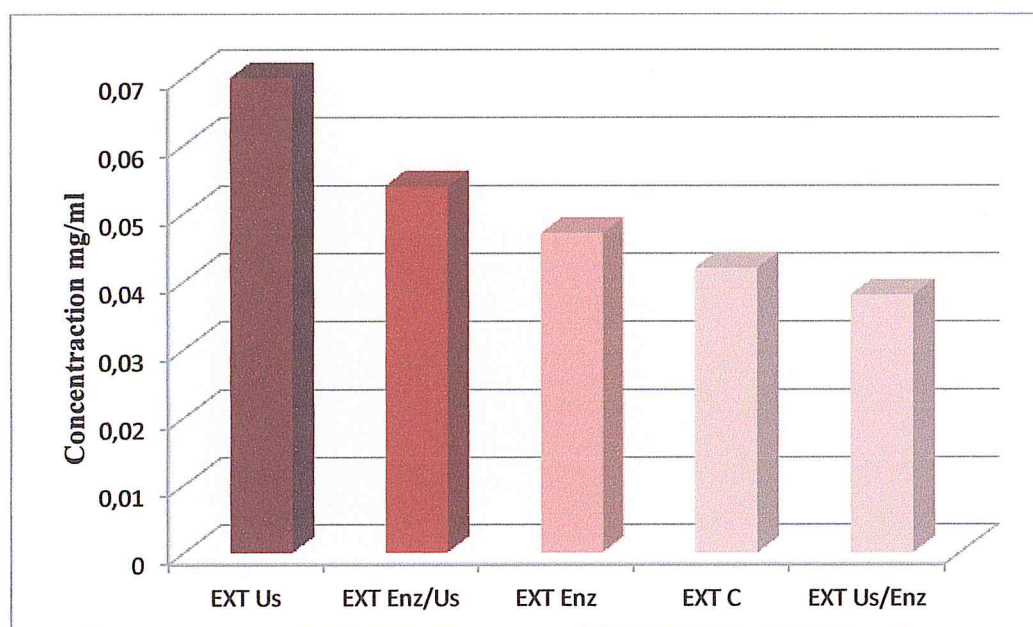


Figure n°14 : Représentation graphique des concentrations des oses totaux des différents extraits des polysaccharides bruts d'*Allium sativum.L*

13. Analyse spectrale par FTIR

Le spectre FTIR des extraits polysaccharides bruts est représenté dans la figure suivante :

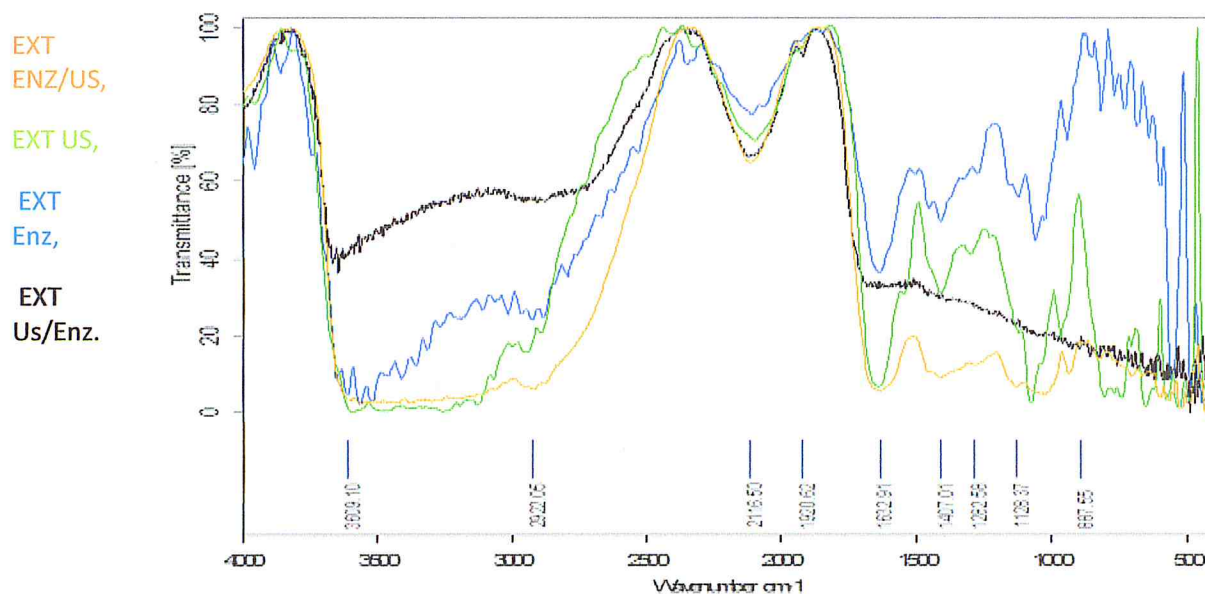


Figure n°15 : Le spectre FTIR des polysaccharides bruts d'extraits d'*Allium sativum.L.*

Les attributions des fonctions observées en infrarouge sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau n°09 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraits d'*Allium sativum.L*

Nombre d'onde	Attribution des fonctions observées (ν = vibration d'élongation et δ = vibration de déformation)
3609 cm^{-1}	νOH (groupes OH) O-H libre.
2922 cm^{-1}	ν du groupement C-H
1632 cm^{-1}	$\nu\text{C=O}$ d'un AMIDES groupement carboxylique de type cétone
1407 cm^{-1}	δ CH2 aliphatique du sucre
1282 cm^{-1}	$\nu\text{C-C}$ ALCANES
1128 cm^{-1}	$\nu\text{C-O}$ Alcool secondaire

L'analyse Infra-Rouge (IR-TF) a permis de révéler la présence des groupes fonctionnels caractéristiques.

Nous constatons en effet, pour les 4 types d'extraits (EXT Us, EXT Us/Enz, EXT Enz/Us, EXT Enz).

La présence d'une large bande, autour de 3300-3600 cm^{-1} caractéristique des groupements hydroxyles.

Les bandes centrées autour de 2922 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation des bandes CH dans la structure des polysaccharides [74].

La présence d'une bande intense de vibration, autour de 1632 cm^{-1} attribué aux groupements OH formant des liaisons hydrogènes des polysaccharides [74]. Ces mêmes bandes pourraient spécifier la présence d'osamines N-acétylées ([80].

La présence d'une bande intense de vibration, autour de 1456 cm^{-1} concernent les CH_2 aliphatiques des sucres [81].

D'autre part, Les bandes entre 900 et 1200 cm^{-1} , présentes dans les quatre échantillons, sont caractéristiques de structures polysaccharidiques (vibrations des liaisons C-O-C, C-O-H) [82].

14. Etude de l'activité antioxydant

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits (EXT C, EXT Enz, EXT US, EXT Enz/US, EXT US/Enz) a été déterminée par le test de piégeage du radical libre DPPH.

L'activité antioxydante de nos extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotomètre uv-visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune pâle mesurée à 517 nm (photographie représentatif de ce changement de couleur est dans l'annexe 7). Le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire.

La valeur d' IC_{50} représente la concentration d'inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres. Afin de déterminer cette valeur pour chaque

Extrait, les courbes de la variation du pouvoir d'inhibition I% en fonction de la concentration sont établies dans le **tableau n°13** dans l'annexe 7 et représentés dans les figures suivantes :

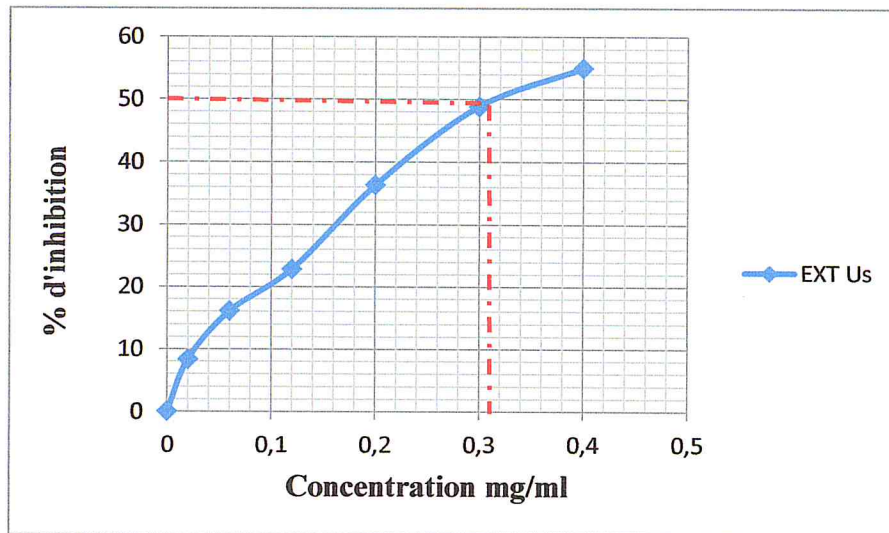


Figure n°16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides extrait Us de bulbe d'*Allium sativum.L.*

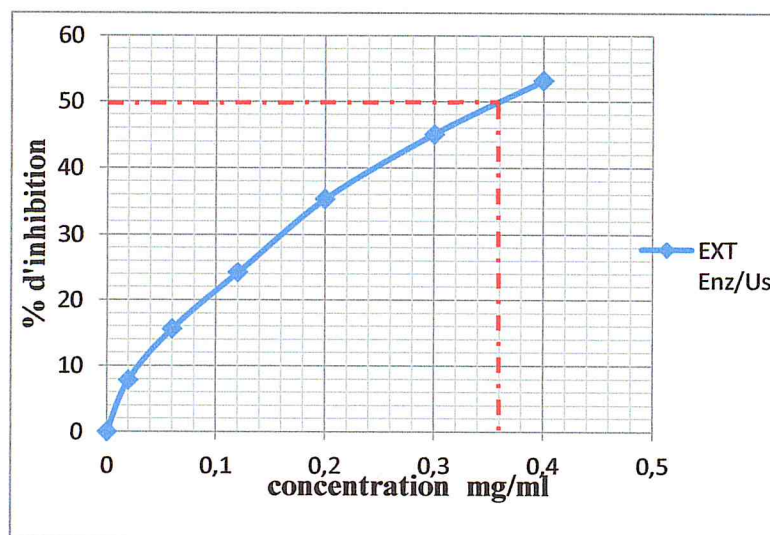


Figure n°17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait Enz/Us de bulbe d'*Allium sativum.L.*

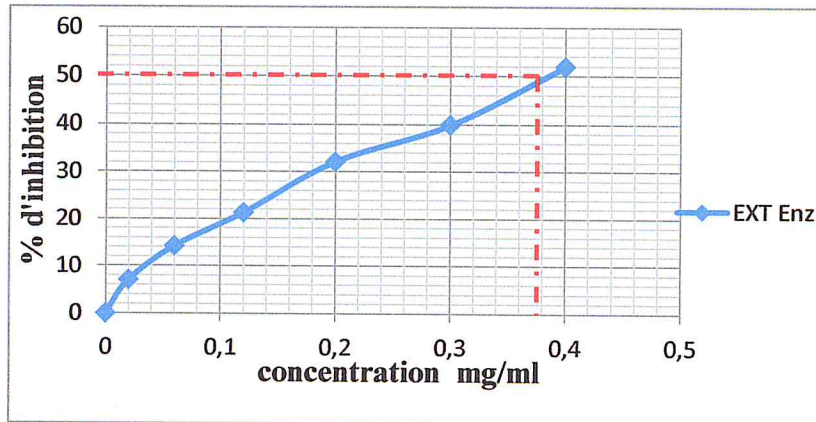


Figure n°18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait Enz de bulbe d'*Allium sativum.L.*

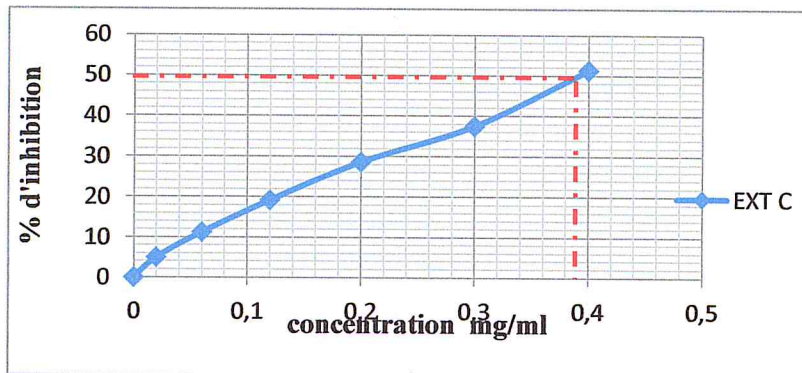


Figure n°19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait C de bulbe d'*Allium sativum.L.*

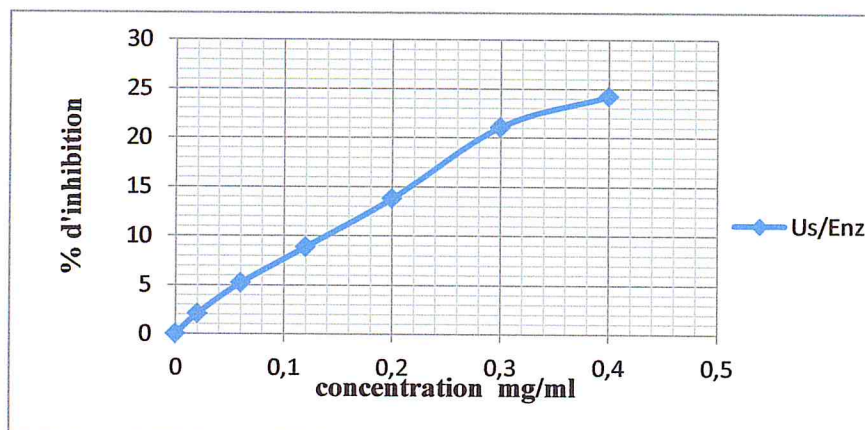


Figure n°20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des polysaccharides d'extrait Us/Enz de bulbe d'*Allium sativum.*

La différence de l'activité est mise en évidence en utilisant ce paramètre IC_{50} qui est inversement proportionnel au potentiel anti radicalaire d'un antioxydant. Une valeur IC_{50} faible correspond à une activité élevée. Ces IC_{50} sont déterminées à partir des graphes Fig^o22 dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydant en pourcentage.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits a été faite en comparant avec celle d'antioxydant standard: acide ascorbique « Vitamine C ». Les résultats obtenus sont présenté dans le tableau n^o14 présent dans l'annexe 7 suite d'une représentation graphique dressée dans la figure n^o 21.

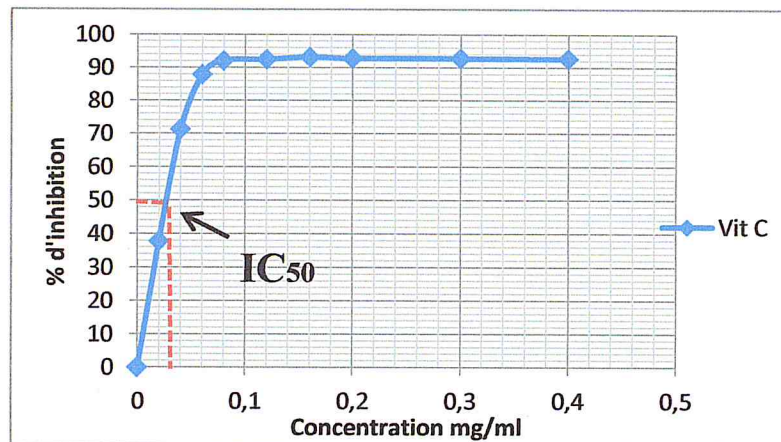


Figure n°21 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de concentration de vitamine C « Acide Ascorbique ».

La Vitamine C représente l'antioxydant standard le plus actif avec une IC_{50} de l'ordre de 0.03 mg/ml.

Pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire qui est inversement proportionnelle à IC_{50} ($ARP = 1 / IC_{50}$) nous avons calculé ce paramètre et illustré graphiquement afin de comparer et justifier nos résultats.

Tableau n°10 : La variation des valeurs d'IC₅₀ et ARP pour chaque extrait et pour l'antioxydant standard.

	Vit C	EXT C	EXT Enz	EXT Enz/Us	EXT Us	EXT Us/Enz
IC₅₀ (mg/ml)	0.03	0.39	0.38	0.36	0.31	0
ARP	33.33	2.56	2.63	2.77	3.22	0

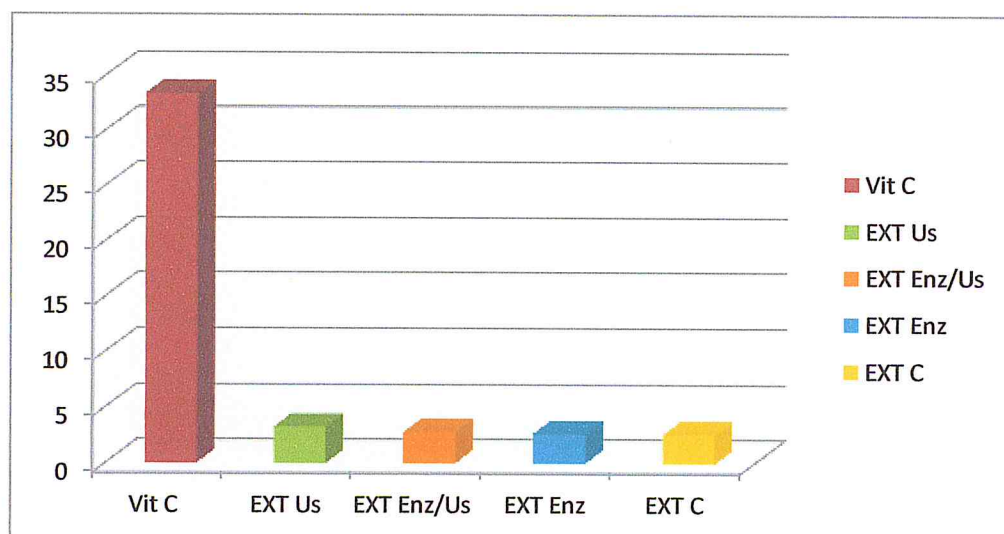


Figure n° 22 : Représentation graphique des extraits et d'antioxydant standard selon leurs ARP « test DPPH ».

Tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire faible envers le DPPH. (Fig n° 22), plus la valeur d'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

D'après les résultats d'IC₅₀, on constate que le meilleur pouvoir antiradicalaire est observé avec les polysaccharides extraits par ultrason, mais qui reste faibles par rapport à l'acide ascorbique.

15. Activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne des différents échantillons a été testée sur les souches bactériennes et sur trois souches fongiques. Les tests sont réalisés sur quatre bactéries (*Escherichia coli* (Gram⁻), *Pseudomonas aeruginosa* (Gram⁻), *Staphylococcus aureus* (Gram⁺), *Bacillus subtilis* (Gram⁺), et les souches fongiques suivantes, *Candida albicans*, *Aspergillus*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Le pouvoir antimicrobien a été obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Tableau n°11 : Activité antifongique des l'extraits polysaccharides bruts sur milieu Sabouraud (mm).

Extraits Souches	EXT C	EXT Enz	EXT Us	EXT Enz/Us	EXT Us/Enz
<i>Candida albicans</i>	<8	<8	<8	<8	<8
<i>Aspergillus</i>	<8	<8	<8	<8	<8
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<8	<8	<8	<8	<8

Tableau n°12 : Activité antibactérienne des l'extraits polysaccharides bruts et zone d'inhibition des souches (mm).

Extraits Souches	EXT C	EXT Enz	EXT Us	EXT Enz/Us	EXT Us/Enz
<i>Escherichia coli</i>	<8	<8	<8	<8	<8
<i>Staphylococcus aureus</i>	<8	<8	<8	<8	<8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<8	<8	<8	<8	<8
<i>Bacillus</i>	<8	<8	<8	<8	<8

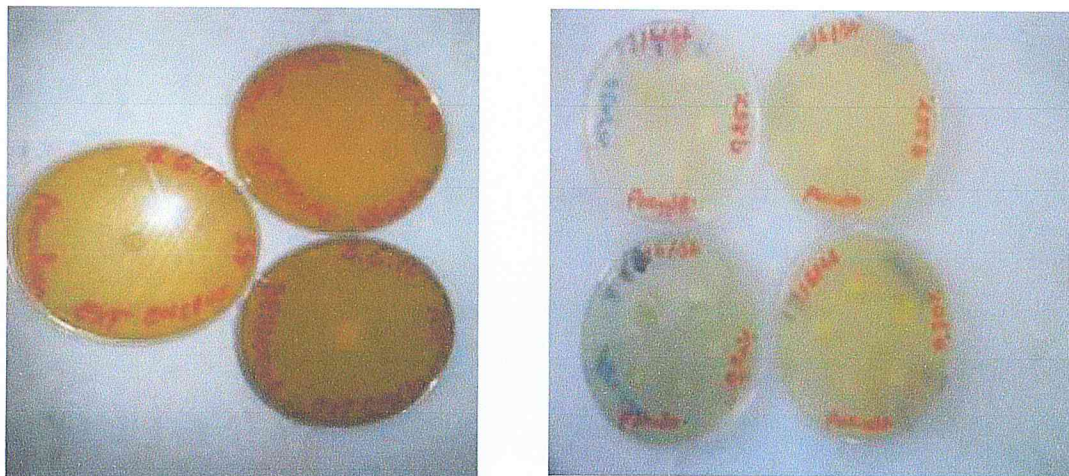


Figure N°23 : Photographies représentatives des tests antimicrobiennes des extraits polysaccharides bruts.

Les résultats obtenus ont montré que les diamètres d'inhibition étaient inférieurs à 8mm, ce qui conclut que toutes les souches microbiennes n'étaient pas sensibles ou résistantes aux différents extraits bruts des polysaccharides.

Conclusion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à étudier l'effet des procédés d'extraction : macération, extraction assistée par la cellulase, extraction assistée par ultrasons, extraction par ultrason-assistée par hydrolyse enzymatique et extraction assistée par hydrolyse enzymatique –ultrason sur le rendement, la teneur en polysaccharides et l'activité biologique des polysaccharides extraites à partir de l'espèce *Allium sativum.L*

Le meilleur rendement (46.6%) a été obtenu par le procédé d'extraction assistée par l'enzyme, suivi par l'extrait (EXT Enz/Us) (44.8%), suivi par l'extrait assisté par ultrason (EXT Us) (38%) et l'extrait obtenu par la méthode conventionnelle (EXT C)/ macération (33,5%)

Quantitativement, l'évaluation du contenu des oses totaux en adoptant la méthode de dosage par colorimétrie ont montré que la meilleur teneur en polysaccharides hydrosolubles obtenu était 0.07 mg/ml pour l'extrait Us, 0,054 mg/ml pour l'extrait Enz/Us, 0,047 mg.ml pour l'extrait Enz, 0,042 mg/ml pour l'extrait par macération (classique) et 0,038 mg/ml pour l'extrait Us/Enz. Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs (les procédés d'extraction et ces conditions).

L'évaluation de l'activité antioxydant des extraits obtenus précédemment a été réalisée par Le test de piégeage du radical libre DPPH en comparant les IC_{50} des différents extraits testés par rapport à l'antioxydant standard: l'acide ascorbique, tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire très faible envers le DPPH mais qui est nettement inférieur à celle de la vitamine C.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits obtenus précédemment a été réalisée par différents souches bactériens et fongiques, les extraits obtenus ne présentent pas d'activité antimicrobienne à concentration 50 et 100 mg/ml. L'ensemble de ces résultats nous permettent de conclure :

- ✓ L'extraction par enzyme possède un meilleur rendement par rapport à les autres procédés d'extractions.
- ✓ L'évaluation de l'activité antioxydant montre que l'extrait Us présente des propriétés antioxydants moyennement considérables.
- ✓ Les extraits ne présentent aucune activité antimicrobienne vis-à-vis les souches.

- [1]. Z. MEHELLOU, « Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien », Mémoire de magister, Université kasdi merbah Ouargla, 2015, p 02.
- [2].K.T. Augusti et C.G. Sheela, Antiperoxide effect of S-allyl cysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats, *Experientia*, 1996, 52 (2), p 15-20.
- [3]. J. LIU, S. WILLFO, and XU C, A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2015, vol. 5: 31 – 61.
- [4]. Q. YUAN, Y. XIE, W. WANG, Y. YAN, H. YE, S. JABBAR. And X. ZENG, Extraction optimization, characterization and antioxidant activity in vitro of polysaccharides from mulberry (*Morus alba* L.) leaves, *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 128: 52-62.
- [5]. M. ADELI and V. SAMAVATI, Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Ziziphus lotus* fruit, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, vol. 72: 580-587.
- [6]. Z. PERSIN, .K STANA-KLEINSCHKEK, T. J. FOSTER, J. E. G. VAN DAM, BOERIU C. G. and P. NAVARD, Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: the epnoe views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers*, 2011, vol. 84: 22-32.
- [7]. M. A. A. MAÏGA, « Etude de la chimie et des activités biologiques de six (6) plantes utilisées dans le traitement traditionnel du diabète : *Allium cepa*; *Allium sativum*; *Daucus carota*; *Eucalyptus globulus*; *Psidium guajava* et *Solanum melongena*. » Thèse de doctorat, Faculté de Pharmacie, USTTB, 2014, p135.
- [8]. P. GOETZ, K. GHEDIRA, « Phytothérapie anti-infectieuse », Springer-Verlag France, Paris, 2012, p 211-218.
- [9]. L. M. LAGUNAS, « L'effet des conditions variables de séchage sur la cinétique de séchage et la qualité de l'ail », Thèse de doctorat, Université Laval, 2007.
- [10]. les plantes médicinales d'Algérie contribution de Lucienne Delille, 2007, p 25-27.
- [11]. ALIX LEFIEF-DELC OURT. L'ail malin les 1001 secrets de cet ingrédient magique pour la santé, la maison et la cuisine, p 36-38.
- [12]. C.M. MESSIAEN, J. COHAT, J.P. LEROUX, M. PICHON, A. BEYRIES, *Les Allium Alimentaires*, reproduits par voie végétative, INRA, paris, 1993, p 79-89.
- [13]. S. JUNG, « apport des drogues végétales dans la prévention des maladies cardiovasculaires liées à l'hypercholestérolémie », thèse de doctorat, université Henri Poincaré - Nancy 1, 2005.

- [14]. J. BRUNETON, Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, TECHNIQUE ET DOCUMENTATION6 LAVOISIER, 1993, p 181-182.
- [15]. N. BENZEGGOUTA, « Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments », Thèse en Pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine, 2005, P 52.
- [16]. EA. O'GARA, DJ. HILL AND DJ. MASLIN, Activities of garlic oil, garlic powder and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66, p2269-2273.
- [17]. Article available at <http://www.parasite-journal.org> or <http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2003102153>.
- [18]. L. HELOU, M. ILA, Harris in «Herbal Products: Toxicology and Clinical Pharmacology», TS Tracy, RL Kingston (ed.) Humana Press Inc, Totowa, NJ Second Edition, 2007.
- [19]. M. ALI, Mechanism by which garlic (*Allium sativum*) inhibits cyclooxygenase activity. Effect of raw versus boiled garlic extract on the synthesis of prostanoids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 1995, 53(6), p 397-400.
- [20]. JD. GAFFEN, IA. TAVARES, A. BENNETT, The effect of garlic extracts on contractions of rat gastric fundus and human platelet aggregation, *Journal of pharmacy and pharmacology*, 1984, 36: 272-4.
- [21]. DL. LAMM, DR. RIGGS, Enhanced immunocompetence by garlic: role in bladder cancer and other malignancies. *J Nutr*, 2001, 131: 1067S-1070S.
- [22]. C-M. GAO, T. TAKEZAKI, DING J-H ET AL. Protective Effect of Allium Vegetables against Both Esophageal and Stomach Cancer: A Simultaneous Case-referent Study of a High-epidemic Area in Jiangsu Province, China. *Jpn. J. Cancer Res*, 1999, 90, p 614-21.
- [23]. Q. YUAN, Y. XIE, W. WANG, Y. YAN, H. YE, S. JABBAR and X. ZENG, Extraction optimization, characterization and antioxidant activity in vitro of polysaccharides from mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 128: 52-62.
- [24]. J. CUMMINGS and A. STEPHEN, Carbohydrate terminology and classification, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2007, vol. 61, S5-S18.
- [25]. R. M. SINGH, N. KAUR and J. F. KENNEDY, Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting. *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 123, p190-207.

- [26]. R. R. ZOHRA, A. AMAN, R.R. ZOHRA, A. ANSARI, M. GHANI and S. A. UL QADER, Dextranase: Hyper production of dextran degrading enzyme from newly isolated strain of *Bacillus licheniformis*. *Carbohydrate Polymers*, 2013, vol. 92, p 2149-2153.
- [27]. M. NACHER-VAZQUEZ, N. BALLESTEROS, A. CANALES, S. RODRIGUEZ SAINT-JEAN, S. I. PEREZ-PRIETO, A. PRIETO, R. AZNAR. and P. LOPEZ, Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 124, p 292-301.
- [28]. A. PALANIRAJ and V. JAYARAMAN, Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*, *Journal of Food Engineering*, 2011, vol. 106, p 1-12.
- [29]. F. GARCÍA-OCHOA, V. E. SANTOS, J. A. CASAS and E. GOÑOMEZ, Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 2000, vol. 18, p 549-579.
- [30]. P. LOTRAKUL, P. DEENARN, S. PRASONGSUK. and H. PUNNAPAYAK, Isolation of *Aureobasidium pullulans* from bathroom surfaces and their antifungal activity against some *Aspergilli*. *African Journal of Microbiology Research*, 2009, Vol. 3, p 253-257.
- [31]. G. JIAO, G. YU, J. ZHANG and H. S. EWART, Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae. *Marine Drugs*, 2011, vol. 9, p 196-223.
- [32]. V. D. PRAJAPATI, P. M. MAHERIYA, G. K. JANI and H. K. SOLANKI, Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol. 105, p 97-112.
- [33]. W.A.J.P. WIJESINGHEA and Y. J. JEON, Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. *Carbohydrate Polymers*, 2012, vol. 88, p 13-20.
- [34]. J. K. FRANCIS SUH and H. W. T. MATTHEW, Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. *Biomaterials*, 2000, vol. 21, p 2589-2598.
- [35]. V. H. POMIN, Sulfated glycans in inflammation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 92, p 353-369.
- [36]. S. WEINMAN et P. MEHUL, *TOUTE LA BIOCHIMIE*. Ed. DUNOD, 2004, p 466.
- [37]. J. WARRAND, Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum usitatissimum*), Thèse doctorat, Université de PICARDIE JULES VERNE, 2004, p 238.

- [38]. J. CUMMINGS and A. STEPHEN, Carbohydrate terminology and classification, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2007, vol. 61, S5-S18.
- [39]. J. CAI, J. MANA, J. HUANGA, Q. LIU, W. WEIC and C. WEI, Relationship between structure and functional properties of normal rice starches with different amylose contents. *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 125, p 35-44.
- [40]. J. VERSPREET, E. DORNEZ, W. VAN DEN ENDE, J. A. DELCOUR and C. M. COURTIN, Cereal grain fructans: Structure, variability and potential health effects, *Trends in Food Science & Technology*, 2015, vol. 43, p 32-42.
- [41]. S. BAUMGARTNER , G. DAX. THOMAS, W. PRAZNIK, H. FALK , «Characterisation of the high-molecular weight fructan isolated from garlic (*Allium sativum* L.) », *Carbohydrate Research*, 2000, 328, p177–183.
- [42]. H. MIRHOSSEINI and B. T. AMID, A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums, *Food Research International*, 2012, vol. 46, p 387-398.
- [43]. S. UMMARTYOTIN and H. MANUSPIYA, A critical review on cellulose: From fundamental to an approach on sensor technology, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015, vol. 41, p 402-412.
- [44]. W. ZHANG, P. XU and H. ZHANG, Pectin in cancer therapy: A review, *Trends in Food Science & Technology*, Article in press, 2015, p 1-14.
- [45]. G. K. JANI, D. S. SHAH, V. D. PRAJAPATI and V. C. JAIN, Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009, vol. 4, p 308-322.
- [46]. Z. BOUAL, Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien), Thème magistère. Université de Ouargla, 2009, p 106.
- [47]. R. BADOUD, JURG LOLGER, Science et technologies des aliment principales de dinie des constituant et de technologie des procédés, Alain Etournand PPUR, Presses, ISBN 2880747546, 9782880747541, 2010, p 237-241.
- [48]. S. COLLIEC – JOUAULT, P. ZANCHETTA, D. HELLEY, J. RATISKOL, C. SINQUIN, A.M. FISCHER and J. GUEZENNEC, Les polysaccharides microbiens d'origine marine et leur potentiel en thérapeutique humaine, *Pathologie Biologie*, 2004, p 4.
- [49]. J. GAO, T. ZHANG, Z. Y. JIN, X. M. XU, J. H. WANG, X. Q. ZHA and H. Q. CHEN, Structural characterization, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb, *Food Chemistry*, 2015, vol. 169, p 430-438.

- [63]. A.C. KIMBARIS, N.G. SIATIS, D.J. DAFERERA, P.A. TARANTILIS, Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*), *ultrasonics sonochemistry*, 2006, 13, p54-60.
- [64]. G. CRAVOTTO, L. BOFFA, S. MANTEGNA, P. PEREGO, M. AVOGADRO, P. CINTAS, Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2008, 15, p 898-902.
- [65]. B. TIWARI, « Ultrasound: A clean, green extraction technology », *Trends in Analytical Chemistry*, 2015, Vol 71, p 100–109.
- [66]. J. BARROW, Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants, *Trends in biotechnology*, 2012, vol 30, n°1.
- [67]. Y.WUA, S. CUI, J. TANG, X. GU, Optimization of crude polysaccharides from boafruited *sterculia* seeds by response surface methodology, *Food chemistry*, 2007, 105, p 1599-1605.
- [68]. H.B. SOWBHAGYA , KAUL T. PURNIMA , SUMA P. FLORENCE , A.G. APPU RAO , P. SRINIVAS , «Evaluation of enzyme-assisted extraction on quality of garlic volatile oil», *Food Chemistry*, 2008, 113, p1234–1238.
- [69]. JIAO JIAO, YU-JIE FU , YUAN-GANG ZU, MENG LUO, WEI WANG, LIN ZHANG, JI LI, «Enzyme-assisted microwave hydro-distillation essential oil from *Fructus forsythia*, chemical constituents, and its antimicrobial and antioxidant activities», *Food Chemistry*, 2012, 134, p235–243.
- [70]. M. DUBOIS, K. A. GILLES, J. K. HAMILTON, P. A. PEBERS, and F. SMITH, Colorimetric method for determination of sugar and related substances, *Analytical Chemistry*, 1956, vol. 28, p 350-356.
- [71]. F. BRIAN-JAISSON, Identification et caractérisation des exo-polymères de biofilms de bactéries marines, Thèse doctorat, Université de Toulon, 2014, p 257.
- [72]. A. YOUMBAI, "Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des *Apiaceae* récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien)", *MAGISTER en Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université kasdi merbah Ouargla*, 2015, p103.
- [73]. C. PASTO, J. JOHNSON and M. MILLER, «Experiments and Techniques in Organic Chemistry», Prentice Hall, 1992.
- [74]. JINLING CHEN, KIT LEONG CHEONG, ZILIANG SONG, YUJIE SHI, XUESONG HUANG, "Structure and protective effect on UVB-induced keratinocyte damage of fructan from white garlic", *Carbohydrate Polymers*, 2012, Vol 92, p200– 205.

- [75]. C. POPOVICI, A.I. SAYKOV, B. TYLKOWSKI, « Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH », *Génie industriel*, 2009, vol 4, p25-39.
- [76]. S. KHOUDALI, D. BENMESSAOUD, A. ESSAQUI, M. ZERTOUBI, M. AZZI, M. BENAÏSSA, « Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc », 2014, vol 5, p887-898.
- [77]. N. BOUGANDOURA, N. BENDIMERAD, « Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq », *Nature & Technologie*, 2012, BP 119, p 14.
- [78]. S. SKHOUDALI, D. BENMESSAOUD, A. ESSAQUI, M. ZERTOUBI, M. AZZI, M. BENAÏSSA, « Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L) du Maroc », *Mater, Environ*, 2014, vol 5, p887-898.
- [79]. C. DURAFFOURD, J-C. LAPRAZ, R. CHEMLI, *La plante médicinale de la tradition à la science. 1^{er} congrés international*, Tunis. Ed. Granche, Paris, 1997, p 222.
- [80]. E. CHALKIADAKIS, R. DUFOURCQ, S. SCHMITT, C. BRANDILY, N. KERVAREC, D. COATANEA, H. AMIR, L. LOUBERSAC, S. CHANTEAU, J. GUEZENNEC, M. DUPONT-ROUZEYROL ET C. SIMON-COLIN, *Partial characterization of an exopolysaccharide secreted by a marine bacterium, *Vibrioneocaledonicus* sp. nov., from New Caledonia*, *Journal of Applied Microbiology*, 2013, 114, p1702-1712.
- [81]. A. IYER, K. MODY ET B. JHA, *Characterization of an exopolysaccharide produced by a marine Enterobacter cloacae*, *Indian Journal of Experimental Biology*, 2005, 43, p 467-71.
- [82]. J. R. SCHMITT ET H-C. FLEMMING, *FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis*, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1998, 41, p1-11.

Annexe 1

- Les étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles (EXT C).

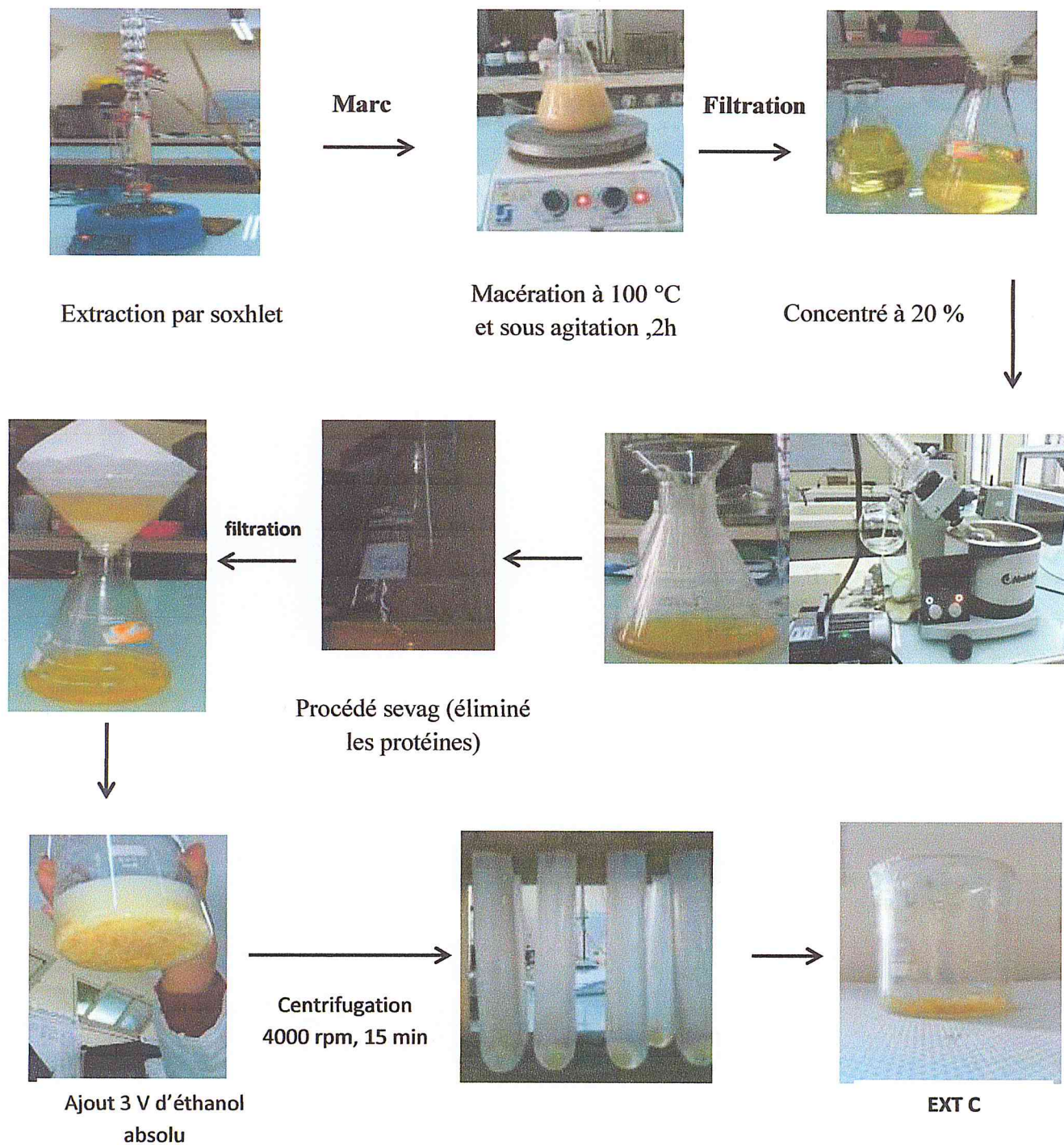


Figure n°24 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles bruts (EXTC).

Annexe 2

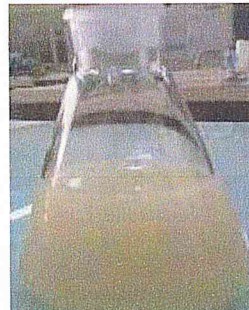
- Les étapes d'extraction des polysaccharides hydrosoluble (EXT US)



Extraction assisté par
ultrason



Procédé sevage



Ajout 3 V
d'éthanol absolu



EXT Enz

Figure n°25 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles bruts (EXT Us).

Annexe 3

- Les étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles (EXT ENZ)



Extraction assisté par
enzyme



Procédé sevage



Ajout 3 V d'éthanol
absolu



EXT Enz

Figure n°26 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides bruts (EXT Enz).

Annexe 4

Les étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles (EXT ENZ / US)



Extraction assisté
par enzyme



Extraction assisté
par ultrason



Procédé sevrage



Ajout 3 V
d'éthanol absolu



EXT ENZ / US

Figure n°27 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles bruts (EXT Enz/Us).

Annexe 5

- Les étapes d'extraction des polysaccharides (EXT US / ENZ)



Extraction assisté
par ultrason



Extraction assisté
par enzyme



Procédé sevrage



Ajout 3 V
d'éthanol absolu



EXT Us/Enz

Figure n°28 : Photographies représentatives de différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles (EXT Us/Enz) bruts.

Annexe 6

- Préparation des solutions étudiées dans le dosage des oses totaux par Colorimétrie « méthode de DUBOIS (1956) ».

➤ Préparation de la solution mère:

Puisque notre droite d'étalonnage a été effectuée par le glucose (Glc), une masse de 10 mg de glucose a été dissout dans 100 ml de l'eau distillé afin d'obtenir une concentration de 0.1 mg/ml.

➤ Préparation des solutions filles:

Afin de préparer les différentes concentrations de la gamme d'étalonnage nous avons utilisé la relation:

$$C_{\text{sol mère}} \cdot V_{\text{prélevé}} = C_{\text{sol fille}} \cdot V_{\text{sol fille}}$$

- Prélever 0.5 ml de solution mère et leur ajouter 4.5 ml de solvant → 0.01mg/ml ;
- Prélever 1 ml de solution mère et leur ajouter 4 ml de solvant → 0.02mg/ml ;
- Prélever 1.5 ml de solution mère et leur ajouter 3.5ml de solvant → 0.03mg/ml ;
- Prélever 2 ml de solution mère et leur ajouter 3 ml de solvant → 0.04mg/ml ;
- Prélever 2.5 ml de solution mère et leur ajouter 2.5 ml de solvant → 0.05mg/ml ;
- Prélever 3.5 ml de solution mère et leur ajouter 1.5 ml de solvant → 0.07mg/ml.
- Prélever 4 ml de solution mère et leur ajouter 1 ml de solvant → 0.08mg/ml.
- Prélever 4.5 ml de solution mère et leur ajouter 0.5 ml de solvant → 0.09mg/ml.

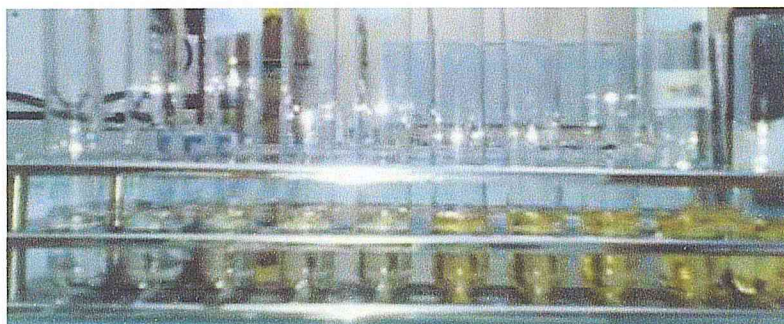


Figure n°29 : Photographie représentative du changement de couleur stable le jaune-orange de la gamme étudiée selon la méthode de DUBOIS (1956).

Annexe 7

- **Test de piégeage du radical libre DPPH**

- Préparation de la solution de DPPH:

Une solution de DPPH de concentration de 0.025 mg/ml a été préparée à partir de dissolution de 2.5 mg de poudre de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Nous avons couvrir la fiole par l'aluminium afin d'éviter la dégradation de cette solution.

- Préparation de la solution mère :

Nous avons préparé une solution mère de 0.5mg/ml. Une masse de 5mg a été dissout dans 10 ml de solvant.

- Préparation des solutions filles:

- Prélever 50 µl de solution mère et leur ajouter 4.95 ml de solvant → 0.02mg/ml ;
- Prélever 100 µl de solution mère et leur ajouter 4.90 ml de solvant → 0.04 mg/ml ;
- Prélever 150 µl de solution mère et leur ajouter 4.85 ml de solvant → 0.06mg/ml ;
- Prélever 200 µl de solution mère et leur ajouter 4.80 ml de solvant → 0.08mg/ml ;
- Prélever 300 µl de solution mère et leur ajouter 4.70 ml de solvant → 0.12mg/ml ;
- Prélever 400 µl de solution mère et leur ajouter 4.60 ml de solvant → 0.16mg/ml ;
- Prélever 500 µl de solution mère et leur ajouter 4.50 ml de solvant → 0.2mg/ml ;
- Prélever 750 µl de solution mère et leur ajouter 4.25 ml de solvant → 0.3mg/ml ;
- Prélever 1000 µl de solution mère et leur ajouter 4 ml de solvant → 0.4mg/ml.

Les tableaux suivants résumant les résultats de test de piégeage du radical libre DPPH des extraits étudiés et l'antioxydant standard (vitamine C).

Tableau n°13 : La variation des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits polysaccharides hydrosolubles bruts.

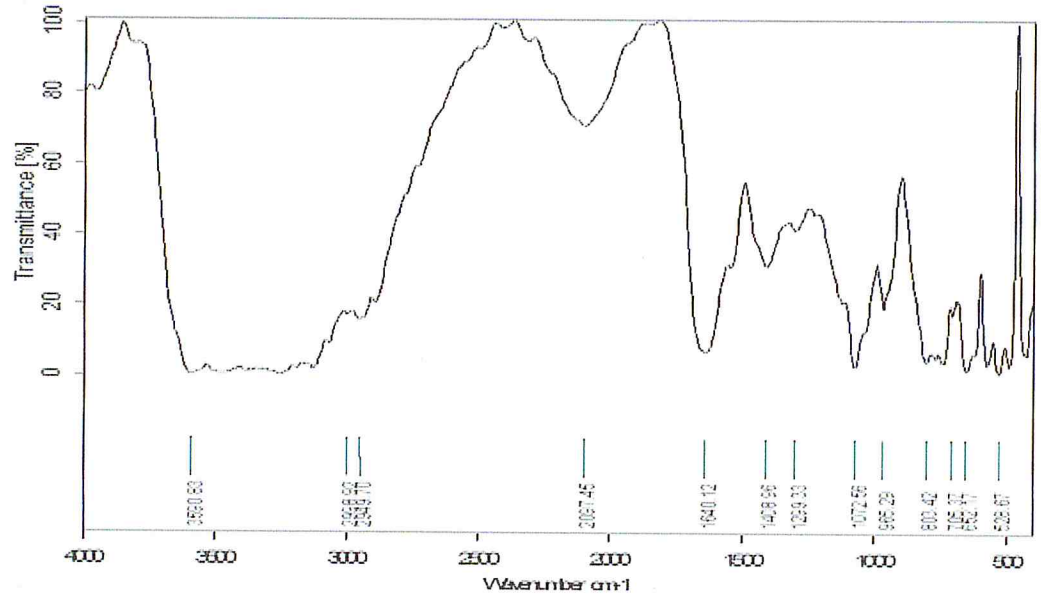
		Concentrations					
		0.02	0.08	0.12	0.2	0.3	0.4
I %	EXT C	4.87	11.19	19.15	28.60	37.5	51.24
	EXT Enz	6.97	14.19	21.29	32.09	39.82	51.85
	EXT Us	8.36	16.08	22.83	36.33	48.87	54.98
	EXT Enz/Us	7.8	15.61	24.18	35.26	45.08	53.14
	EXT Us/Enz	2.08	5.20	8.85	13.80	21.09	24.21

Tableau n°14 : La variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de antioxydant standards (vitamine C).

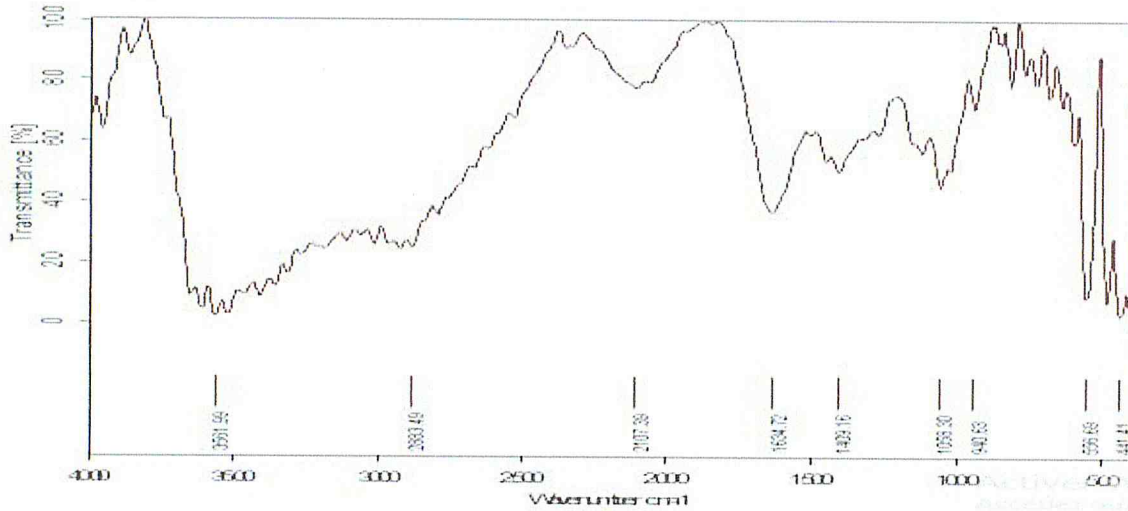
C (mg/ml)	0.02	0.04	0.06	0.08	0.12	0.16	0.2	0.3	0.4
Abs à 517nm	0.173	0.115	0.034	0.022	0.021	0.019	0.020	0.020	0.021
I (%)	37.76	71.22	87.76	92.08	92.45	93.16	92.80	92.80	92.45

Annexe 8

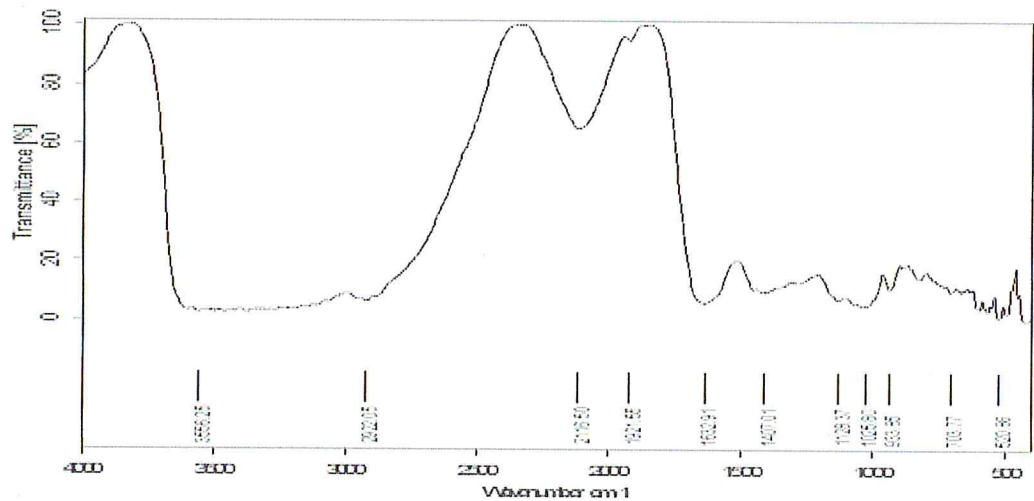
EXT US



ENZYME.jws.dk :



EXT
Enz/Us



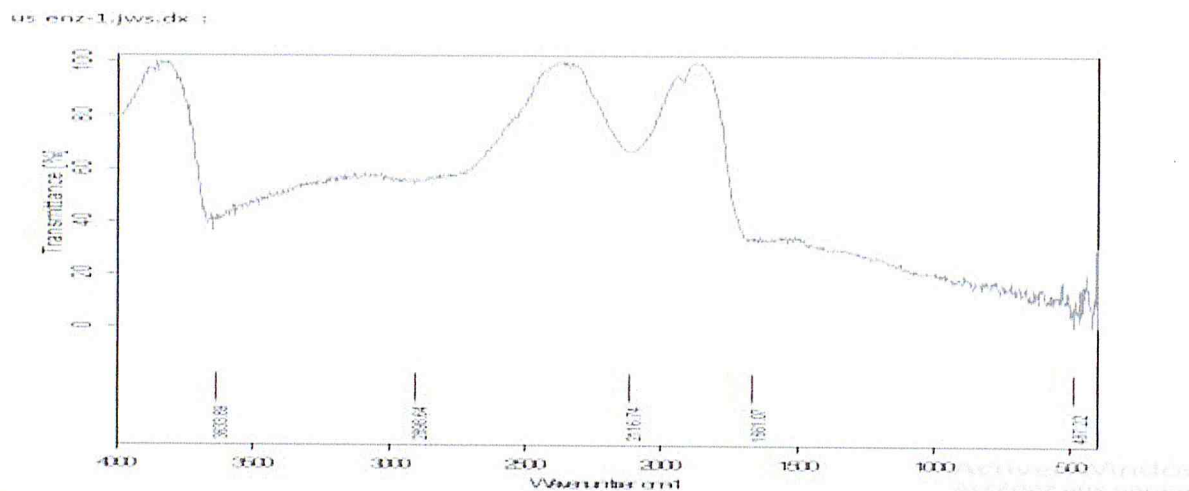


Figure n°30 : Les spectres FTIR des polysaccharides bruts d'extraites d'*Allium sativum.L.*

Tableau n°15 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraite Us d'*Allium sativum.L*

Nombre d'onde	Attribution des fonctions observées (ν = vibration d'élongation et δ = vibration de déformation)
3590 cm^{-1}	ν OH (groupes OH) O-H libre.
2998 cm^{-1}	ν du groupement C-H
2949 cm^{-1}	ν CH3 ALCANES
1640 cm^{-1}	ν C=O d'un AMIDES /groupement carboxylique de type cétone
1408 cm^{-1}	δ CH2 aliphatique du sucre
1299 cm^{-1}	δ =C-H ALCENES
965 cm^{-1}	δ =C-H ALCENES
803 cm^{-1}	ν C-C ALCANES

Tableau n°16 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extrait Enz d'*Allium sativum.L*

Nombre d'onde	Attribution des fonctions observées (ν = vibration d'élongation et δ = vibration de déformation)
---------------	---

3561 cm ⁻¹	νOH (groupes OH) O-H libre.
2883 cm ⁻¹	νCH alcane
1634 cm ⁻¹	νC=O d'un amide/ groupement carboxylique de type cétone
1409 cm ⁻¹	δ CH ₂ aliphatique du sucre

Tableau n°17 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraite Enz/Us d'*Allium sativum.L*

Nombre d'onde	Attribution des fonctions observées (ν = vibration d'élongation et δ = vibration de déformation)
3556 cm ⁻¹	νOH (groupes OH) O-H libre.
2922 cm ⁻¹	νCH ₂ alcanes
1632 et cm ⁻¹	νC=O d'un amides/ groupement carboxylique de type cétone
1407cm ⁻¹	δ CH ₂ aliphatique du sucre
1025 cm ⁻¹	ν C-N, amine aliphatique

Tableau n°18 : Principales bandes d'absorption des polysaccharides hydrosolubles bruts d'extraite Us/Enz d'*Allium sativum.L*

Nombre d'onde	Attribution des fonctions observées (ν = vibration d'élongation et δ = vibration de déformation)
3633 cm ⁻¹	νOH (groupes OH) O-H libre.
2898 cm ⁻¹	ν du groupement C-H