



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques

Département Biochimie-Microbiologie

Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention d'un diplôme de master

En sciences alimentaires

Spécialité : Biochimie de la nutrition

Thème

**Extraction, purification et
caractérisation des polysaccharides
végétaux**

Réalisé par :

M^{elle} AKROUN Sabrina

&

M^{elle} TELLAB Lynda

Dirigé par :

D^r. LESFIH Khalef

Maître de conférences de classe A (UMMTO)

Examiner par :

Dr. NAIT KACI BOUDIAF Malika

Maître de conférences de classe A(UMMTO)

D^r. OULARBI SENANI Nassima

Maître de conférences de classe B (UMMTO)

Année universitaire : 2019/2020



Remerciements

*Notre profonde gratitude à monsieur **Lefsih Khalef** maitre de conférences à l'université de Mouloud Mammeri d'avoir accepté d'encadrer notre travail.*

Nous tenons à le remercier pour sa disponibilité, ses bons conseils, ses orientations et sa gentillesse.

Nous remercions vivement les membres de jury

*M^{me} **Oularbi Senani Nassima** maître de conférences de classe B(UMMTO)*

*M^{me} **Nait kaci Boudiaf Malika** maître de conférences de classe A (UMMTO)*

de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin pour l'élaboration de ce mémoire, plus particulièrement à nos chers parents qui ont été toujours notre source d'encouragement et de motivation.



Dédicaces

Avant tout, je remercie, Dieu tout-puissant de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier :

Mes chers parents qui m'ont toujours soutenue, épaulée et n'ont pas ménagé leurs encouragements tout au long de mes études.

Ma sœur FERIEL qui, de loin, m'a aidée par son affectueuse présence, sa bienveillance et son soutien ainsi que mes petits frères NASSIM, BELAID, ADEM, dont la douce présence et la joie m'ont aidée à garder un bon moral.

Mes grands-parents qui m'ont sans cesse encouragée et suivie avec attention et affection durant mes années.

A tous les membres de ma famille : tantes, oncles maternels et paternels, spécialement ma tante OUARDIA et MALIKA.

A ceux que j'aime beaucoup, qui m'ont toujours soutenue et qui étaient toujours à mes côtés, mes chères amies TINHINANE, mon binôme et ma meilleure amie SABRINA.

Je serais toujours reconnaissante à tous pour leur appui sans faille et je sais que je pourrais toujours compter sur eux et qu'ils me sont d'une grande aide.

Je prie Dieu de les protéger et de les garder.

Lynda



Dédicaces

A mes très chers parents grâce à leur amour, leurs encouragements, soutiens et leurs sacrifices que je me suis arrivée aujourd'hui à réaliser ce modeste travail.

A mes chers grands parents pour qui je serais toujours reconnaissante qu'ils n'ont jamais cessé de prier pour moi et qui m'ont toujours soutenu, que dieu les protège.

A mes chères sœurs Lyza et Dyhia à qui je souhaite la réussite.

A toute ma famille et mes proches.

A mon binôme Lynda, qu'on s'y travaillé ensemble et on s'y tout partagé pour enfin arriver à réaliser ce travail.

A ma copine Tinhinane avec qui j'ai passée plusieurs moments et difficultés durant notre parcours universitaire.

A mon ami Mouhand qui n'a jamais hésité de m'aider.

A tous mes amis et tous ceux ou toutes celles qui m'ont soutenus de près et de loin, ainsi qu'a tous les étudiants de ma promotion.

Sabrina

Liste des abréviations

ABTS	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
AG	Arabinogalactane
CCM	Chromatographie sur couche mince
CEA	Chromatographie d'échange d'anion
CEI	Chromatographie d'échange d'ions
CES	Chromatographie d'exclusion stérique
CG	Chromatographie en phase gazeuse
CGL	Chromatographie gaz-liquide
CPG	Chromatographie de perméation sur gel
DAP	Détecteur ampérométrique pulsé
DL	Diffusion de lumière
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DP	Degré de polymérisation
DPPH	1,1diphényl-2-picrylhydrazyl
EAM	Extraction assistée par microonde
EAU	Extraction assistée par ultrason
EC	Electrophorèse capillaire
EFS	Extraction par fluide supercritique
ERO	Espèce réactive d'oxygène
FOS	Fructo-oligosaccharide
FRAP	Puissance du radical antioxydant et de réduction de la ferrique
FSC	Fluide supercritique
HGA	Homogalacturonane
HPAEC	Chromatographie d'échange d'anion à Ph élevé
HPLC	Chromatographie liquide de haute performance
HPSEC-MALLS	Chromatographie d'exclusion stérique de haute performance associée à un laser multi-angle e diffusion de lumière
MTT	bromure de 3-(4,5-diméthylhiazol-2yl) -2,5-diphenyltetrazolium
PS	Polysaccharides
RG	Rhamnogalacturonane
RMN	Spectroscopie de résonance magnétique et nucléaire

SM	Spectroscopie de masse
TFA	Acide trifluoroacétique
TOS	Trans-galacto-oligosaccharide
XOS	Xylooligosaccharide

Liste des figures

- Figure 01** Diagramme de classification des polysaccharides végétaux sur base de leurs rôles biologiques.
- Figure 02** Représentation schématique de la cellulose. Les liaisons hydrogènes intramoléculaire en bleu et intermoléculaire en rouge.
- Figure 03** Structure d'hémicellulose.
- Figure 04** Représentation schématique des structures pectiques.
- Figure 05** Structure du rhamnogalactorunane-I.
- Figure 06** Structure du rhamnogalactorunanes-II constitué d'une chaîne principale d'acide homogalacturonique portant quatre chaînes latérales d'oligosaccharides structurellement différentes (A, B, C et D).
- Figure 07** Structure des arabinanes.
- Figure 08** Structures d'amylose (a) et d'amylopectine (b).
- Figure 09** Structure des fructanes type inuline et lévane.
- Figure 10** Diagramme d'extraction des polysaccharides végétaux par la méthode traditionnelle à l'eau.
- Figure 11** Unité de microonde.
- Figure 12** Diagramme d'extraction assistée par micro-ondes des polysaccharides végétaux.
- Figure 13** Diagramme de phase de dioxyde de carbone.
- Figure 14** Diagramme de processus de l'extraction par fluide supercritique.
- Figure 15** Le principe de la cavitation acoustique.
- Figure 16** Le système de bain ultrasonique.
- Figure 17** Le système de la sonde ultrasonique.
- Figure 18** L'équipement ultrasonique industriel.
- Figure 19** Diagramme d'extraction des polysaccharides par l'ultrason.
- Figure 20** Diagramme de précipitation fractionnée à l'éthanol des polysaccharides végétaux.
- Figure 21** Diagramme de purification des polysaccharides végétaux par la chromatographie d'échange d'anions.
- Figure 22** Schéma montrant une séparation des molécules de différentes tailles moléculaires par la chromatographie de perméation sur gel.

- Figure 23** Diagramme de purification des polysaccharides par la chromatographie de perméation sur gel.
- Figure 24** Formation des alditols acétates.
- Figure 25** Schéma représentatif de la réaction de perméthylation.

Liste des tableaux

Tableau I Applications des polysaccharides végétaux.

Tableau II Les méthodes de purification des polysaccharides naturels.

Tableau III Les méthodes de caractérisation des polysaccharides.

Tables de matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction Générale..... 01

CHAPITRE I : Généralités sur les polysaccharides végétaux

I. Les polysaccharides végétaux 03

I.1. Classification 03

I.1.1. Classification structurale..... 03

A. Les homopolysaccharides 03

B. Les hétéropolysaccharides..... 03

I.1.2. Selon le rôle biologique 03

I.1.2.1. Les polysaccharides de structure 04

A. La cellulose 04

B. Les hémicelluloses 05

C. Les pectines 07

I.1.2.2. Les polysaccharides de réserve..... 12

A. L'amidon 12

B. Les fructanes 13

I.1.2.3. Les exsudats et mucilages..... 14

A. Les exsudats..... 14

B. Les mucilages 14

I.2. Applications des polysaccharides végétaux 15

CHAPITRE II: Extraction des polysaccharides végétaux

I.1. Définition de l'extraction 16

II.1.2. Extraction solide-liquide..... 16

II.2. Extraction par la méthode traditionnelle à l'eau 16

II.2.1. Principe 16

II.2.2. Les paramètres influençant le rendement 17

II.2.3. Avantages et inconvénients 17

II.2.4. Processus.....	17
II.3. Extraction assistée par micro-ondes.....	18
II.3.1.Définition des micro-ondes.....	18
II.3.2.Principe	19
II.3.3.Les paramètres influençant le rendement	19
II.3.4.Avantages et inconvénients	19
II.3.5. Processus.....	19
II.4. Extraction par fluide supercritique.....	21
II.4.1. Définition d'un fluide supercritique	21
II.4.2.Définition d'extraction par fluide supercritique	21
II.4.3. Principe	22
II.4.4.Les paramètres influençant le rendement	22
II.4.5.Avantages et inconvénients	22
II.4.6.Processus.....	22
II.5. Extraction assistée par ultrasons	23
II.5.1.Définition.....	23
II.5.2. Principe	24
II.5.3.Avantages.....	24
II.5.4.Equipements de traitement ultrasonique.....	25
A. En laboratoire	25
B. En industrie	26
II.5.5.Application des ultrasons en agro-alimentaire.....	27
II.5.6.Processus.....	27
II.6.Rendement d'extraction	29
CHAPITRE III : Purification des polysaccharides végétaux	
III.1.La précipitation fractionnée	30
III.1.1.Définition.....	30
III.1.2.Principe.....	30
III.1.3.Processus	31
III.2.La purification par la technique chromatographique	33
III.2.1.La chromatographie d'échange d'ions	33
III.2.1.1.Définition	33
III.2.1.2.Principe	34

III.2.1.3. Les conditions de la réalisation de la chromatographie d'échange d'ions	34
III.2.1.4. Avantages	35
III.2.1.5. Processus	35
III.2.2. La chromatographie de perméation sur gel	36
III.2.2.1. Définition	36
III.2.2.2. Principe	37
III.2.2.3. Les conditions de la réalisation de la chromatographie de perméation sur gel	38
III.1.2.4. Processus	38

CHAPITRE IV: La caractérisation des polysaccharides végétaux

IV.1. La caractérisation structurale	41
IV.1.1. Composition en monosaccharides	41
A. Les réactions chimiques	42
B. La chromatographie gazeuse	43
C. La chromatographie liquide de haute performance	43
D. La détermination de la configuration D ou L	44
IV.1.2. Analyse des liaisons glycosidiques	44
A. La perméthylation	44
B. La résonance magnétique nucléaire	45
IV.2. La caractérisation physique	45
IV.2.1. Détermination du poids moléculaire	45
IV.2.2. Etudes des propriétés rhéologiques	46
A. Détermination de la viscosité	46
IV.3. La caractérisation biologique	48
IV.3.1. Activité antioxydante	48
IV.3.2. Activité anti-inflammatoire	49
IV.3.3. Activité anticancéreuse	50
IV.3.4. Activité prébiotique	51
Conclusion	54

Référence bibliographiques

Résumé

Introduction générale

Au cours de ces dernières années, de nombreux pays à travers le monde ont recours aux procédés de chimie verte et développement des ressources renouvelables pour la réduction de l'usage des substances néfastes pour l'environnement. C'est ainsi que l'utilisation des bio-polymères et leurs dérivés s'accroît dans divers domaines.

Les polysaccharides naturels issus de différentes sources (plantes, animaux et microorganismes) présentent de très nombreuses activités biologiques immunomodulatrices, anti-inflammatoires et anti-tumorales (Yang and Zhang 2009). C'est pour cette raison qu'ils ont beaucoup attiré l'intérêt des chercheurs en biochimie et pharmacologie.

Les polysaccharides aussi nommés « polysides » ou « glucanes » sont des polymères d'hydrate de carbone constitués d'un enchainement de molécules dont les unités structurales de bases sont des monomères de sucre (Lee 2017). Ils peuvent être classés selon leurs structures, leurs solubilités, leurs source et également leurs rôles biologiques et applications (Liu, Willför et al. 2015).

Les polysaccharides issus des plantes étant les plus valorisés, sont comparativement non toxiques et ne provoquent pas d'effets secondaires, ce qui est un problème majeur associé aux autres polysaccharides bactériens et composés synthétiques. Ils sont des macromolécules plus importantes en thérapeutique et pour la recherche d'activités biologiques qui est devenu aujourd'hui un sujet prometteur pour les chercheurs (Wang, Jiang et al. 2013).

Cependant de nombreuses études montrent que les bio-activités de ces polysaccharides végétaux sont affectées par leurs poids moléculaires, leurs caractéristiques et leurs structures chimiques telles que la composition en monosaccharides et le type des liaisons osidiques. Ce qui rend donc l'étape de la caractérisation structurale et physique très importante pour élucider ces bio-activités (Wang, Xie et al. 2018).

De ce fait, la présente étude portera sur l'extraction, la purification et la caractérisation des polysaccharides végétaux en se basant sur une synthèse bibliographique. Elle est structurée en quatre principaux chapitres comme suit :

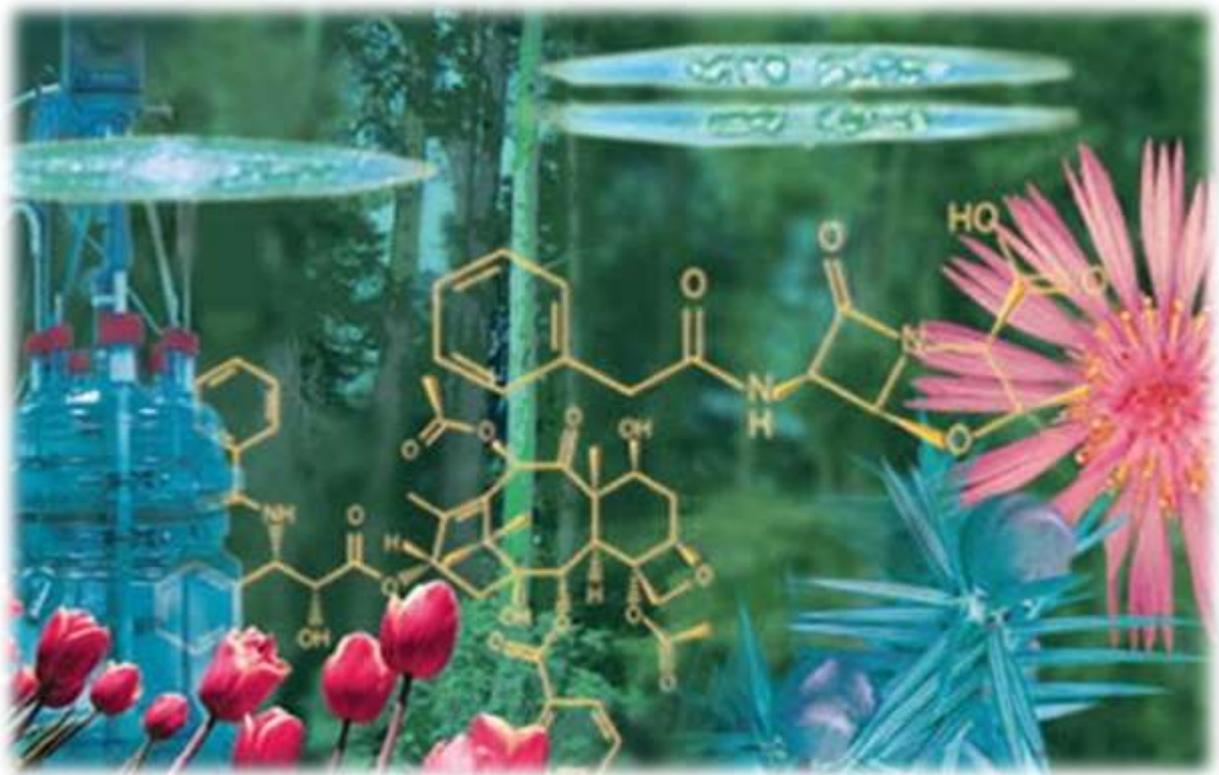
Le premier chapitre consiste en revue générale sur les polysaccharides végétaux. Leur définition et les différentes classifications.

Le deuxième chapitre portera sur les différentes méthodes d'extraction des polysaccharides végétaux.

Le troisième chapitre étudiera les méthodes de purification des extraits polysaccharidiques végétaux.

Et enfin dans le quatrième chapitre on distinguera les différentes caractérisations des polysaccharides végétaux. La caractérisation structurale (composition en monosaccharides et analyse de liaisons glycosidiques), physico-chimique (poids moléculaire, propriétés rhéologiques) et de propriétés biologiques (activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse et prébiotique).

Chapitre I
Les polysaccharides végétaux



I. Les polysaccharides végétaux

Les polysaccharides (PS) végétaux sont définis comme des biopolymères de haut poids moléculaire provenant principalement des plantes et d'algues, sont des longues chaînes d'unités mono-saccharidiques liées entre elles par des liaisons glycosidiques. Ces chaînes peuvent être linéaires (cellulose) ou ramifiés (gomme arabique).

I.1. Classification

I.1.1. Classification structurale

D'après [Naseri-Nosar and Ziora \(2018\)](#), les PS notamment ceux issus des végétaux sont classés selon leur composition en monosaccharides en deux grandes classes :

A. Les homo-polysaccharides

Constitués d'un seul type de monosaccharides. Ils portent souvent le nom de l'unité osidique qu'ils contiennent, par exemple les glucanes polymères de glucose, les mannanes polymères de mannose. Ces homo-polysaccharides peuvent être soit linéaires exemple de cellulose et amylose, ou ramifiés comme l'amylopectine ([Yang, Li, Li, Sun, & Guo, 2020](#)).

B. Les hétéro-polysaccharides ou hétéroglucanes

Constitués de deux ou plusieurs monosaccharides différents avec divers types de liaisons glycosidiques.

I.1.2. Selon le rôle biologique

D'après [Soukoulis, Gaiani, and Hoffmann \(2018\)](#), les PS végétaux, sont classés en trois (03) catégories selon leurs fonctions ou les rôles biologiques qu'ils exercent.

- PS de structure;
- PS de réserve ;
- Exsudats et mucilages.

Cette classification est illustrée dans la **figure 01**.

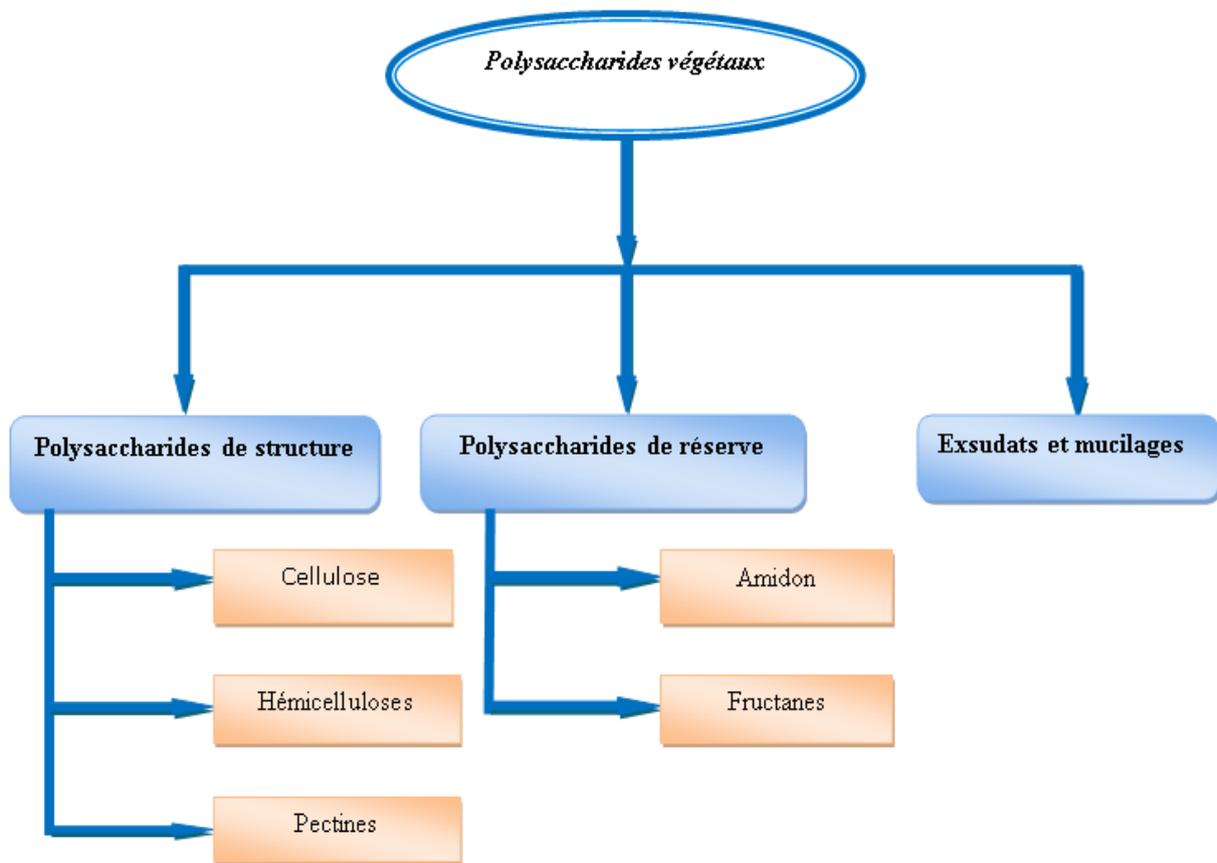


Figure 01: Diagramme de classification des polysaccharides végétaux.

I.1.2.1. Les polysaccharides de structure

Les PS sont également les constituants importants des parois cellulaires des plantes vertes et d'autres eucaryotes photosynthétiques.

Les PS structuraux, principalement la cellulose, les hémicelluloses et la pectine, jouent un rôle de soutien chez les végétaux (Agarwal, 2006).

A. La cellulose

La cellulose est le polymère organique le plus abondant de la biosphère. C'est le constituant principal de la paroi cellulaire des végétaux (Saxena & Brown Jr, 2005). Elle joue un rôle important dans la régulation du mécanisme de croissance chez les plantes (Rongpipi, Ye, Gomez, & Gomez, 2019).

D'après Le Floch, Jourdes, and Teissedre (2015), La cellulose est un polymère linéaire, constitué uniquement de résidus de D-glucose unis par des liaisons β (1 \rightarrow 4) (figure 02). L'unité de base est le cellobiose.

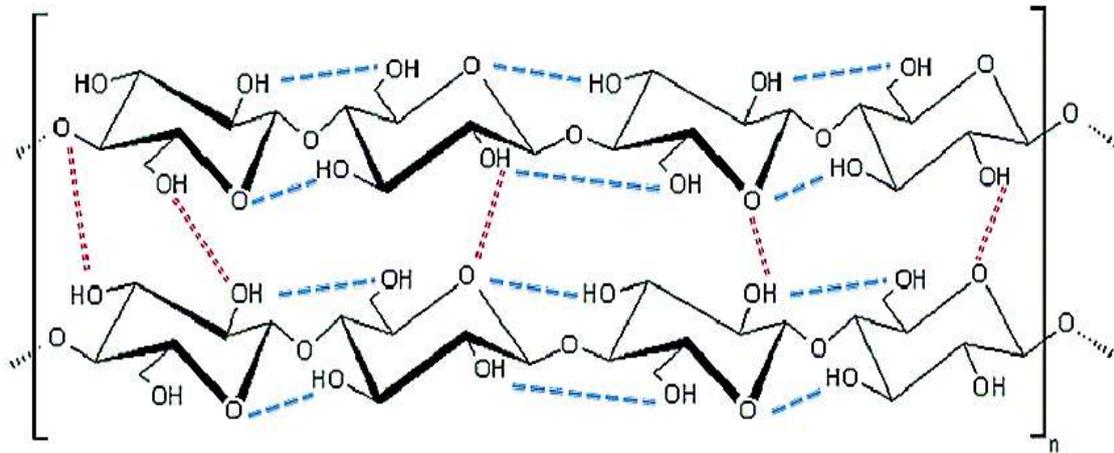


Figure 02: Représentation schématique de la cellulose. Les liaisons hydrogènes intramoléculaire représentées en bleu et intermoléculaire en rouge (Rebiere, 2017).

C'est une substance synthétisée dans la membrane plasmique par la complexe inter-membranaire « cellulose synthase » (Roberts, 2018). Les différentes chaînes de cellulose synthétisées par ce complexe s'associent entre elles formant l'unité basique de la cellulose « la microfibrille » qui offre le soutien structural essentiel à la croissance des plantes. Chaque microfibrille est constituée de 36 chaînes de cellulose disposées en parallèles (Somerville, 2006).

La cellulose est exploitée dans différents domaines tels que l'agroalimentaire, l'industrie chimique et pharmaceutique, les biocarburants, les cosmétiques et pour la production de matières en plastiques telles que la cellophane (Isik, Sardon, & Mecerreyes, 2014).

B. Les hémicelluloses

Les hémicelluloses sont l'un des trois composants principaux de la biomasse lignocellulosique, représentant 20 à 40% de la biomasse. Elles se lient étroitement à la surface des microfibrilles de cellulose par liaisons hydrogène, et dans ce sens sont des glycanes assurant une réticulation.

Ce sont des PS hétérogènes composés de différents résidus osidiques de forme pyrane ou furane, glucose, mannose, de galactose, xylose, d'arabinose et de petites quantités de

rhamnose en plus de l'acide D-glucuronique et d'acide D-galacturonique. Ce sont formés par des voies biosynthétiques différentes de celles de la cellulose contrairement à la cellulose qui est un homo-polysaccharide. Ce polymère est constitué de courtes chaînes glucidiques, linéaires et hautement ramifiées (**figure 03**) (Machmudah, Kanda, & Goto, 2017).

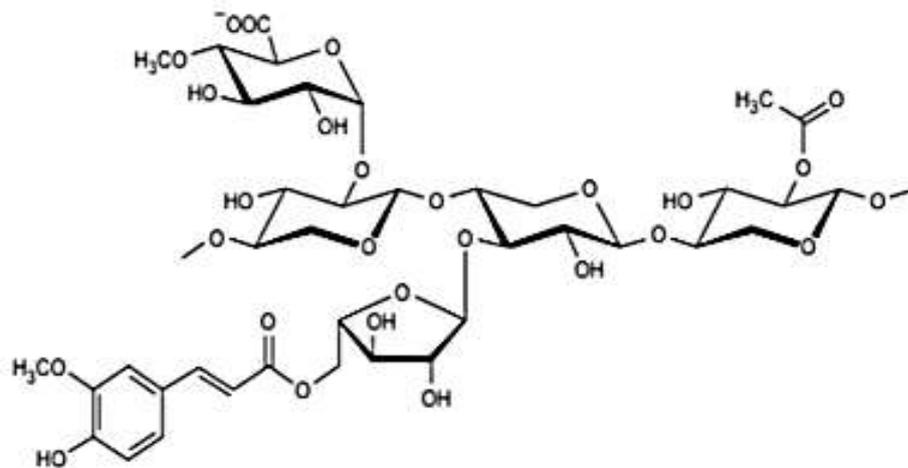


Figure 03 : Structure d'hémicellulose (Machmudah et al., 2017).

Selon Frassoldati and Ranzi (2019), les hémicelluloses sont classées en plusieurs types de PS structuralement différents.

❖ Xyloglucanes

Les xyloglucanes sont composés d'un squelette identique à celui de la cellulose, leur chaîne principale est formée de résidus de glucose liés en $\beta(1\rightarrow4)$. Sur cette chaîne principale sont greffées des chaînes latérales en position O6 contenant soit uniquement des résidus mono-saccharidique, di-saccharidique ou tri-saccharidique de xylose (Pauly et al., 2013).

❖ Xylanes

Les xylanes sont des composés hémicellulosiques principaux des parois secondaires, est un polymère du xylose, constitués principalement de résidus de xylose reliés en $\beta(1\rightarrow4)$. Ce PS est constitué aussi de diverses ramifications et substitutions (LRS Moreira, 2016).

❖ Mannanes

Les mannanes sont un groupe important d'hémicelluloses. Ils sont classés en quatre sous familles : mannanes linéaires, glucomannane, galactomannanes et galactoglucomannanes (LR Moreira, 2008).

Ce sont des polymères linéaires de mannose liés en β (1→4) ayant une forme de stockage et fonction structurale des parois cellulaires (Marcus et al., 2010).

C. Les pectines

Depuis longtemps les propriétés de certaines substances contenues dans les fruits, sont utilisées dans la fabrication des confitures. En 1825, le chimiste Bracantot isole la molécule qu'il décrit comme responsable de la gélification. Cette molécule fut nommée pectine, du grec ancien « pectos » qui signifie coagulant. L'analyse de cette pectine a permis de constater qu'il ne s'agissait pas d'une molécule mais d'un groupe de substances présentant une grande hétérogénéité, il s'agit d'un hétéro-polysaccharide (Leclere, Van Cutsem, & Michiels, 2013).

Il s'agit d'un groupe de PS complexes présents dans la plupart des végétaux supérieurs. Elle est principalement composée de trois types, dont homogalacturonanes (HGA), rhamnogalacturonans I (RGI) et rhamnogalacturonans II (RGII) (**figure 04**) (Combo, Aguedo, & Paquot, 2011).

Le squelette HGA est composé de résidus d'acide galacturonique reliés par des liaisons glycosidiques α (1→4) et peut être estérifié, méthylé / acétylé. Les résidus rhamnose dans RG-I peuvent être substitués par des chaînes latérales composées d'arabinose et de galactose (Mohnen, 2008).

Les pectines sont largement utilisées en industries alimentaire en tant qu'agent épaississant, texturant, émulsifiant, stabilisant et gélifiant, ainsi qu'en cosmétique et pharmaceutique (Mesbahi, Jamalian, & Farahnaky, 2005).

Elles sont connues pour leur diverses activités biologiques telles que la cicatrisation, la réduction de l'activité de la lipase, l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses humaines par la stimulation de l'apoptose et la diminution du taux de cholestérol, également sont utilisées comme des fibres alimentaires et exercent des effets physiologiques sur le tractus intestinal en réduisant le temps du transit et l'absorption du glucose (Kato, Nagayoshi, Takayama, & Nasuno, 2019; Wicker et al., 2014).

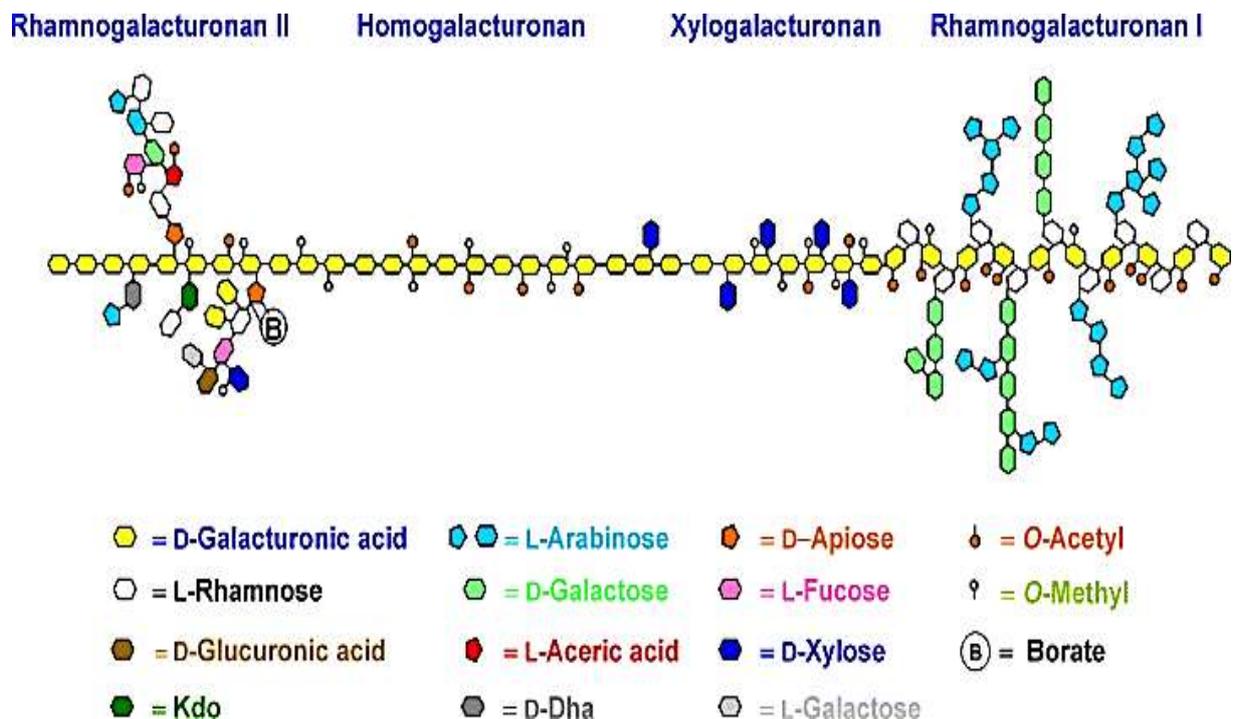


Figure 04 : Représentation schématique des structures pectiques (Scheller, Jensen, Sørensen, Harholt, & Geschi, 2007).

❖ Les galacturonanes

Galacturonanes ou homogalacturonanes, également dites zones lisses des pectines et représentent 50 à 70% de la pectine (Jackson et al., 2007). Ce sont des polymères linéaires composés d'unités acide D-galacturonique, reliés par des liaisons α (1→4), dont les fonctions carboxyliques et alcools peuvent être estérifiées respectivement par du méthanol en position C6 et par l'acide acétique en position C2 ou C3 (Ridley, O'Neill, & Mohnen, 2001).

❖ Rhamnogalacturonanes

On distingue deux types de RG :

Les RG-I : représentent 20 -35% de la pectine et dans lesquels les unités acide galacturonique sont intercalés par des résidus rhamnose par des liaisons de type [4) - α -D-GalA-(1,2) - α -L-Rha-(1,]. Au niveau de C4 du L-rhamnose, différents substituants polysaccharidiques capables de se fixer : les arabinanes, les galactanes et l'arabinogalactanes (**figure 05**) (Christiaens et al., 2016).

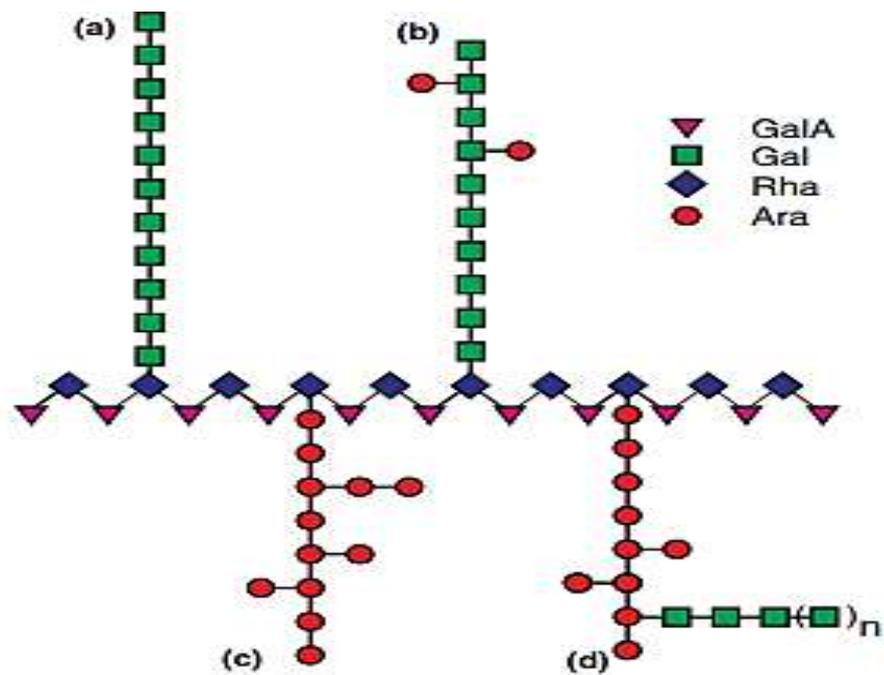


Figure 05: Représentation schématique de la structure du RG-I. a) Galactane linéaire, b) arabinogalactane I, c) arabinane ramifié, d) arabinane ramifié hypothétique (Ochoa-Villarreal, Aispuro-Hernández, Vargas-Arispuro, & Martínez-Téllez, 2012).

Les RG-II : constituent une famille de PS pectiques, qui représentent 10-11% et dont la structure est plus complexe. Leur squelette est un homopolymère galacturonique constituant la chaîne principale, sur laquelle sont greffés quatre chaînes latérales contenant une grande diversité d'oses et de liaisons osidiques (**figure 06**). Parmi les résidus on trouve l'arabinofuranose, l'arabinopyranose, le glucopyranose, le fucopyranose, l'apiofuranose et le galactopyranose (Combo et al., 2011).

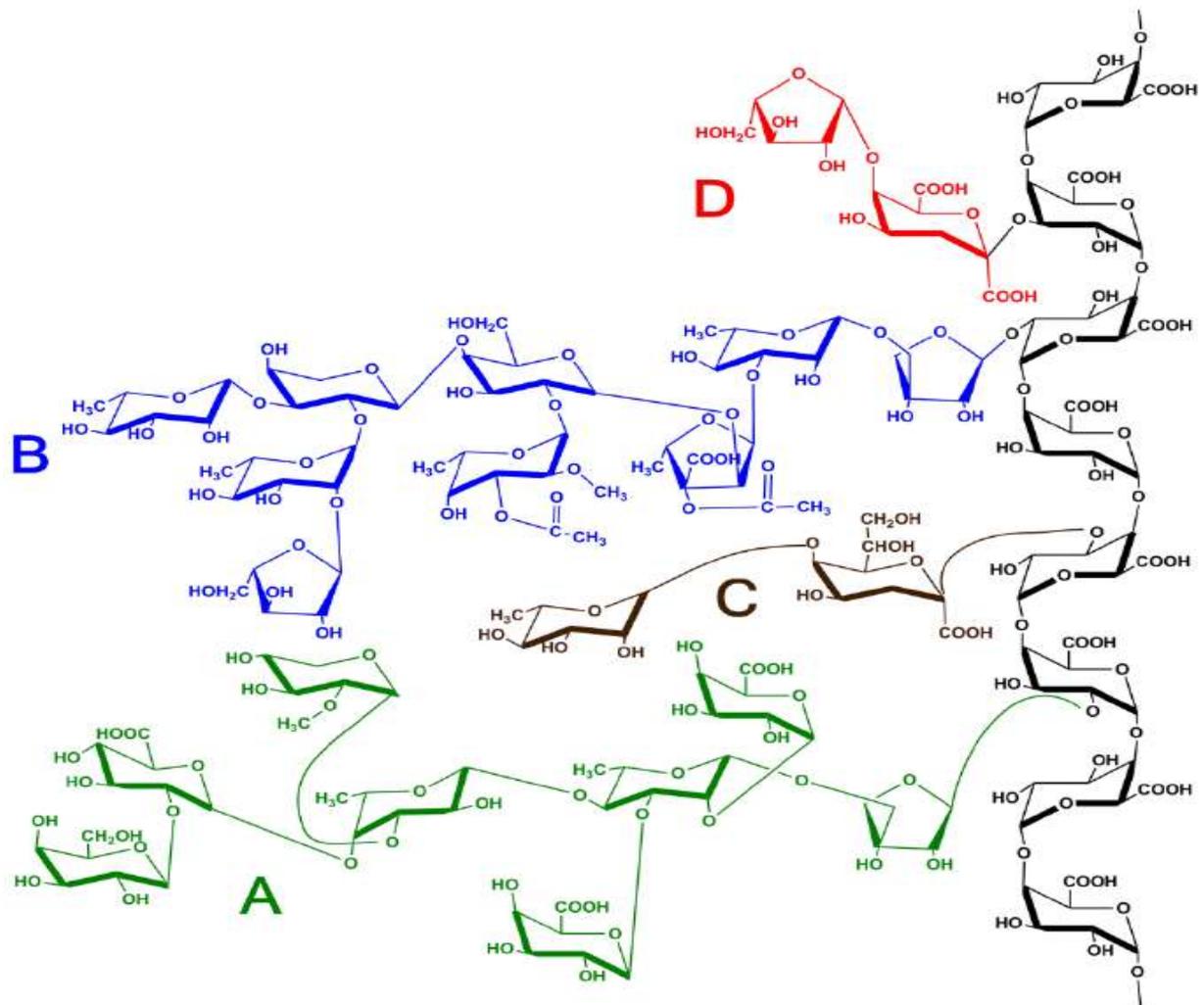


Figure 06: Structure du RG-II constitué d'une chaîne principale d'acide HGA portant quatre chaînes latérales d'oligosaccharides structurellement différentes (A, B, C et D) (Ochoa-Villarreal et al., 2012).

❖ Arabinanes

Les arabinanes sont un des composants les plus répandus des chaînes latérales des pectines, présentant une composition glucidique homogène et moins complexe (**figure 07**). Elles sont constituées uniquement d'unités α -L-arabinofucanose, liées entre elles par des liaisons α -(1 \rightarrow 5), et qui sont substituées par un autre α -L-arabinofuranose liées par des liaisons α -(1 \rightarrow 3) (Fernandes et al., 2020).

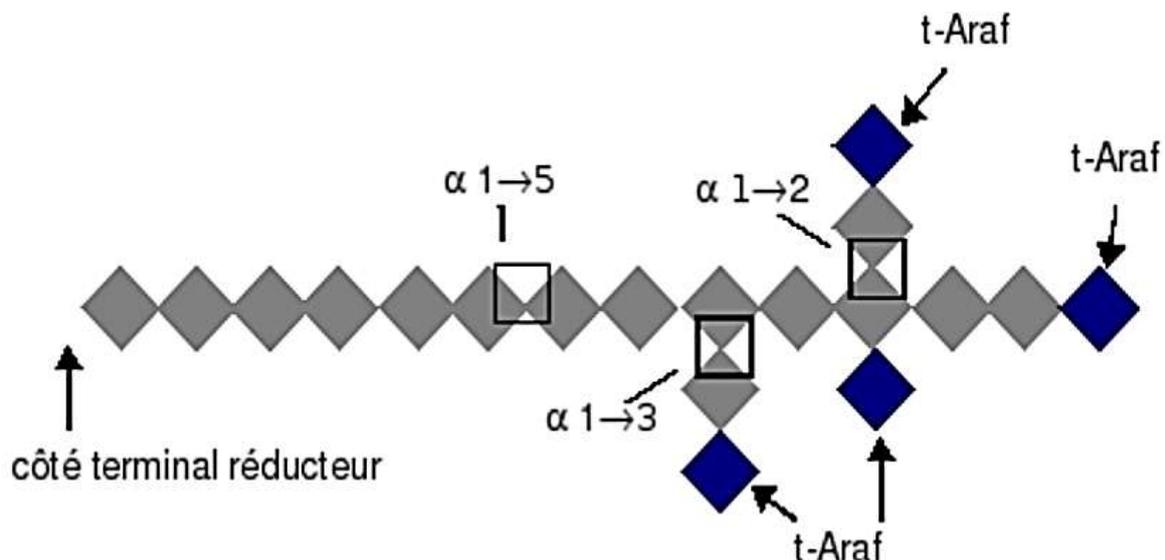


Figure 07 : Structure des arabinanes (Chavez Montes, 2008).

❖ Galactanes

Selon Øbro et al. (2009), les galactanes sont principalement des chaînes linéaires de résidus de galactose liées en β (1→4).

❖ Arabinogalactanes

Les arabinogalactanes (AG) sont composées de galactane plus au moins ramifiées par des résidus d'arabinose qui se trouvent dans les parois végétales. Sur le plan structural, on distingue deux classes :

Les AG de type I, naturellement associés au squelette pectique, notamment aux RG. Elles sont constituées de chaînes linéaires d'unités D-galactopyranose liées en β (1→4), sur lesquelles sont attachées en position O-3 des unités D-galactopyranose et des unités L-arabino-furanose liées en β (1→5) (Vincken et al., 2003).

Les AG de type II, plus répandues dans la nature, sont constituées d'une chaîne principale β (1→3) -galactopyranose sur laquelle peuvent se greffer en position O-6 des chaînes latérales. Ces chaînes sont formées de courtes chaînes d'unités galactopyranose liées en β (1→6) et arabinofuranose liées en α (1→5). Ces dernières elles peuvent être aussi substituées soit par des résidus de galactose ou encore des unités arabinose d'où leur complexité structurale (Vincken et al., 2003; Yang et al., 2020).

I.1.2.2. Les polysaccharides de réserve

Les PS de réserve sont des sources d'énergie nécessaire pour les cellules. Le plus connu chez les végétaux est l'amidon.

A. L'amidon

L'amidon est la principale source d'hydrate de carbone chez les plantes où il est stocké en grandes quantités dans les organes de réserve (graines, tubercules) (BeMiller & Whistler, 2009). C'est une substance très importante en industrie notamment alimentaire en raison des propriétés qu'il présente : Nutritif, non toxique, biodégradable et renouvelable (Liu, Willför, & Xu, 2015).

L'amidon est un homopolymère de D-glucose. Constitué principalement de deux polymères de structures différentes, dont l'amylose qui est un polymère linéaire et l'amylopectine, polymère ramifié (**figure 08**) (Barclay, Day, Petrovsky, & Garg, 2019).

Il rentre dans la composition de nombreux aliments en tant qu'épaississant, gélifiant et stabilisant. Il est également utilisé dans d'autres secteurs on cite l'industrie pharmaceutique, cosmétique et textile (Wertz, 2011).

L'amylose : est un polymère linéaire d'unités α -D-glucopyranosyl unis par des liaisons α (1 \rightarrow 4). Il présente un degré de polymérisation (DP) de 500 à 6000. Les chaînes d'amylose forment des hélices simples ou doubles (Mérillon, 2015).

L'amylopectine : est un polymère hautement ramifié de D-glucopyranosyl liés par des liaisons α (1 \rightarrow 4), greffé par des liaisons glycosidiques de type α (1 \rightarrow 6). Il diffère donc de l'amylose par la présence des ramifications α (1 \rightarrow 6) (Nielsen et al., 2012).

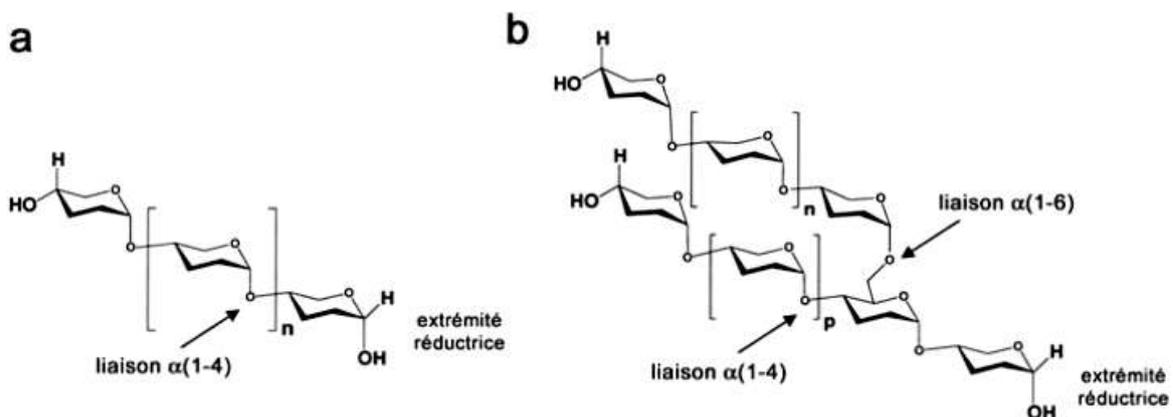


Figure08 : Structures d'amylose (a) et l'amylopectine (b) (Montesanti, 2008).

B. Les fructanes

Environ 15% des plantes à fleurs utilisent les fructanes en tant que réserves énergétiques, ainsi que dans le développement d'une certaine résistance au froid et à la sécheresse. Les fructanes sont constitués principalement de fructose (Agarwal, 2006).

Selon la liaison glycosidique entre les unités de fructoses ils sont divisés en différentes classes (**figure 09**): les inulines contenant exclusivement les liaisons β (1-2), les lévanes contenant essentiellement des liaisons β (2-6) et les graminanes contenant à la fois ces deux types de liaisons (Vereyken, Van Kuik, Evers, Rijken, & de Kruijff, 2003).

❖ *Les inulines*

Les inulines sont un groupe de fructanes naturels qui proviennent de nombreuses plantes telles que l'ail, l'oignon, l'artichaut, le poireau et chicorée. Elles sont composées de D-fructose liés par des liaisons β (2-1) (Rozan et al., 2008).

Ces composés sont largement utilisés en industrie alimentaire pour l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des aliments. Ils présentent aussi plusieurs bienfaits pour la santé : ils ont un effet prébiotique, améliorent l'absorption des minéraux, réduisent les risques du cancer et régulent la lipogenèse hépatique (Messaoudi, Rozan, Nejdi, Hidalgo, & Desor, 2005).

❖ *Les lévanes :*

Les lévanes sont des polymères linéaires de fructose avec des liaisons β (2-6), synthétisés principalement par les plantes et aussi par les bactéries. Leur synthèse dans les plantes aboutit à la production des petites chaînes de lévanes avec un DP de 3 à 200, tandis que les bactéries produisent des lévanes avec un DP > 50000 (Ortiz-Soto, Porrás-Domínguez, Seibel, & López-Munguía, 2019).

❖ *Les graminanes :*

Les graminanes sont des polymères mixtes contenant à la fois des liaisons β (2-1) et β (2-6) fructosyle, avec un DP très faible. Ils se trouvent généralement dans les espèces monocotylédones essentiellement dans les céréales (blé, orge) (Kawakami, Yoshida, & Van den Ende, 2005).

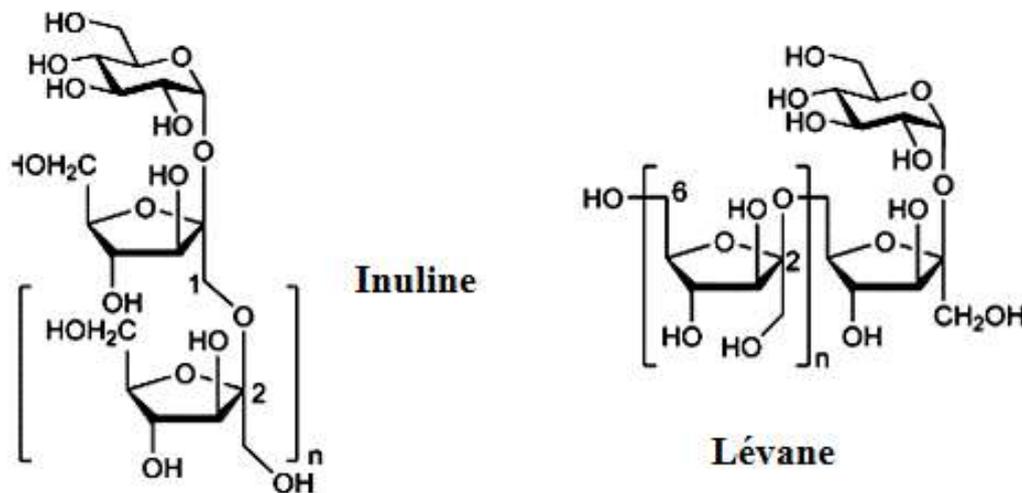


Figure 09: Structures des fructanes type inuline et lévane (Soria, Brokl, Sanz, & Martínez-Castro, 2012).

I.1.2.3. Les exsudats et les mucilages

Les gommes et les mucilages sont tous les deux des hydrocolloïdes végétaux, largement utilisés en industrie pharmaceutique. Ce sont des polymères d'un seul ou plusieurs monosaccharides, la plupart sont des hétéropolysaccharides. Ils ont des similitudes (Jani, Shah, Prajapati, & Jain, 2009).

A. Les exsudats

Les exsudats sont considérés comme des produits pathologiques exsudés suite à une blessure de la plante ou en raison de conditions défavorables (Mirhosseini & Amid, 2012).

Ils ont de nombreuses applications, en industrie alimentaire sont utilisés comme modificateurs de texture, agents gélifiants, épaississants, stabilisants et émulsifiants (Mirhosseini & Amid, 2012).

B. Les mucilages

Les mucilages sont en générale des produits normaux du métabolisme, formés à l'intérieur de la cellule (Mirhosseini & Amid, 2012). Ils permettent à la plante de stocker des quantités hydriques importantes qu'elle pourra utiliser en période de sécheresse. Dans le cas

contraire, en présence de quantités d'eau très importantes, le gonflement du mucilage peut entraîner l'éclatement des tissus (Gorai, El Aloui, Yang, & Neffati, 2014).

I.2. Applications des polysaccharides végétaux

Les différentes applications de ces PS végétaux sont résumées dans le **tableau I** ci-dessous.

Tableau 1 : Applications des PS végétaux.

Polysaccharides	Liaison osidique	L'ose principal	Applications
Cellulose	β (1-4)	galactose	Secteur agroalimentaire, matériaux textile.
Hémicellulose	β (1-4)	xylose	Industrie alimentaire, d'énergie et comme neutraceutique.
Pectine	α (1-4)	Acide galacturonique	Industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.
Amidon	α (1-4) α (1-6)	Glucose	Domaine alimentaire, pharmaceutique, cosmétique et textile.
Fructanes	β (2-1) β (2-6)	fructose	Industrie alimentaire, domaine de la santé.
Exsudats et Mucilages	Généralement sont des polysaccharides hétérogènes.	sont des	Pharmacie, au tant qu'adjuvants pharmaceutiques. Industrie alimentaire pour leurs pouvoir de rétention de l'eau et stabilisation (produits laitiers, viandes, confiserie...). Cosmétiques, textiles, peintures.

Chapitre II

Extraction des polysaccharides végétaux



II. Extraction des polysaccharides végétaux

II.1. Définition de l'extraction

L'extraction en générale est le fait d'extraire, retirer et d'arracher quelque chose d'un endroit ou d'une matière.

En biochimie, l'extraction se définit comme une opération qui sert à séparer certaines substances d'un organisme (animale, végétale) selon diverses techniques.

II.1.2. L'extraction solide liquide

Par définition, l'extraction solide-liquide est une opération de transfert de substances présentes dans une phase « solide » vers le solvant « liquide ».

Son principe est basé sur le phénomène de diffusion et d'osmose. En effet, la matrice solide contenant les composés extractibles est immergée dans un liquide. Ce dernier commence donc à s'enrichir en certaines substances chimiques qui se déplacent de l'intérieur vers la surface du solide, puis de la surface vers le liquide.

Selon [Laoufi and Dounit \(2013\)](#), l'extraction solide-liquide est régie par trois processus élémentaires :

- Dissolution du soluté dans le solvant ;
- Diffusion du soluté vers l'intérieur de la matrice solide ;
- Transfert du soluté vers l'extérieur de la matrice.

Parmi les méthodes d'extraction solide-liquide on trouve :

L'extraction conventionnelle des composés bioactifs utilise des solvants tels que l'eau, les solutions acides ou alcalines en contact avec la matrice solide. Ces techniques sont plus adaptées dans l'extraction des PS végétaux mais sont aussi à faible rendement et présentent certains inconvénients qui peuvent affecter les propriétés de ces derniers. Cela a fait pousser les chercheurs pour développer de nouvelles méthodes plus pratiques avec un rendement plus élevé comme l'extraction assistée par ultrasons, micro-ondes ou gaz supercritiques ([Naviglio, Scarano, Ciaravolo, & Gallo, 2019](#)).

II.2. Extraction par la méthode traditionnelle à l'eau

II.2.1. Principe

L'eau représente le meilleur solvant le plus largement utilisé en pratique et le plus souvent disponible. L'extraction conventionnelle par l'eau ou « Traditional Water

Extraction » (TWE) c'est une méthode classique et couramment utilisée pour l'extraction des PS notamment ceux d'origine végétale en raison de son faible coût et son utilisation pratique (Liu & Huang, 2019).

Elle est basée sur la forte solubilité des PS dans l'eau. Généralement en pratique, l'extraction est de (2h) à (6h) dans de l'eau chaude (100°C). Si l'extrait est moins visqueux, le résidu sera éliminé plus facilement par filtration et si l'extrait est très visqueux le résidu sera donc éliminer par centrifugation (Shi, 2016).

II.2.2. Les paramètres influençant le rendement

De nombreuses études sur les PS ont montré que certains paramètres tels que le temps d'extraction, la température d'eau et le ratio solide/liquide peuvent influencer le rendement d'extraction (Liu, Sun, & Huang, 2018).

II.2.3. Avantages et inconvénients

Selon Ma et al. (2016), l'extraction conventionnelle à l'eau est plus utilisée en raison de son faible coût, sa simplicité et sa sécurité par rapport à l'eau qui est un solvant non toxique. Cependant la longue durée et la température élevée peuvent entraîner la dégradation des PS et diminution l'activité biologique de l'extrait (Liu et al., 2018).

II.2.4. Processus

Le processus de TWE rapporté par Chen et al. (2019) lors d'extraction des PS à partir des pousses de bambou en Chine (*Chimonobambusa quadrangularis*) suit les étapes suivantes qui sont résumées dans le diagramme ci-dessous (**figure 10**):

- 5g de poudre végétale prétraitée été mesurée.
- La poudre ensuite mélangée avec (100 ml) d'eau distillée et mise dans un bain d'eau chaude pendant (4h).
- le mélange est centrifugé pour récupérer le surnageant et le résidu été extrait à nouveau.
- Les solutions d'extraits été ainsi combinées et concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif à (54 °C) sous vide puis précipités à l'alcool (75%).
- Le concentré est dissous dans de l'eau chaude (50 °C) et dialysée pour éliminer les petites molécules.
- La solution dialysée et lyophilisée pour obtenir une poudre de PS bruts.

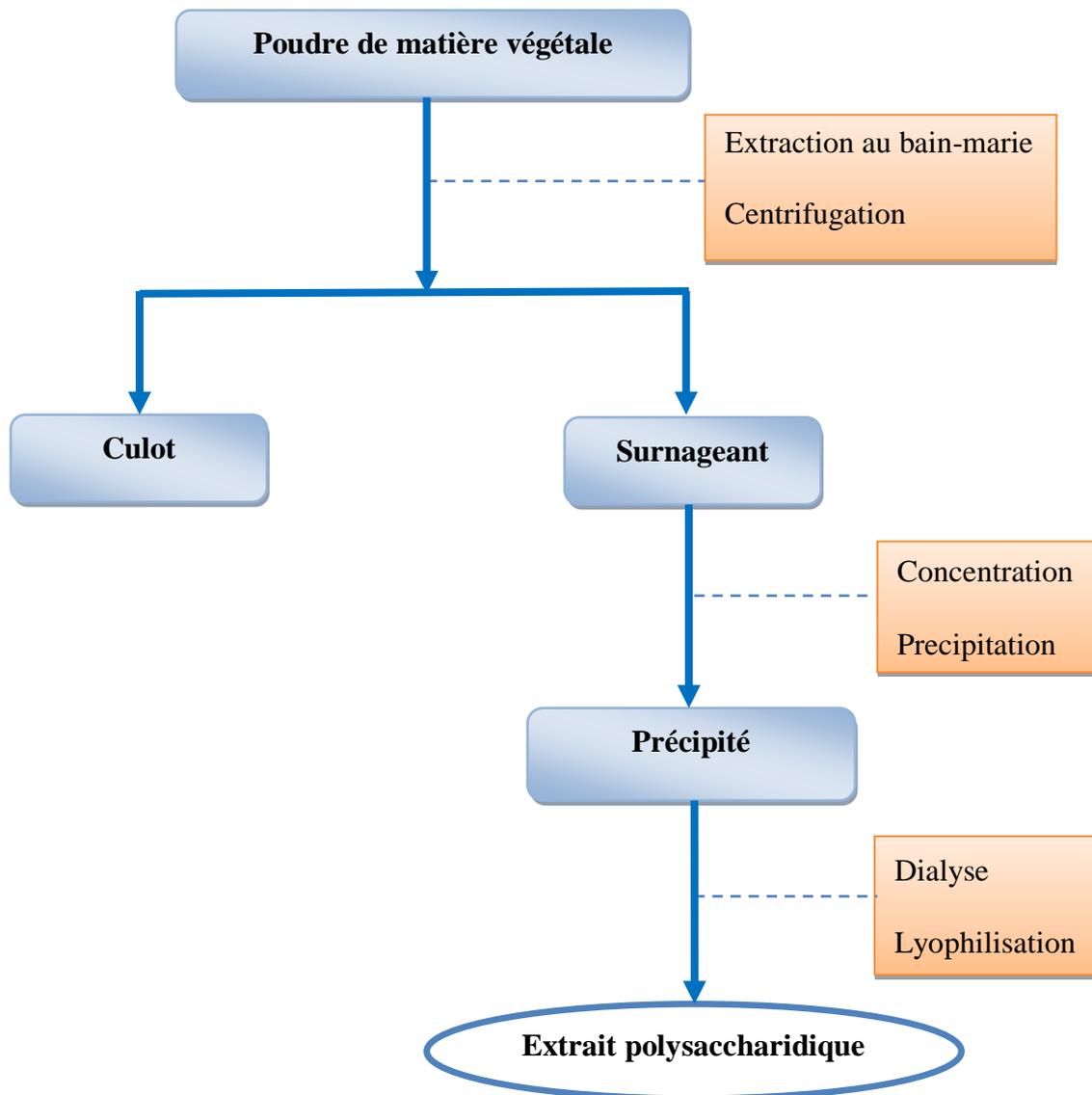


Figure 10 : Diagramme d'extraction des PS végétaux par la méthode traditionnelle à l'eau.

II.3. Extraction assistée par micro-ondes

II.3.1. Définition des micro-ondes

Selon [Moret, Conchione, Srbinovska, and Lucci \(2019\)](#), les micro-ondes sont des rayonnements non ionisants avec une gamme de fréquence comprise entre (300 à 300 000 MHz).

II.3.2. Principe

L'extraction assistée par micro-ondes (EAM) utilise des irradiations pour extraire les substances bioactives comme les PS. L'énergie des micro-ondes se transforme en chaleur qui est directement transférée dans les matériaux par interaction moléculaire (Chadni, Bals, Ziegler-Devin, Brosse, & Grimi, 2019). Ce chauffage interne induit une évaporation du liquide et augmentation de la pression dans les cellules qui provoque leurs éclatement et migration ainsi des composés bioactifs vers la solution (Xiaokang et al., 2020).

II.3.3. Les paramètres influençant le rendement

La nature et le volume du solvant, la température et le temps d'extraction ainsi que l'humidité et la polarité du solvant sont généralement les paramètres les plus pertinents affectant le processus de la EAM (Maran, Sivakumar, Thirugnanasambandham, & Sridhar, 2013).

II.3.4. Avantages et inconvénients

EAM est l'une des méthodes les plus puissantes dans l'extraction des PS à partir de plusieurs plantes (Cheng et al., 2015).

Elle présente de nombreux avantages tels que le plus temps court d'extraction, le faible coût, le taux d'extraction élevée avec moins de solvant et d'énergie consommée (Xie et al., 2010). Cependant, elle peut modifier la structure chimique et les bio-activités des PS ciblés si le traitement est drastique (Wang et al., 2010).

II.3.5. Processus

Un exemple de processus d'extraction des PS est réalisée dans un four à micro-ondes selon la méthode réalisée par Ren et al. (2017) à partir de (*Sargassum thunbergii*). L'extraction est faite à partir de 1g de poudre séchée de matière végétale placée dans la chambre d'extraction à micro-ondes (figure 11) équipé d'une minuterie numérique, d'un régulateur de température et de puissance.

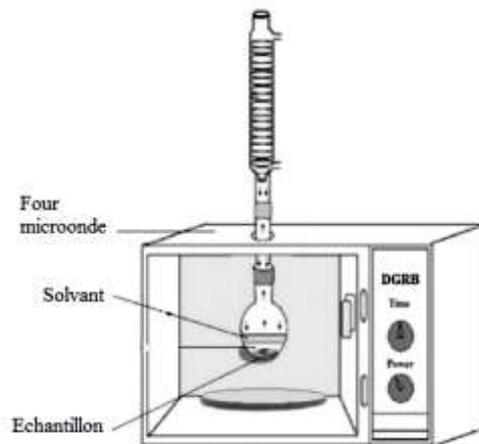


Figure 11: unité de microonde (Thirugnanasambandham, Sivakumar, & Maran, 2015).

Les étapes décrites du processus sont résumées dans le diagramme suivant (figure12) :

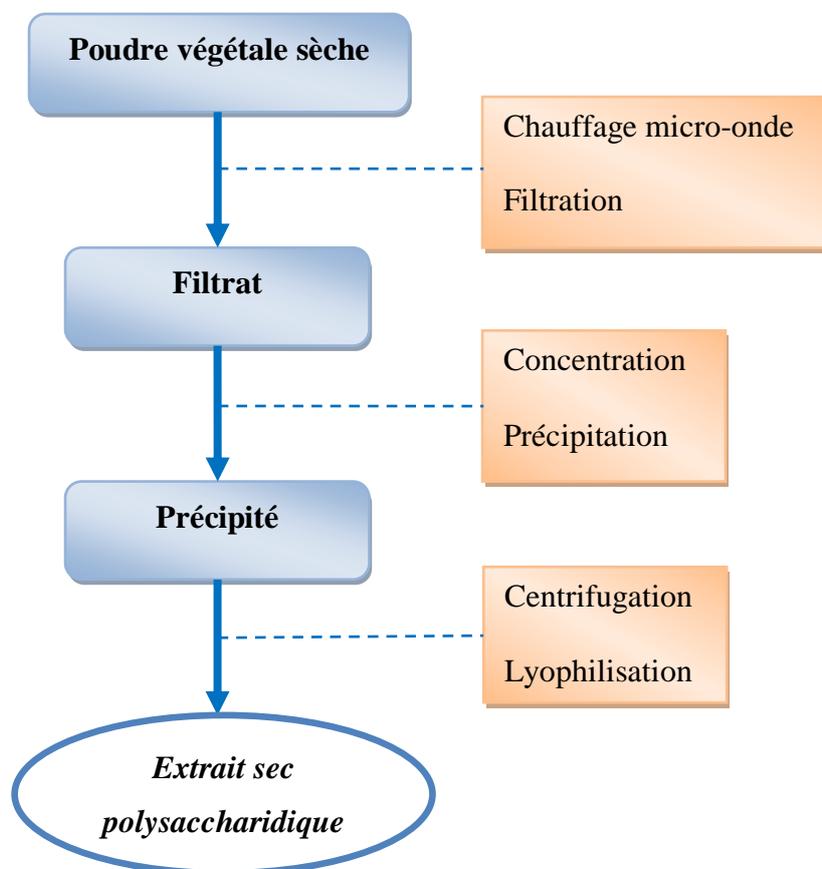


Figure 12 : Diagramme d'extraction assistée par micro-ondes des PS végétaux.

II.4. Extraction par fluide supercritique

II.4.1. Définition d'un fluide supercritique

On parle ainsi de fluide supercritique (FSC) lorsqu'un fluide est chauffé au-delà de sa température critique et lorsqu'il est comprimé au-dessus de sa pression critique. Il a des propriétés intermédiaires entre celles de gaz et du liquide (Sauceau, Fages, Common, Nikitine, & Rodier, 2011).

II.4.2. Définition de l'extraction par fluide supercritique

L'extraction par fluide supercritique (EFS) est devenue aujourd'hui une des méthodes les plus efficaces dans l'extraction des PS (Tyśkiewicz, Konkol, & Rój, 2018). Elle utilise des FSC comme solvants d'extraction. Le FSC le plus largement utilisé comme solvant est le dioxyde de carbone (CO_2) en raison de sa faible pression et température critique ($P : 74 \text{ bar} / T : 32 \text{ C}^\circ$) (figure 13), sa sécurité et non toxicité, son inertie chimique et sa faible viscosité (Liang et al., 2018).

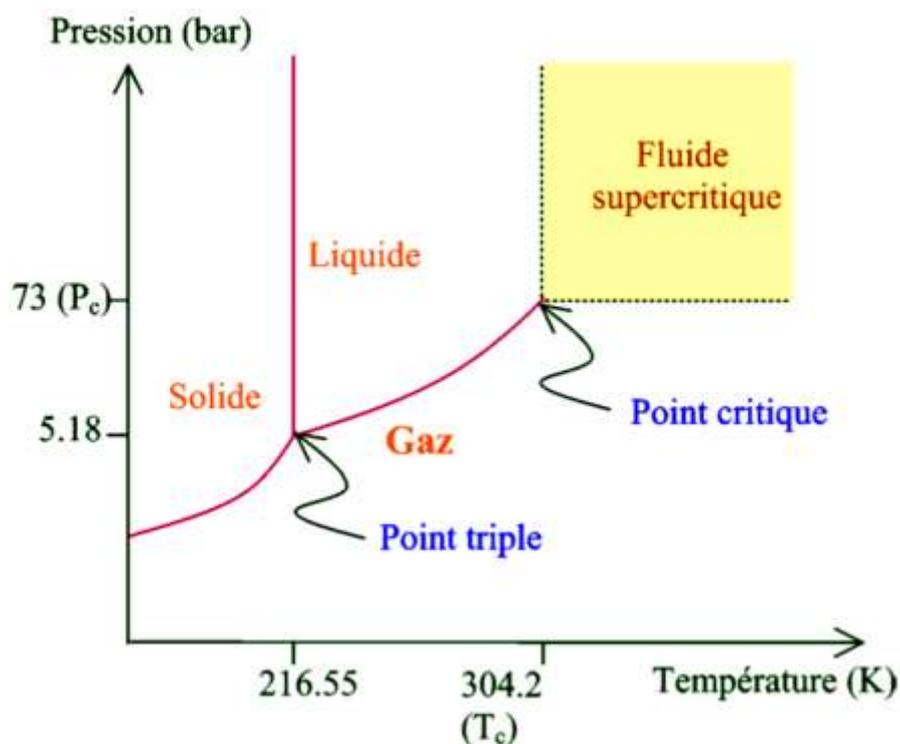


Figure 13 : Diagramme de phase du dioxyde de carbone (Moussa, Ksibi, Tenaud, & Baccar, 2005).

II.4.3. Principe

L'EFS se déroule essentiellement en deux étapes, la solubilisation des composés présents dans la matrice solide et la séparation dans le solvant supercritique. Une fois les composés sont solubilisés, le solvant sort par l'extracteur portant ces composés solubilisés. Pendant l'extraction des PS végétaux, la matrice végétale absorbe le solvant supercritique ce qui entraîne le gonflement de sa structure cellulaire et ses membranes et dilatation des canaux cellulaires. A certain temps, la dissolution de l'extrait se produit et le transfert de masse de la matrice interne vers sa surface. Les composés solubles atteignent la surface externe. Ces derniers sont transportés vers le solvant qui sont ensuite éliminés (Da Silva, Rocha-Santos, & Duarte, 2016).

II.4.4. Les paramètres influençant le rendement

Les paramètres influençant le rendement comprenaient la température, la pression le temps et le débit de CO₂ (Villares, Mateo-Vivaracho, & Guillamón, 2012).

II.4.5. Avantages et inconvénients

L'utilisation des solvants supercritiques pour l'extraction des PS végétaux n'entraînent pas la dégradation de ces derniers. La possibilité de réutilisation et le recyclage de ces solvants entraîne une minimisation de la production des déchets (Azmir et al., 2013). Cependant la haute pression nécessaire pour maintenir le solvant à l'état critique peut avoir un effet négatif sur ces composés. L'autre inconvénient majeur de cette méthode est le coût initialement élevé de l'équipement (Askin, Sasaki, & Goto, 2007).

II.4.6. Processus

L'EFS se déroule en deux étapes principales :

- Extraction des composants solubles dans le solvant supercritique ;
- Séparation des solutés extraits du solvant.

Le processus d'extraction par le FSC à partir de la matrice solide suit en générale les étapes décrites ci-dessous et le diagramme du processus de la SFE est illustré en (figure 14) (Martinez, 2007).

- Le solvant pressurisé est chauffé au-dessus de sa température critique.
- La cuve d'extraction remplie de la matière contenant les composés à extraire est chauffée à température d'extraction.
- Le fluide supercritique s'écoule à travers le lit fixe.
- Les composés solubles sont ensuite extraits de la matrice solide.
- Le fluide et l'extrait sort de la cuve d'extraction du haut par la vanne de réduction de pression.
- Le solvant est ainsi chauffé au-dessus de sa température de saturation pour atteindre l'état gazeux.
- Les composés sont collectés dans un séparateur alors que le solvant en phase gazeuse sort vers la cuve d'extraction pour une recirculation.

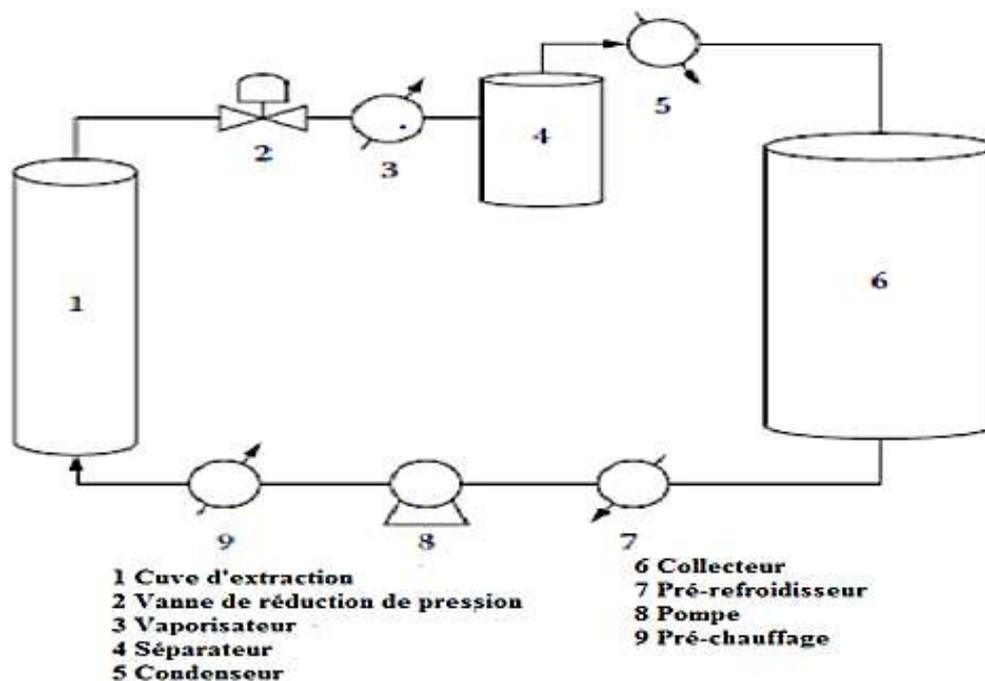


Figure 14 : Diagramme du processus d'extraction par fluide supercritique (Martinez, 2007).

II.5. Extraction par ultrason

II.5.1. Définition

Les ultrasons sont des ondes mécaniques, basés sur le principe de la cavitation acoustique qui est capable d'endommager les parois cellulaires de la matrice végétale,

favorisant ainsi la libération de composés bioactifs. Ils diffèrent des sons par la fréquence d'onde, celle des êtres humains sont comprises entre (16 et 20KHz), tandis que les fréquences ultrasonores vont de (20 KHz à 10 MHz).

Les principales caractéristiques des ondes ultrasonores sont : l'amplitude, la fréquence, la vitesse, la longueur, le rapport de puissance et l'intensité (Medina-Torres, Ayora-Talavera, Espinosa-Andrews, Sánchez-Contreras, & Pacheco, 2017).

II.5.2. Principe

L'extraction assistée par ultrasons (EAU) est basée sur le principe de la cavitation. Lorsque le solvant est soniqué, les ondes ultrasonores se propagent dans le milieu, ce qui entraîne des cycles alternés de compression et de décompression, qui à leur tour entraînent des changements de pression, à des pressions très faibles se forme des bulles d'air ou de vapeur de solvant, donnant lieu à un phénomène appelé cavitation (**figure 15**). Durant ce phénomène, les bulles de cavitation atteignent une taille plus importante, qui implosent violemment en fin de phase de compression, produisant une température locale plus intense et des pressions élevées, ce qui génèrent des micro-jets vers la surface solide, engendrant ainsi la libération des composés du tissu végétal après la rupture de la paroi cellulaire (Petit, Ritz, & Federighi, 2002).

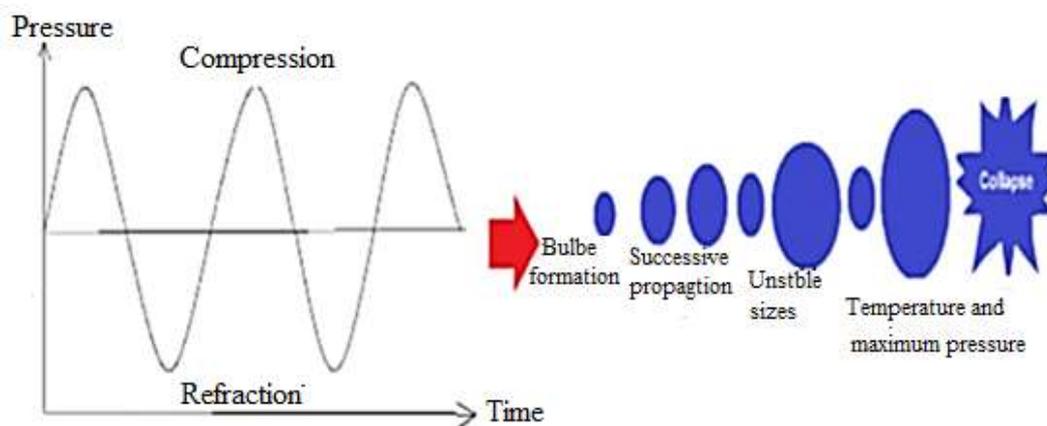


Figure 15 : le principe de la cavitation acoustique (Medina-Torres et al., 2017).

II.5.3. Avantages

L'extraction ultrasonique est une technique efficace, largement utilisée pour extraire des composés végétaux, permettant :

- L'augmentation du rendement et la qualité des extraits ;

- Réduire la consommation élevée du solvant, ainsi que le temps d'extraction (Da Porto, Porretto, & Decorti, 2013) ;
- Consomme peu d'énergie ;
- Facile à manipuler, reproductible ;
- Améliore la diffusion des composés extractible en perturbant les parois cellulaires de la plante ;
- Faible coût et la rapidité de la technique en comparaison a d'autres méthodes d'extraction conventionnelle (Maran & Priya, 2014).

II.5.4. L'équipements de traitement ultrasonique

A. En laboratoires

Deux types d'équipements sont utilisés en laboratoire. Le premier est le bain ultrasonique qui est généralement utilisé pour la dispersion, le dégazage et le nettoyage (**figure 16**). Ce type d'instrument possède l'avantage d'être facile à manipuler et économique.

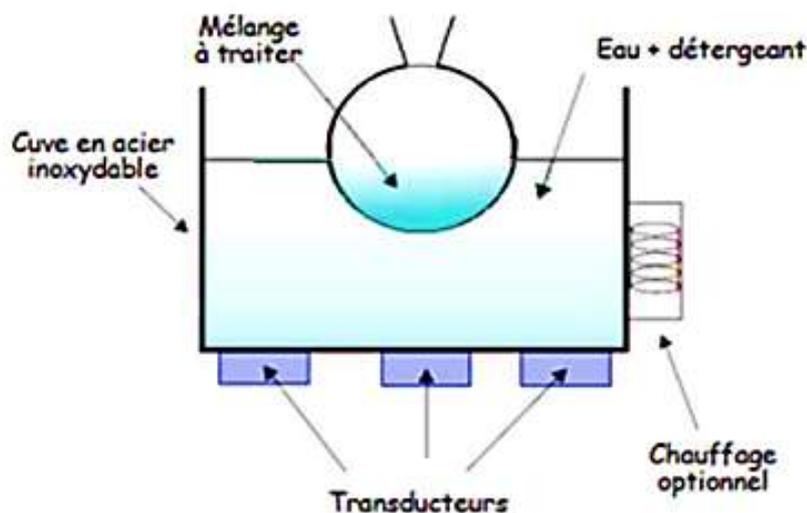


Figure 16: le système de bain ultrasonique (S. Chemat, 2005).

Le second est la sonde ultrasonique (**figure 17**). A la différence du bain, elle est beaucoup plus puissante. Cependant, son utilisation reste plus adaptée pour la sonication de petits volumes d'échantillons, par conséquent une attention particulière doit être prise en raison de l'augmentation rapide de la température dans l'échantillon (F. Chemat & Khan, 2011).

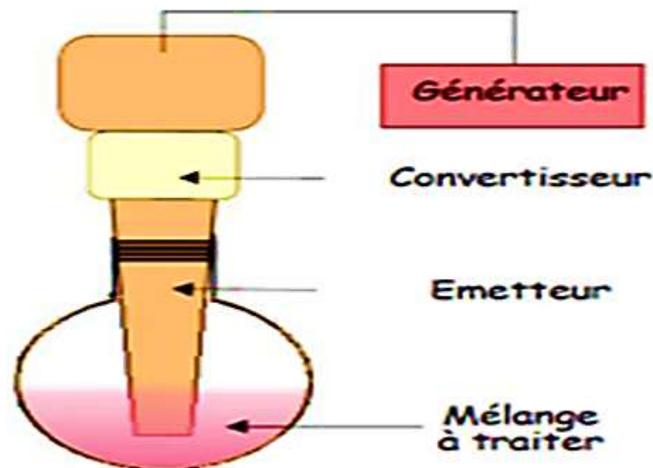


Figure 17 : le système de la sonde ultrasonique (S. Chemat, 2005).

B. En industrie

Le système de lot et de flux sont essentiellement les deux types utilisés en industrie. Les systèmes de bain et de sonde peuvent être adaptés à grande échelle (figure 18).

Le système de lot est basé sur le bain ultrasonique qui est utilisé comme réacteur.



Figure 18 : l'équipement ultrasonique industriel (Pingret de Sousa, 2012).

II.5.5. Application des ultrasons en agroalimentaire

D'après [Leonelli and Mason \(2010\)](#), les ultrasons peuvent ainsi être utilisés dans divers procédés agroalimentaires selon l'effet souhaité, incluent :

- La filtration et le séchage ;
- Le dégazage ;
- La cuisson, la coupe ;
- La conservation des aliments ;
- La congélation et la cristallisation ;
- Le mélange et homogénéisation ;
- Le saumurage, marinage et décaillage ;
- L'extraction par la rupture des parois cellulaires ;
- La stérilisation et pasteurisation.

D'autres domaines d'applications sont :

- L'électrochimie ;
- La protection de l'environnement ;
- La préparation et la modification des matériaux ;
- La thérapie.

II.5.6. Processus

Selon [Maran and Priya \(2014\)](#), l'extraction des PS à partir des pelures des fruits de ramboutan (*Nephelium lappaceum*) a été effectuée à l'aide de sonde plate à pointe, elle inclue les étapes suivantes :

- La matière végétale en poudre (10g) est mise en suspension avec de l'eau distillée, puis traitée par une sonde plate à pointe (2cm), pour extraire des échantillons.
- Après sonification, l'extrait est centrifugé à (3000tr /min) pendant (15min) et filtré par le papier Whatman No.1 pour récupérer le surnageant.
- Les résidus insolubles sont traités à nouveau.
- L'extrait obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide à (60°C).
- La solution restante est mélangée avec quatre volumes d'éthanol à (95%), puis incubés à (4°C) pendant (48h).
- Le précipité est centrifugé à (3000tr/min, 15 min), lavé à l'éthanol, lyophilisé afin d'obtenir des PS brutes.

Les étapes d'extraction des PS par ultrason sont résumées dans le diagramme suivant (figure 19) :

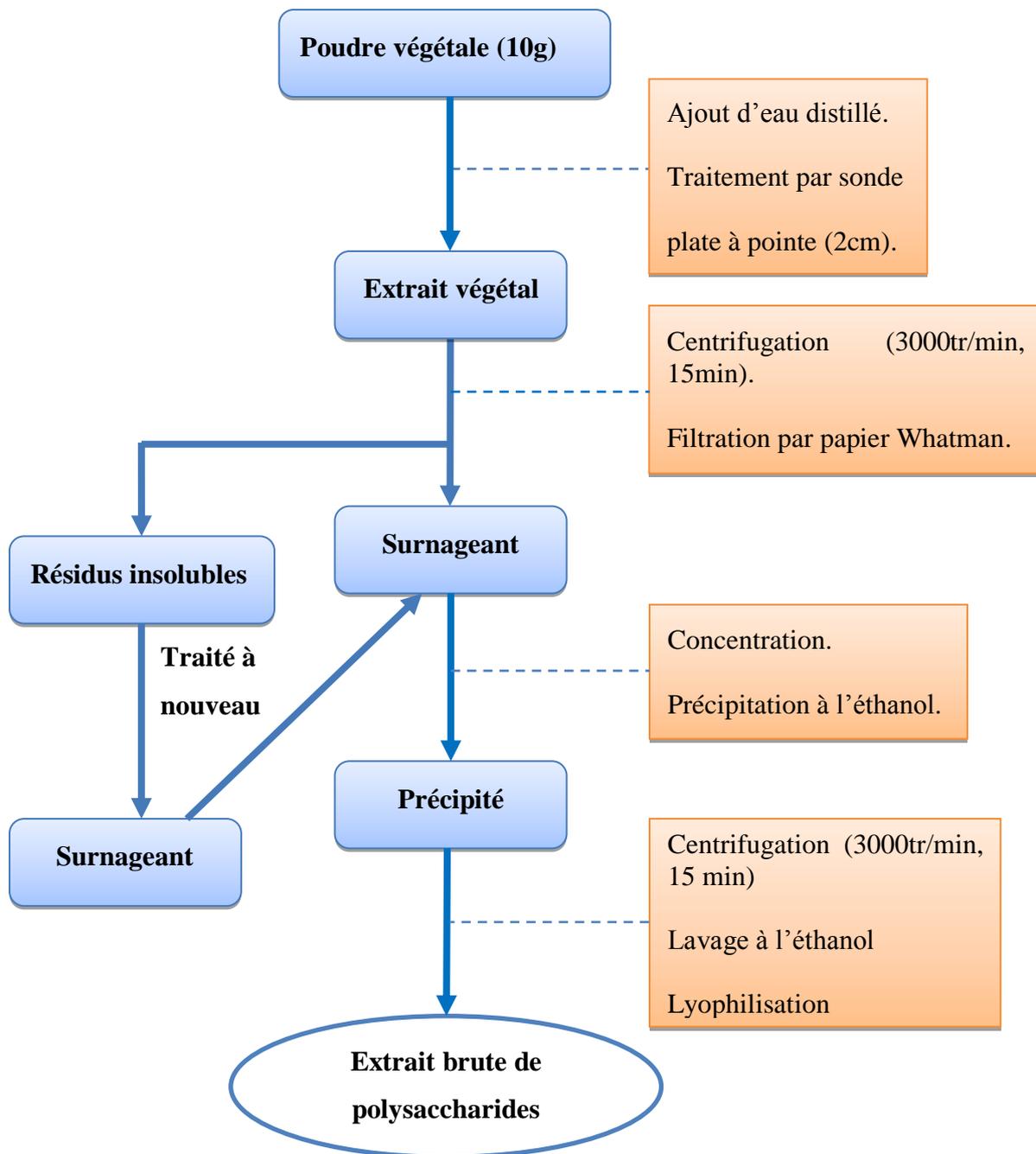


Figure 19 : Diagramme d'extraction des polysaccharides par ultrason.

II.6. Rendement d'extraction :

Après l'extraction, le rendement total en PS extraits est déterminé soit par :

- La méthode colorimétrique à l'acide « phénol-sulfurique ». Cette méthode est basée sur la décomposition des polysaccharides en présence d'acide fort et de la chaleur qui génèrent des furanes qui forment des composés jaunes en présence d'éthanol pouvant être mesurés par spectrométrie (Nielsen, 2010).
- Calculé par la formule suivante qui s'exprime en pourcentage (%) du poids de l'extrait brute obtenu par rapport à la matière sèche de l'échantillon utilisé pour l'extraction (Drosou, Kyriakopoulou, Bimpilas, Tsimogiannis, & Krokida, 2015) :

$$\text{Rendement d'extraction} = \frac{\text{masse d'extrait}}{\text{masse de matière sèche}} \times 100$$

Chapitre III

Purification des polysaccharides végétaux



III. La purification des PS végétaux

En chimie, la purification est une technique de séparation des substances chimiques dans le but de décontaminer des substances.

Une fois l'opération d'extraction est réalisée, différentes impuretés peuvent accompagner l'extrait brut de PS obtenus en fonction de la composition initiale des biomasses et des conditions d'extractions. Par conséquent, une étape de purification devrait être effectuée afin d'éliminer ces impuretés.

Il existe plusieurs méthodes de purification des PS végétaux, parmi les on peut citer :

- La précipitation fractionnée.
- La chromatographie.

III.1. La précipitation fractionnée

III.1.1. Définition

La précipitation en biochimie est la réaction inverse de la dissolution. C'est la transition d'une substance de l'état soluble à l'état non soluble par l'addition d'autres réactifs conduisant à la formation d'un précipité.

La précipitation fractionnée concerne les PS qui présentent de grandes différences de solubilités et de poids moléculaire. C'est une procédure qui consiste en addition de réactifs à une solution de PS pour les fractionner et les isolés en fonction de leurs solubilités (Lupo, Boulos, & Nyström, 2020). Dans de nombreuses études expérimentales sur les PS, il a été constaté que l'éthanol est le meilleur solvant pour la purification de certains PS végétaux. Par rapport à d'autres méthodes de purification, la précipitation fractionnée à l'éthanol présente plusieurs avantages mentionnés dans le **tableau III** comme l'efficacité élevée, faible coût, simple opération et récupération d'éthanol (Fang, Smith, & Tian, 2019).

III.1.2. Principe

Le principe de la précipitation fractionnée est basé sur la diminution du pouvoir de solvation de l'eau pour les polysaccharides en présence d'un réactif plus hydrophile utilisé pour la précipitation (alcool). La solubilité des PS diffère selon le poids moléculaires et le degré de ramification. Généralement la solubilité et le poids moléculaire des PS sont corrélés négativement (X. Hu & Goff, 2018).

III.1.3. Processus

Selon Zou et al. (2013), les PS issus du pin à cônes de (*Pinus koraiensis*) sont purifiés par la méthode de précipitation fractionnée qui se résume dans les étapes suivantes :

- La solution des PS est mélangée avec de l'éthanol (95%), ce qui rend la concentration finale de l'éthanol (30%) (v/v).
- Le mélange est agité et précité pendant une nuit à température ambiante.
- La première fraction (F1) polysaccharidique a été recueillie par centrifugation.
- Le surnageant obtenu est traité par la même procédure avec un certain volume d'éthanol(95%) et précipité séquentiellement dans une solution d'éthanol à des concentrations de (50%, 60%, 70% et 80%) respectivement et donc quatre autres fractions ont été recueillies.
- En tout, cinq fractions qui ont été obtenues, sont lyophilisées et stockées pour des études ultérieures.

Ces étapes sont résumées dans le diagramme suivant (**figure 20**) :

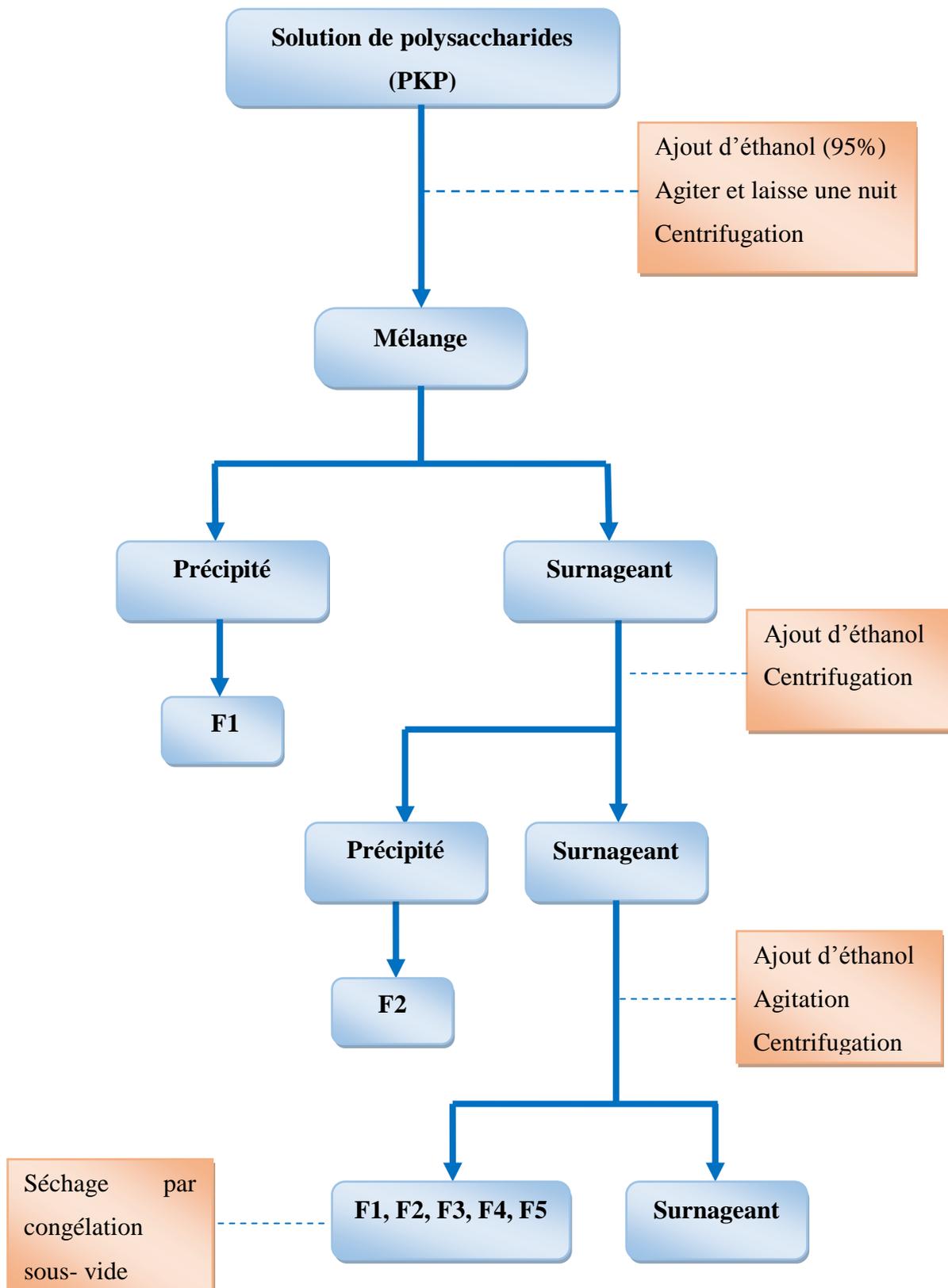


Figure 20 : Diagramme de précipitation fractionnée à l'éthanol des polysaccharides végétaux.

III.2. La purification par la technique chromatographique

La chromatographie a été inventée par le botaniste russe Mikhail Semenovitch Tswett dans les années 1899-1901. La première chromatographie a été réalisée par ce botaniste en 1903 lors de sa recherche sur la structure physico-chimique de chlorophylles végétales.

Cette technique est peut-être considérée comme la technique de séparation du XX^{ème} siècle, largement appliquée en chimie et en biochimie (Ettre, 2000).

La chromatographie est une méthode biophysique importante, sert à identifier et purifier des constituants dans un mélange pour une analyse qualitative et quantitative, en les faisant entrainer le long d'une phase stationnaire grâce à une phase mobile.

La séparation s'opère suivant les caractéristiques moléculaires qui peuvent s'agir d'adsorption, d'affinité, de partage ou selon le poids moléculaire.

Chaque molécule est retenue plus ou moins par la phase stationnaire en fonction de leur affinité avec les deux phases (Coskun, 2016).

- **La phase mobile** : cette phase est constituée d'un fluide ou un gaz ou d'un liquide supercritique, qui se déplace à travers la phase stationnaire.
- **La phase stationnaire** : c'est une phase soit solide ou gel ou liquide enduite à la surface d'une phase solide.

Ce système de séparation est composé d'un injecteur pour l'introduction de l'échantillon, de deux phases l'une est mobile l'autre est stationnaire et d'un détecteur (Ardrey, 2003).

III.2.1. La chromatographie d'échange d'ion

III.1.1.1. Définition

La chromatographie d'échange d'ion (CEI) est l'une des méthodes analytiques d'adsorption importante pour purifier des protéines, des peptides, des acides nucléiques, ainsi que des molécules chargées, impliquant un processus électrostatique qui dépend des interactions ioniques entre deux phases (mobile et stationnaire).

La phase stationnaire utilisée en CEI est une matrice organique, chimiquement inerte, comporte des groupements fonctionnels anioniques pour les échanges de cations, soit cationiques pour les échanges d'anions. La phase mobile est constituée d'un tampon aqueux ajusté à un pH approprié, qui se déplace à travers la phase stationnaire (Acikara, 2013).

III.2.1.2. Principe

De façon générale, le principe de cette chromatographie se base sur l'adsorption réversible de molécules solubles chargées, à des groupes ioniques de charge opposées, immobilisés sur un support inerte.

La purification se réalise grâce au fait que des substances diverses présentant des degrés d'interactions variables avec les groupements échangeurs ioniques suite à une différence dans leur charge nette, la densité et la répartition de ces charges à leur surface. Lorsque l'échantillon à purifier est appliqué sur la colonne, les molécules solubles, portant la charge appropriée, se lient de façon réversible à la matrice. L'élution de la colonne se fait en appliquant des conditions défavorables en variant la force ionique ou le pH du tampon d'élution.

Généralement les PS sont purifiés en fractions homogènes par la chromatographie d'échange d'anion (CEA) qui est une étape importante préliminaire, appliquée pour séparer des PS acides, neutres.

Les échangeurs d'anions ont une structure tridimensionnelle avec un effet d'un tamis moléculaire, les plus utilisés sont la DEAE-Sephadex, DEAE-Sepharose et la DEAE-cellulose qui est le premier choix en raison de sa facilité de fixation et de diffusion des polysaccharides.

Les PS acides peuvent être adsorbés sur l'échangeur au pH=6 tandis que les polysaccharides neutres ne peuvent pas. En outre les PS acides peuvent être élués à l'aide d'un même tampon mais avec une force ionique différente. Pour les PS neutres la désorption peut être réalisée par la DEAE-cellulose de type borax avec une solution de borate de différente concentration, l'élution des fractions polysaccharidique est en fonction de leur coordination avec le borax.

L'adsorption des PS neutres linéaires avec un poids moléculaire (PM) plus grand est plus facile par rapport à ceux qui ont un PM plus petits. Pour les PS à chaîne droite leur capacité d'adsorption est supérieure à celle des PS à chaîne ramifiée.

En générale l'élution des PS s'effectue en utilisant des tampons avec une force ionique différente (Shi, 2016).

III.2.1.3. Les conditions de la réalisation de la chromatographie d'échange d'ions

Les conditions du fonctionnement de ce système sont déterminées par l'interaction de ces trois critères qui sont (Acikara, 2013) :

- Le choix de la phase stationnaire ;
- La nature et le choix des constituants de la phase mobile ;
- La sélection des conditions de désorption (le choix du tampon).

III.2.1.4. Avantages

Selon Cummins, Rochfort, and O'Connor (2017), parmi les raisons de sa large applicabilité, on peut citer:

- Sa haute puissance de résolution ;
- Sa grande capacité de manutention de l'échantillon ;
- Sa polyvalence et son applicabilité large ;
- Son coût relativement faible ;
- Sa facilité d'utilisation et d'automatisation à l'échelle industrielle.

III.2.1.5. Processus

D'après Xu et al. (2009), l'extraction des PS végétaux à partir des croziers de fougères (*Pteridium aquilinum*) comprend les étapes suivantes :

- Dissoudre (100 g) de PS bruts dans de l'eau et filtrés à travers une membrane (0,45 µm, Nucléopore).
- La solution a été appliquée à une colonne (DEAE-Sepharose), pré-équilibrée à un débit rapide.
- Des fractions de (4 ml) pour chaque tube ont été collectées dans une élution avec (500 ml) d'eau à un débit de (2 ml/min).
- La teneur en PS de chaque fraction a été détectée par la méthode d'acide phénol-sulfurique. Les fractions appropriées (20) ont été concentrées, dialysées contre l'eau et lyophilisées.

Les étapes de la purification sont résumées dans le diagramme suivant (**figure 21**) :

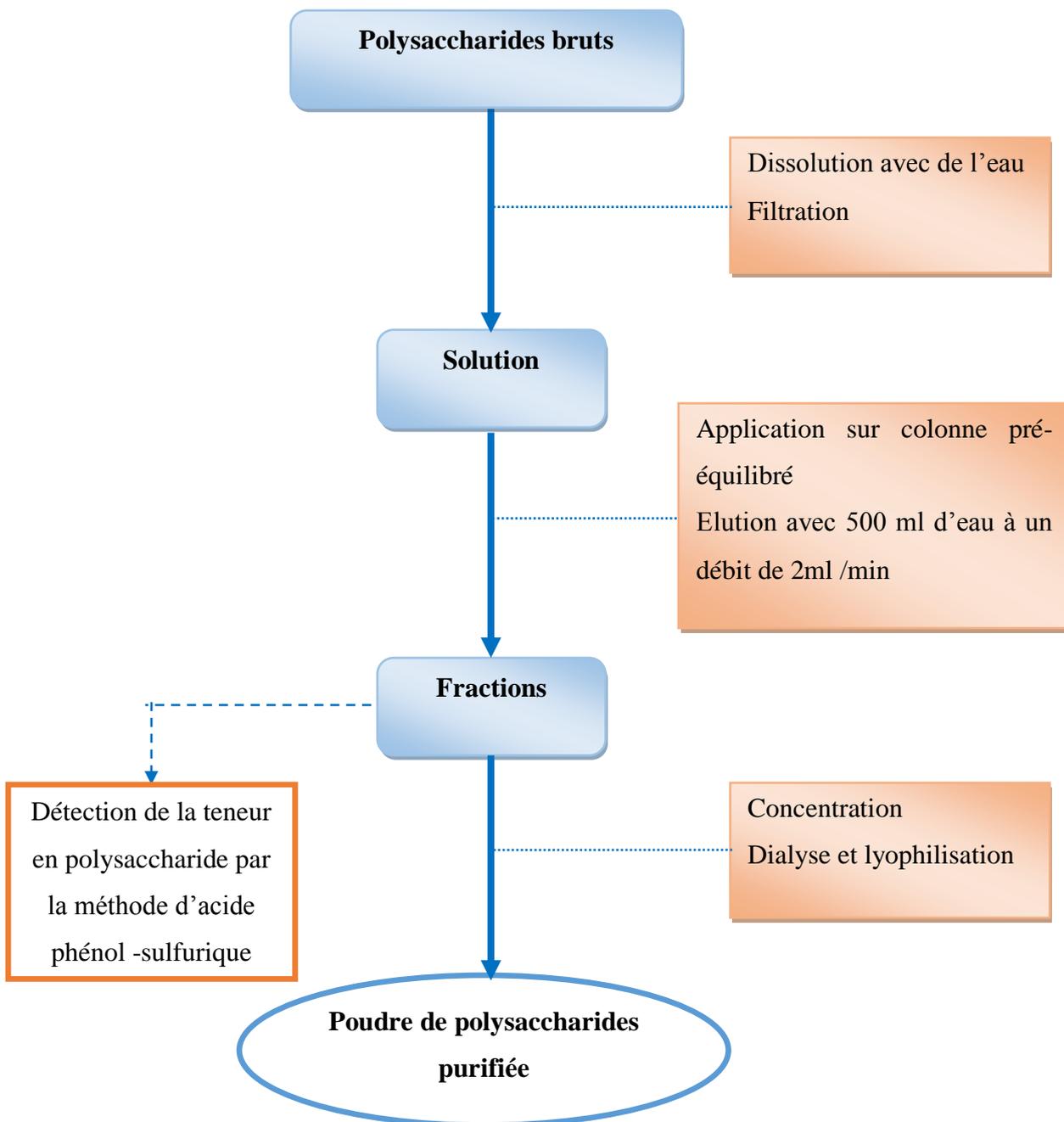


Figure 21 : Diagramme de la purification des PS végétaux par la chromatographie d'échange d'anions.

III.2.2. La chromatographie de perméation sur gel

III.2.2.1. Définition

La chromatographie de perméation sur gel (CPG) également connue sous le nom de chromatographie d'exclusion stérique (CES) ou chromatographie de filtration sur gel est une

technique plus efficace de purification, séparation et caractérisation des polymères synthétiques et naturels (Mohammad & Reineke, 2012).

La CPG est une technique analytique de séparation des composés d'un mélange réactionnel sur base de leurs tailles moléculaires (Graves et al., 2004). Elle est fréquemment utilisée pour la purification des polysaccharides qui dérivent des plantes, mais aussi c'est une opération complexe qui nécessite des coûts élevés ce qui limite son application industrielle (Kong et al., 2010; Tan, Li, Xu, & Xing, 2012).

III.2.2.2. Principe

Le principe de la CPG est basé sur la séparation des biomolécules en fonction de leurs tailles. Le procédé de cette technique utilise des colonnes contenant des gels poreux à travers lesquels les molécules diffusent à des degrés différents selon leurs tailles moléculaires. Les petites molécules (**figure 22**) pénètrent dans ces pores et leur mouvement dans la colonne est retardé. Inversement, les grosses molécules ne peuvent pas entrer dans ces derniers et sont élués donc en premier (Stanton, 2004).

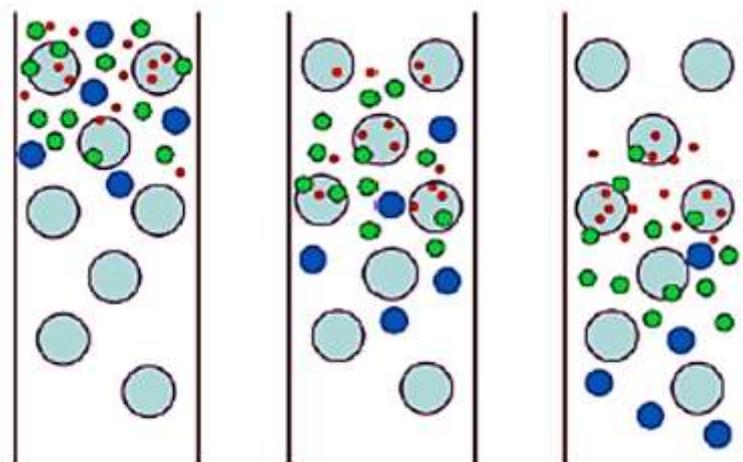


Figure 22 : Schéma montrant une séparation des molécules de différentes tailles moléculaires par la chromatographie de perméation sur gel (Mojsiewicz-Pieńkowska, 2014).

La purification des PS par CPG consiste à séparer différents polysaccharides en se basant sur leurs tailles et les mouvements de vitesse afin d'obtenir des polysaccharides

homogènes. Avant d'effectuer cette opération, une étape d'élimination des impuretés peut être utilisée comme les petites molécules et les sels inorganiques.

Le gel de la phase stationnaire, ainsi que la colonne du gel doivent être choisis en fonction de la masse moléculaire des polysaccharides. Le gel de dextran, gel de polyacrylamide et le gel d'agarose sont généralement utilisés comme phase stationnaire. Pour l'éluant on utilise de l'eau ionisée ou une solution de sel diluée.

La combinaison de la CEA et la CPG appliquée pour la purification des polysaccharides visqueux qui subit une adhérence est considérée comme une méthode efficace, douce et simple (Ren, Bai, Zhang, Cai, & Del Rio Flores, 2019).

III.2.2.3. Les conditions de la réalisation de la chromatographie de perméation sur gel

Lors de la conception d'une filtration sur gel, différents facteurs doivent être pris en compte (Ó'Fágáin, Cummins, & O'Connor, 2017) :

- La taille et la concentration de l'échantillon ;
- Les paramètres de la colonne ;
- Le choix de la matrice ;
- Le choix de l'éluant ;
- L'effet du débit.

III.2.2.4. Processus

Les procédures de purification des PS isolés des écorces des tiges (*Acanthopanax leucorrhizus*) (ALP) rapportées par H.-B. Hu et al. (2018) sont décrites comme suit (**figure 23**):

- L'extrait brut d'ALP a été purifié par la CEA.
- La solution éluée a été collectée et purifiée par filtration sur gel G-100 en utilisant de l'eau distillée comme éluant à un débit de (15ml /h).
- Les fractions obtenues ont été recueillies, concentrées, dialysées et enfin lyophilisées pour obtenir de PS purs pour certaines analyses.

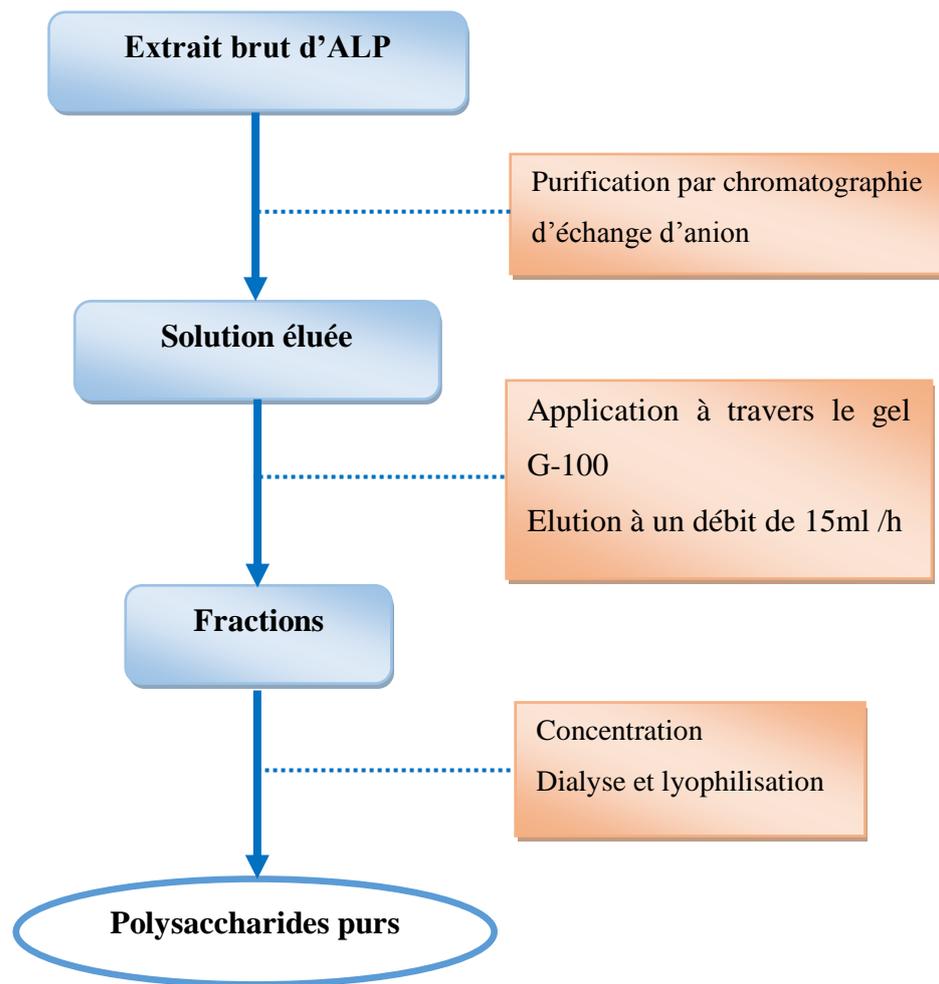


Figure 22 : Diagramme de la purification des polysaccharides par la chromatographie de perméation sur gel.

Tableau III : Les méthodes de purification des polysaccharides naturels (Ren et al., 2019).

Méthodes	Mécanisme	Gamme d'application	Propriétés des polysaccharides obtenus	Avantages	Inconvénients
Précipitation fractionnée.	La solubilité des polysaccharides est différente dans différents solvants.	Polysaccharides bruts avec différentes distributions des poids moléculaire.	Obtenir des polysaccharides avec différents poids moléculaire.	1/Simple operation. 2/Faible coût.	1/Peut induire des Co-précipitation. 2/Faible efficacité.
Chromatographie d'échange d'anions	Adsorption réversible et adsorption des liaisons.	Polysaccharides acides, neutres en particulier les polysaccharides qui se lient aux protéines.	Obtenir des polysaccharides homogènes.	1 /Une efficacité élevée.	1/Coût élevé. 2 /Débit d'éluant facilement affecté par le changement des volumes qui est sensible aux pH et à la force ionique.
Chromatographie de perméation sur gel	Principe du tamis moléculaire.	La plupart des polysaccharides bruts.	Obtenir des polysaccharides homogènes avec différents poids moléculaires.	1/Rapide et pratique. 2/Haute efficacité du processus.	1 /Conditions strictes de séparation.

Chapitre IV

Caractérisation des polysaccharides végétaux



IV. Caractérisation des polysaccharides végétaux

En général, la plupart des PS naturels sont des bio-polymères de grande valeur par leur large spectre d'activités biologiques. Les PS issus des plantes sont reconnus surtout pour leurs activités antioxydantes et anticancéreuses. Cependant, de nombreuses études sur la caractérisation des PS ont pu conclure que ces fonctions sont liées étroitement à leurs propriétés structurales (Yajie Chen, Jiang, Xie, Li, & Shi, 2018).

D'après Jin, Zhao, Huang, Xu, and Shang (2012), les caractéristiques physique et structurelles des PS sont définies généralement par :

- La composition et les séquences de monosaccharides ;
- Le poids moléculaire ;
- La configuration et la position de liaisons glycosidiques ;
- Le degré de polymérisation des branches ;
- La grandeur moléculaire ;
- La solubilité et les propriétés rhéologiques.

IV.1. La caractérisation structurelle

Depuis longtemps, l'analyse structurelle des PS a été le fondement des progrès de la glycoscience qui reste un domaine sous-développé à cause de certaines limites des approches analytiques. Dans les années 1960, y'a eu développement de nouvelles méthodes telles que la chromatographie gaz-liquide (CGL). Une véritable révolution dans le domaine de la recherche des glucides grâce à la spectrométrie de masse et des méthodes de spectroscopie par résonance magnétique et nucléaire (RMN) développées vers les années 1970 et 1980. L'introduction des techniques d'ionisations à la spectrométrie de masse (SM) à la fin du 20^{ème} siècle, le développement des chromatographies liquides de haute performance (HPLC) et l'électrophorèse capillaire (EC) a aussi fortement contribué dans l'analyse des chaînes des PS (Kamerling & Gerwig, 2007).

En plus de ces méthodes instrumentales des méthodes chimiques telles que l'hydrolyse acide partielle, l'oxydation par l'acide périodique et dégradation de Smith sont aussi importantes pour déterminer les caractéristiques structurales des PS (P. Zeng, Li, Chen, & Zhang, 2019).

IV.1.1. Composition en monosaccharides

L'analyse des monosaccharides fournit des rapports sur les masses molaires, implique la rupture de toutes les liaisons glycosidiques, permet le fractionnement des monosaccharides

libérés, la détection et la quantification de chaque monosaccharide. C'est l'une des approches fondamentales d'étude structurale des PS et leurs activités (Cao et al., 2013).

Les méthodes chromatographiques les plus largement utilisées dans cette analyse comprennent la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie en phase gazeuse (CG) et la chromatographie liquide de haute performance (HPLC). Une autre méthode plus puissante dans la détermination des monosaccharides est la chromatographie d'échange d'anion à pH élevé (HPAEC) couplée avec une détection ampérométrique pulsée (DAP) (Hu, Cheong, Zhao, & Li, 2013).

L'analyse de la composition des monosaccharides trouve des difficultés dans leur séparation et leur détection car ils sont hautement hydrophiles et la plupart d'entre eux sont des épimères (Yan et al., 2016).

A) Les réactions chimiques

Des procédés de solvolysse tels que l'hydrolyse ou méthanolyse précèdent parfois l'analyse instrumentale afin de libérer les monosaccharides par clivage des liaisons glycosidiques.

❖ L'hydrolyse acide

L'hydrolyse acide implique le clivage des liaisons glycosidiques entre les monosaccharides par un acide fort et en présence de la chaleur. Pendant cette hydrolyse, les monosaccharides libérés peuvent être dégradés et pour éviter ce phénomène, l'hydrolyse doit être complète en faisant équilibrer la vitesse et le temps (vitesse commune et temps suffisant). On utilise souvent de l'acide sulfurique et l'acide trifluoroacétique (TFA). Pour l'acide sulfurique peut être difficile à éliminer, il peut donc provoquer des interférences avec certaines analyses. Par contre le TFA est volatile donc facilement retiré avant l'analyse ultérieure (Cui, 2005).

❖ La méthanolyse

Une autre méthode alternative à l'hydrolyse est la méthanolyse avec moins de dégradation de monosaccharides et bonne performance de clivage des liaisons. Elle permet une dépolymérisation des PS par méthanolyse acide (méthanol-HCL anhydre) (Costa et al., 2012). La méthanolyse anhydre permet la libération des monosaccharides par clivage des liaisons glycosidiques libérant ainsi les O-méthyl glycosides qui sont plus stables que les monosaccharides libres (Bohin et al., 2005). Pendant la méthanolyse des PS, les

monosaccharides neutres ou acides sont libérés et transformés en méthylglycosides, tandis que les groupes carboxyle d'acides uroniques sont convertis en méthyle ester (Willför et al., 2009).

B) La chromatographie gazeuse

La CG est une méthode très convenable pour l'analyse des mélanges complexes notamment dans la détermination des monosaccharides en raison de sa haute résolution, sa haute sensibilité et sa facilité du couplage aux autres détecteurs, telle que la SM qui fournit souvent des informations structurelles complètes. La CG/SM est donc une excellente technique pour l'analyse des glucides (Li, Wu, Lv, & Zhao, 2013).

La CG concerne les composés volatiles. Les monosaccharides essentiellement ceux qui sont issus des végétaux sont peut volatiles, nécessitent donc une dérivatisation, surtout comme alditols-acétates (**figure 24**), pour augmenter leurs volatilité (Sparkman, Penton, & Kitson, 2011). Cependant, la transformation chimique de ces monosaccharides en dérivés nécessaires peut améliorer les propriétés chromatographiques et la caractérisation de l'analyte (Yi Chen, Xie, Wang, Nie, & Li, 2009).

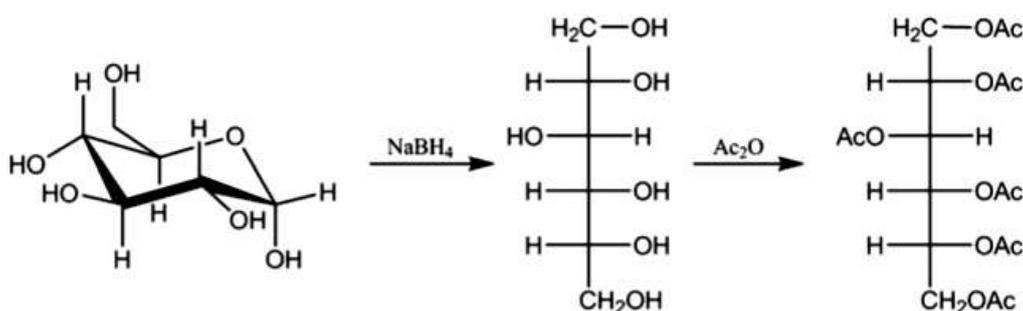


Figure 24 : Formation des alditols acétates (Moldoveanu & David, 2015).

C) La chromatographie liquide de haute performance

La HPLC est une technique chromatographique importante pour l'analyse qualitative et quantitative des glucides qui est largement utilisée dans l'analyse de la composition des monosaccharides acides, neutres et basiques (Guo et al., 2019).

Elle adapte différents modes de séparation des glucides : phase normale (interaction hydrophile), échange d'ions, phase inversée et adsorption (sur colonnes poreuses). L'HPAEC utilise une résine pelliculaire à base de polymère, équilibrée par une phase mobile alcaline. Souvent combinée avec un détecteur ampérométrique pulsé (PAD). C'est une méthode

capable de fournir directement des informations sur la composition monosaccharidique (Behan & Smith, 2011).

D) La détermination de la configuration D ou L

Une autre approche d'analyse des monosaccharides est la détermination de la configuration absolue (D ou L) en utilisant la CGL. Le principe de séparation des énantiomères par CGL peut se faire directement sur phase stationnaire chirale ou par conversion des énantiomères en diastérisomères en utilisant un réactif chiral sur phase stationnaire non chirale (Kamerling & Gerwig, 2007).

IV.1.2. Analyse des liaisons glycosidiques

Souvent, les activités biologiques des PS dépendent fortement de la position et la configuration de leurs liaisons glycosidiques. L'analyse de position des liaisons glycosidiques peut se faire par spectroscopie RMN, par méthylation et digestion enzymatique (Guan & Li, 2007).

A) La perméthylation

La perméthylation est souvent utilisée pour évaluer la position des liaisons glycosidiques entre les monosaccharides. Cette analyse implique d'abord une perméthylation des PS et leur hydrolyse en monomères (**figure 25**) qui seront ensuite analysés par CG-SM. La combinaison entre ces deux méthodes donne souvent des informations sur la composition des chaînes principales et ramifiées (Nie, Cui, & Xie, 2017).

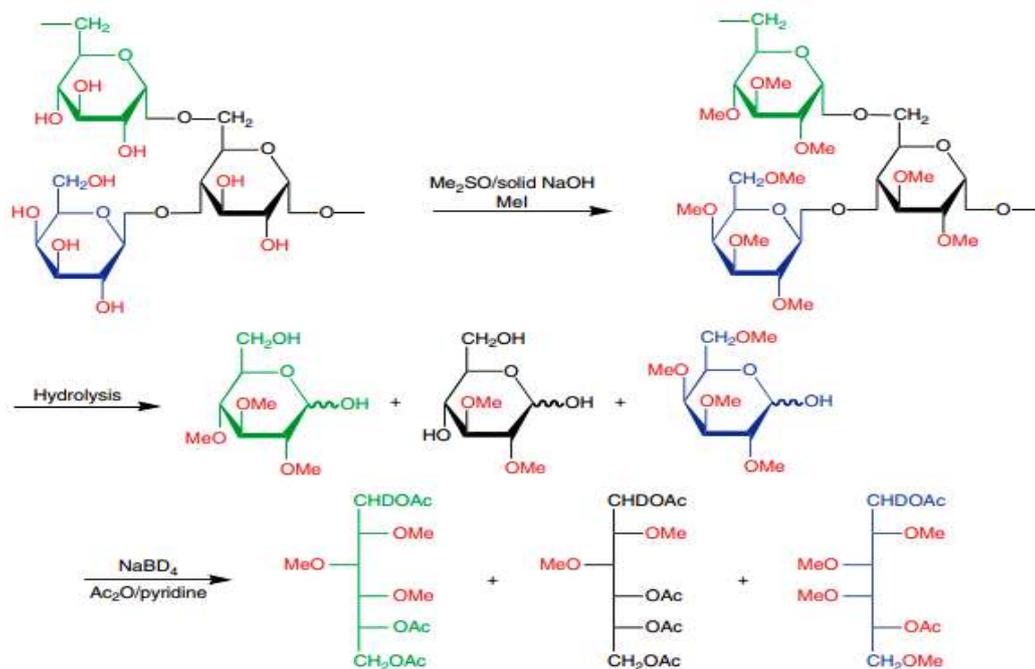


Figure 25 : Schéma représentatif de la réaction de perméthylation (Kamerling & Gerwig, 2007).

B) La résonance magnétique nucléaire

La RMN est la technique la plus puissante dans la caractérisation structurale des PS. Elle permet de déterminer la structure, la position et les séquences des liaisons glycosidiques. L'anomérisation α et β est aussi déterminée par cette technique (Wu et al., 2018; M. Zhang, Cui, Cheung, & Wang, 2007).

La plupart des PS ont des résidus chargés ce qui fait augmenter leurs solubilités dans l'eau et certains solvants tels que le diméthylsulfoxyde (DMSO). Cependant, la RMN en solution est très efficace dans l'analyse structurale de ces polymères (Bubb, 2003).

IV.2. Caractérisation physique

IV.2.1. Détermination du poids moléculaire

Le poids moléculaire est un facteur important pour les PS. Il représente leurs spécificités moléculaires et leurs caractéristiques physico-chimiques et qui rentre en corrélation avec leur activités biologiques (C. Zhang et al., 2019).

Les PS sont poly-disperses en poids moléculaire. De nombreuses méthodes telles que la CES, la méthode de pression osmotique (osmométrie), la méthode de diffusion de lumière (DL) sont utilisées pour déterminer le poids moléculaire des PS. Cependant, la CES est la méthode chromatographique la plus utile pour étudier la distribution de la masse molaire des PS. Elle est souvent couplée à un détecteur réfractométrique (He et al., 2018).

La chromatographie d'exclusion stérique de haute performance associée à un laser multi-angle de diffusion de lumière (HPSEC-MADL) est une technique très efficace dans l'étude des caractéristiques moléculaire des polymères. Elle est basée sur la diffusion des particules. Les molécules avec grosses particules ont une grande capacité de diffusion (W. Liu et al., 2016; Wu et al., 2014).

IV.2.2 Etude des propriétés rhéologiques

La rhéologie se définit comme étant la science de déformation et d'écoulement de la matière. Elle étudie les manières dont les matériaux répondent aux contraintes ou déformations appliquées (Ronda, Pérez-Quirce, & Villanueva, 2017).

Les fonctionnalités des PS peuvent être liées à leurs propriétés rhéologiques et à leur structure. Cependant, les propriétés rhéologiques sont très importantes pour l'extraction, la purification, la stabilité et développement de ces polymères. Chez les PS végétaux, le fort caractère d'hydrophilicité et viscosité peuvent modifier leurs structures rhéologiques du système fluide (Ronda et al., 2017; H. Zeng et al., 2015).

A) Détermination de la viscosité

Par définition, la viscosité est une résistance du fluide à l'écoulement. C'est est un paramètre rhéologique fondamental des solutions de macromolécules (Bae, Oh, Lee, Yoo, & Lee, 2008).

La viscosité d'une solution de polymères est liée à la taille relative et à la forme de ces macromolécules. Les PS sont des polymères présentant à la fois des caractéristiques visqueuses et élastiques lorsqu'ils sont dissous dans des solvants aqueux formant ainsi des solutions viscoélastiques (L. Wang, Wu, Li, Qiao, & Di, 2018).

La viscosimétrie est l'une des méthodes les plus utilisées dans la détermination du poids moléculaire des PS en raison de son instrumentation simple et minimale. C'est une opération aussi simple avec une interprétation directe. La viscosité de la solution des PS diluée est mesurée couramment par un viscosimètre (L. Wang et al., 2018).

D'après Bae et al. (2008), la viscosité intrinsèque est un moyen pratique pour déterminer le poids moléculaire des polymères essentiellement les PS comme suggéré par la relation de MARK- Houwink :

$$[\eta] = KM^a$$

η : Viscosité intrinsèque.

M : Poids moléculaire.

K et a sont des coefficients.

Ces différentes méthodes de caractérisation sont illustrées dans le tableau ci-dessous.

Tableau III: Les méthodes de caractérisation des PS.

Les caractéristiques déterminées	Les méthodes
Détermination et distribution du poids moléculaire	HPCPG, pression osmotique, DL, viscosémitrie
Analyse de la composition en monosaccharides	Hydrolyse acide, HPLC, CG, CG/SM
Analyse des liaisons glycosidiques	Méthylation, CG/SM, CL/SM
Les formes anomériques (α , β)	Hydrolyse acide, spectroscopie infrarouge, résonance magnétique
Position en monosaccharides.	Méthylation, oxydation de Smith, oxydation périodique, CG/SM, résonance magnétique

IV.3. La caractérisation biologique

La diversité structurale, chimique et les propriétés physiques des PS quelle que soit leur origine (animale, végétale ou microbienne) confère à ces molécules de nombreuses activités biologiques et des propriétés pharmacologiques. Actuellement, plusieurs études montrent que les PS possèdent de nombreuses activités biologiques et une variété de fonctions, en particulier des effets sur la fonction immunitaire et des avantages potentiels pour la santé humaine, comprenant l'activité antioxydante, antitumorale, antivirale, neuroprotectrice et immunorégulatrice (P. Wang et al., 2016).

IV.3.1. Activité antioxydante

Certains auteurs ont montré que de nombreux PS végétaux sont considérés comme des antioxydants potentiels, qui jouent un rôle important dans la prévention des dommages oxydatifs induits par le stress oxydatif chez l'organisme vivant.

Lors d'un stress oxydatif, des molécules spécifiques appelées espèces réactives d'oxygène (ERO) sont générées, tels que les radicaux libres. Ces molécules sont impliquées dans différentes pathologie comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, la polyarthrite rhumatoïde, l'athérosclérose et dans les processus dégénératifs associés au vieillissement.

L'évaluation de l'activité antioxydant des PS est déterminée par plusieurs tests tels que 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS), l'analyse de la puissance du radicale antioxydant et de réduction de la ferrique (FRAP) (García-Vaquero, Rajauria, O'doherty, & Sweeney, 2017).

Le pourcentage d'inhibition de DPPH est calculé par l'équation suivante (Bandonienè, Murkovic, Pfannhauser, Venskutonis, & Gruzdienè, 2002) :

$$\% \text{ d'inhibition} = A_0 - A_1 / A_0 \times 100$$

A_0 est l'absorption du contrôle à $t=0$.

A_1 est l'absorption de la solution de la réaction.

Le pourcentage de réduction du radicale ABTS•+ a été calculé par la formule ci-dessous (Athmouni, Belhaj, El Feki, & Ayadi, 2018):

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

A_{control} est l'absorption de la réaction de contrôle.

A_{test} est l'absorption de l'extrait de la réaction.

L'activité antioxydante des PS dépend de plusieurs paramètres, le type et la position des groupes fonctionnels, le type de saccharide ainsi que des branchements glycosidiques (S. K. Chen, Tsai, Huang, & Chen, 2009).

IV.3.2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réaction de défense contre diverses agressions externes ou des lésions cellulaires qui induisent la libération des médiateurs du système immunitaire au site de l'inflammation (Espinoza et al., 2019); elle est considérée comme un facteur de risque permettant de développer ou d'aggraver de nombreuses maladies (S.-J. Wang et al., 2019). Cette réaction fait appel aux anti-inflammatoires comme traitement, qui agissent d'une façon purement symptomatique (Muster, 2005).

Ces dernières années, la recherche des PS bioactifs est devenue un point d'intérêt en raison de leurs propriétés pharmacologiques intéressantes dont l'activité anti-inflammatoire, qui joue un rôle important dans l'inhibition de l'expression des chémokines, et l'activité enzymatique dans la réaction inflammatoire (Yu, Shen, Song, & Xie, 2018).

Selon Lee et al. (2006), les PS acides possèdent un effet inhibiteur contre l'adhérence des agents pathogènes microbiens aux cellules cibles telles que les cellules épithéliales gastriques, sans entraîner d'effets indésirables sur les bactéries bénéfiques et commensales. Des polysaccharides extraits de (*Morindacitrifolia* Linn) ont montré une efficacité anti-inflammatoire potentielle en réduisant la migration de leucocytes au site d'inflammation et inhibé la production des cytokines pro-inflammatoire (Sousa et al., 2018).

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire est réalisée en deux parties, soit *in vivo* ou *in vitro*.

❖ L'activité anti-inflammatoire *in vivo*

Le test d'inflammation aigue de la patte induite par les carraghénanes chez les souris repose sur l'injection de la solution de carraghénane sous l'aponévrose de la patte de la souris, cela provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

On peut aussi mentionner le test d'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris. Son principe repose sur l'initiation d'œdème de l'oreille par l'injection de xylène sur la surface externe et interne de l'oreille de chaque souris, la différence de l'épaisseur de l'oreille est calculé avant et après l'application du xylène (Rotelli, Guardia, Juárez, De la Rocha, & Pelzer, 2003).

D'après Ndiaye, Sy, Dièye, Touré, and Faye (2006), l'activité anti-inflammatoire est exprimée par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\% \text{ AUG témoin} - \% \text{ AUG traité}) \times 100 / \% \text{ AUG}$$

% AUG est le pourcentage d'augmentation du volume de la patte, calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ AUG} = (\text{Volume de la patte au temps } t - \text{volume initial } V_0) \times 100 / \text{Volume initial } (V_0)$$

❖ L'activité *in vitro*

Le test d'inhibition de la dénaturation des protéines qui est basé sur la capacité de l'extrait polysaccharidique à empêcher la dénaturation thermique des protéines. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines (% inhibition) est calculé par la formule suivante (Chandra, Chatterjee, Dey, & Bhattacharya, 2012) :

$$\% \text{ d'inhibition} = (1 - V_c / V_t) \times 100$$

V_t est l'absorption de l'échantillon.

V_c est l'absorbance du contrôle (extrait ou étalon).

IV.3.3. Activité anticancéreuse

Le cancer est un problème majeur de santé publique dans le monde et la deuxième cause de décès après celle des maladies cardiovasculaires. La chirurgie, la chimiothérapie sont habituellement les traitements principaux pour traiter le cancer. Actuellement, plusieurs études ont montré l'efficacité des médicaments anticancéreux extraits à partir des ressources naturelles en raison de leurs effets secondaires minimes (Xie et al., 2013).

Les PS montrent un effet anticancéreux contre les cellules tumorales en induisant une prolifération plus élevée des lymphocytes et ils sont utilisés comme un médicament anti-tumorale naturel (Wei, Mao, Cai, & Wang, 2011).

C. Liu et al. (2006) ont signalés que les macrophages présentent une excellente cible pour l'immunothérapie des tumeurs, et que l'acemannane, en tant qu'un modificateur d'une réponse biologique de nature polysaccharidique et un puissant stimulateur cellulaire, pourrait améliorer la reconnaissance de l'antigène en induisant la cytotoxicité dans les cellules péritonéales murines.

En outre, l'activité anticancéreuse du PS dépend du poids moléculaire, de la composition en monosaccharide et la conformation des chaînes, permettant ainsi d'améliorer l'activité anti-tumorale par l'augmentation de liaisons avec les récepteurs sur les cellules immunitaires (X. Chen, Xu, Zhang, & Zeng, 2009).

Xie et al. (2013) ont démontré que les PS issus du (*Cyclocarya paliurus*) (CPP) possèdent un effet anticancéreux sur la croissance des cellules HELA du cancer gastrique humain. L'effet d'inhibition du CPP sur la croissance de ces cellules cancéreuses a été déterminé *in vitro* par le test de bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl) -2,5-diphényltétrazolium (MTT).

IV.3. 4. Activité prébiotique

La notion des molécules prébiotiques a été définie pour la première fois en 1995 par Gibson et Roberfroid. Ces molécules sont définies comme des ingrédients alimentaires non digestibles qui stimulent de manière sélective au niveau de l'intestin grêle la multiplication ou l'activité d'un nombre limité de groupes bactériens susceptibles d'améliorer la physiologie de l'hôte, ils sont fermentés par le microbiote de l'intestin (Saad, Delattre, Urdaci, Schmitter, & Bressollier, 2013) Le microbiote intestinal est un écosystème dynamique et complexe, qui correspond à un ensemble de bactéries présentes le long du tube digestif, dont la composition totale est variable au cours du temps. Cette population microbienne vit en symbiose avec son hôte. Il a été dévoilé que ces microbiotes jouent plusieurs rôles dans la physiologie intestinale mais aussi dans la santé de l'hôte, tel que la maturation du système, la production des vitamines, la digestion des PS végétaux (**figure 27**) (Bourlioux, 2014).

Les groupes bactériens concernés sont essentiellement les *bifidobactéries* et les *lactobacilles* (Cummings & Macfarlane, 2002).

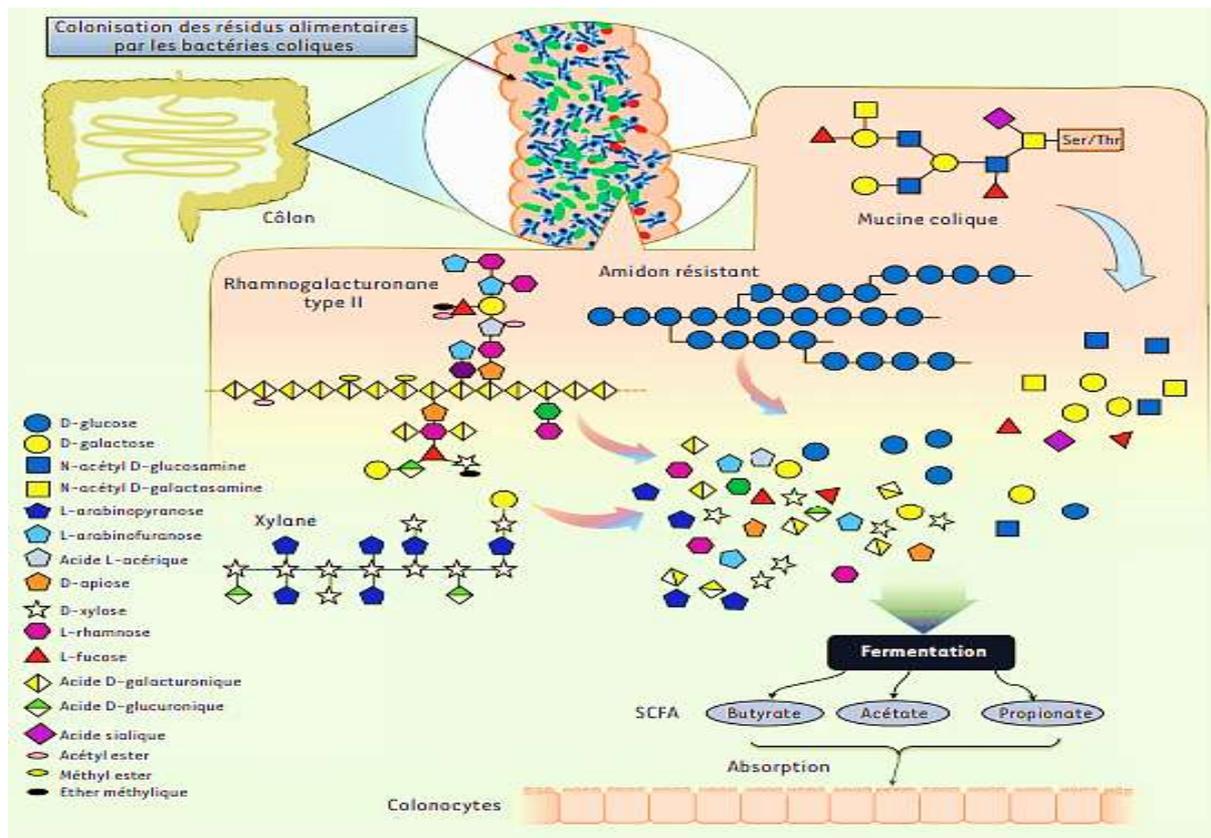


Figure 27 : Le mécanisme de digestion des PS par le microbiote intestinal (Bourlioux, 2014).

Selon Laparra and Sanz (2010), les prébiotiques présentent plusieurs effets bénéfiques pour la santé, ils permettent:

- L'amélioration du transit intestinal ;
- Un effet protecteur contre diverses maladies comme l'athérosclérose, le cancer, l'obésité, le diabète ;
- Ils peuvent modifier la composition de la flore intestinale ainsi que les métabolites.

Selon Laparra and Sanz (2010), trois critères sont nécessaires pour mesurer l'efficacité d'un prébiotique :

- La résistance à l'acidité de l'estomac et aux activités enzymatiques du système digestif ;
- La possibilité d'être fermenté par les micro-organismes de la flore intestinale ;
- La stimulation de la croissance des bactéries bénéfiques au niveau de l'intestin.

Ces critères sont prouvés par des tests microbiologiques, ou par des tests *in vitro* qui nécessitent la transition vers des tests *in vivo* afin qu'un ingrédient alimentaire soit validé comme prébiotique. L'étude primaire du potentiel prébiotique d'un PS passe par un test de

digestibilité *in vitro* afin de vérifier la résistance du PS aux conditions gastriques, en présence d'un PS, principalement l'inuline et le fructo-oligosaccharide (FOS) sont utilisés comme référence. La majorité des prébiotiques sont des oligosaccharides. L'inuline et les transgalacto-oligosaccharides (TOS) sont deux ingrédients alimentaires les plus utilisés (Roberfroid, 2007).

Bornet, Brouns, Tashiro, and Duvillier (2002) décrivent les FOS à courte chaîne comme prébiotiques avec différents effets positifs qui sont attribués à la faible valeur calorique, la modulation de la flore intestinale, l'amélioration de la motilité intestinale, la stimulation de l'absorption des minéraux ainsi que la prévention des infections intestinales.

Le xylooligosaccharide (XOS) est le produit d'hydrolyse du xylan, est avéré de très bonnes propriétés pour les bactéries commensales intestinales comme substrat. Les acides gras à chaîne courte, produite par sa fermentation améliorent la santé épithéliale intestinale et régulent le processus métabolique (Singh, Banerjee, & Arora, 2015).

En tant qu'ingrédient alimentaire fonctionnelle, les XOS provoquent des effets bénéfiques par sa capacité d'améliorer la croissance bactérienne (*bifidobactéries* et *lactobacilles*), la fermentation et l'amélioration de la croissance intestinale, l'absorption des minéraux, possèdent également des effets antioxydant, antiallergique, antimicrobien, immunomodulateur, anti-cancérigène ainsi que l'activité antitoxique (Moure, Gullón, Domínguez, & Parajó, 2006).

Conclusion

Le travail présenté dans ce contexte est porté sur l'étude des polysaccharides issus du règne végétal. Son objectif est focalisé sur les différentes méthodes d'extraction, de purification, de caractérisation structurale et physicochimique, ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques.

Les polysaccharides végétaux appartiennent à une classe structurellement diversifiée de macromolécules, constitués de longues chaînes linéaires ou ramifiées de monosaccharides, liées entre elles par des liaisons glycosidiques. Ils peuvent être classés en homopolysaccharides ou hétéropolysaccharides selon leurs unités de construction, ou selon le rôle qu'ils exercent comme réserve énergétique ou structurel, utilisés dans nombreuses industries notamment en cosmétiques, en produits pharmaceutiques, en médecine, en agroalimentaires et dans le textile.

Dans ce travail, plusieurs techniques d'isolement des polysaccharides végétaux ont été développées. L'extraction à l'eau est la méthode traditionnelle la plus couramment utilisée en laboratoire et applications industriels en raison de sa nature économique et son utilisation pratique. Des techniques innovantes telles que l'extraction assistée par micro-ondes, par fluides supercritique et aux ultrasons ont été utilisées afin d'améliorer les procédés d'extraction.

La purification constitue une étape très importante après le procédé d'isolement. Les techniques chromatographiques telles que la chromatographie de perméation sur gel d'échange d'anion et la technique de précipitation fractionnée à l'éthanol sont les plus utilisées dans la séparation des polysaccharides des autres impuretés en raison de leurs effets d'épuration.

La caractérisation de ces macromolécules permet d'identifier leurs caractéristiques structurales, physicochimiques et leurs propriétés biologiques notamment l'activité antioxydant, anti inflammatoire, anticancéreuse et l'effet prébiotique, qui sont bénéfiques pour la santé humaine. On outre, ces caractéristiques structurales telles que la composition en monosaccharides, le type de liaisons glycosidiques et les propriétés physicochimiques comme la rhéologie et le poids moléculaire, ont une influence sur ces activités biologiques.

Perspectives

Il est souhaitable d'optimiser les conditions d'extraction à savoir, la température, le temps d'extraction et le ratio solide-liquide à fin d'augmenter le rendement en polysaccharides végétaux.

Une étape de purification devrait précéder l'analyse pour ne pas influencer les résultats.

Pour mieux connaître les activités biologiques, il est souhaitable de refaire les tests avec différentes dilutions pour identifier la cinétique et/ou la dose optimale pour un effet biologique précis.

Malgré les recherches avancées sur les polysaccharides, les études restent encore insuffisantes en comparant leurs grands nombres. Il sera donc intéressant d'identifier et de caractériser de nouvelles activités biologiques des polysaccharides en particulier ceux d'origine botanique afin d'augmenter leur exploitation dans différents domaines notamment en médecine et l'agroalimentaire comme remèdes naturelles.

Résumé

Les plantes sont considérées comme source potentielle de nombreuses molécules bioactives ayant des activités biologiques intéressantes. Parmi ces principes actifs on trouve les polysaccharides qui font l'objectif de notre étude. Les polysaccharides végétaux sont des macromolécules largement répandus dans la nature, représentant un groupe diversifié de glucides avec une structure complexe. Ils peuvent être classés selon la structure ou selon le rôle biologique qu'ils exercent. Plusieurs méthodes peuvent être appliquées pour leur l'extraction et purification dont le choix de la méthode adéquate est basé sur les propriétés et les caractéristiques de ces composés. Ces substances ont montré de nombreux avantages potentiels pour la santé humaine grâce à l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, prébiotique et anticancéreuse qui justifie leur large exploitation en médecine et en produits pharmaceutiques. Ces bioactivités sont corrélées avec leur composition physicochimique.

Mots clés : Les polysaccharides, extraction, purification, caractérisation, activités biologiques.

Summary

Plants are considered to be a potential source of numerous molecules with interesting biological activities. Among these active ingredients we find polysaccharides which are the focus of our study. Plants polysaccharides are widely responded macromolecules in nature, representing a diverse group of carbohydrates with a complex structure. They can be classified according to the structure or according to biological role they perform. Several methods can be applied in isolation especially in purification, whose choice of appropriate method is based on properties and characteristics of these compounds. These substances have shown many potential benefits for human health thanks to their antioxidant, anti-inflammatory, prebiotic and anticancer activity which justifies their wide use in medicine and pharmaceutical products.

Keywords: Polysaccharides, extraction, purification, characterization, biological activities.

ملخص

تعتبر النباتات مصدرا هاما للعديد من الجزيئات الفعالة بيولوجيا ذات أنشطة حيوية مثيرة للاهتمام. من بينها نجد السكريات المتعددة التي تمثل محور دراستنا. السكريات المتعددة ذات مصدر نباتي موزعة على نطاق واسع في الطبيعة. إنها جزيئات كبيرة ذات بنية معقدة مكونة أساسا من الكربوهيدرات. تصنيفها يكون إما حسب البنية أو حسب الدور البيولوجي الذي تلعبه. أما استخلاصها و تنقيتها يكون باستخدام طرق عديدة و يعتمد اختيار الطريقة المناسبة على خصائص هذه الجزيئات. قد أظهرت هذه المواد فوائد عديدة لصحة الإنسان بفضل فعالية مضادات الأكسدة مضادات الالتهاب البريبايوتيك ومضادات السرطان ما يبرر استخدامها الواسع في مجال الطب و المستحضرات الصيدلانية. ترتبط هذه الأنشطة الحيوية بتركيباتها الفيزيائية و الكيميائية.

Agzul

Imyan ttunehsaben am uybalu anezmar n waṭas n tqeclawin yes3an irmad tudersiyin s wazal n sent. Gar imenzayen urmiden-a ad naf skar uddis d netta i d iswi n tezrawt-nnay. Skar uddis yettilin deg imyan d isentalen imeqranen yettenfufuden deg ugama, sebganen-d agarw n skar yettemgaraden n waygar-nsen s tyessa tuddist. Zemren ad ttwasenfen ar lahsab n tyessa nay tawuri tadersant-nsen. Aṭas n tarayin ig zemren ad ttwasxedment di tuksa nay deg usizdeg n skar-agi anda axtiri n tarrayt ig wulmen yettili ar lahsab n waylan d tulmisiin n uddisen-agi. Tumasin-a seknent-d xilla n yibayuren i tdawsa talsit s warmud amgel zenzan, amgel xancar, “bribiyotik”, amgel yir aṭṭan , yaf anecta i ttwasxedmen atas di tujya d ifuras n tenssufart. Skar-agi uddis icud ar usuddes “fizikocimik”.

Les références bibliographiques



- Acikara, Ö. B. (2013). Ion exchange chromatography and its applications. *Column chromatography*, 10, 557-44.
- Agarwal, U. P. (2006). Raman imaging to investigate ultrastructure and composition of plant cell walls: distribution of lignin and cellulose in black spruce wood (*Picea mariana*). *Planta*, 224(5), 1141.
- Al-Dhabi, N. A., & Ponmurugan, K. (2020). Microwave assisted extraction and characterization of polysaccharide from waste jamun fruit seeds. *International journal of biological macromolecules*, 152, 1157-1163.
- Ardrey, R. E. (2003). *Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction* (Vol. 2): John Wiley & Sons.
- Askin, R., Sasaki, M., & Goto, M. (2007). *Sub-and Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds from Ganoderma lucidum*. Paper presented at the Proc of Int Symposium on Eco Topia Science.
- Athmouni, K., Belhaj, D., El Feki, A., & Ayadi, H. (2018). Optimization, antioxidant properties and GC–MS analysis of *Periploca angustifolia* polysaccharides and chelation therapy on cadmium-induced toxicity in human HepG2 cells line and rat liver. *International journal of biological macromolecules*, 108, 853-862.
- Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., . . . Omar, A. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Bae, I. Y., Oh, I.-K., Lee, S., Yoo, S.-H., & Lee, H. G. (2008). Rheological characterization of levan polysaccharides from *Microbacterium laevaniformans*. *International journal of biological macromolecules*, 42(1), 10-13.
- Bandonienė, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P., & Gruzdienė, D. (2002). Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and on-line HPLC-DPPH methods. *European Food Research and Technology*, 214(2), 143-147.
- Barclay, T. G., Day, C. M., Petrovsky, N., & Garg, S. (2019). Review of polysaccharide particle-based functional drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 221, 94-112.
- Behan, J. L., & Smith, K. D. (2011). The analysis of glycosylation: a continued need for high pH anion exchange chromatography. *Biomedical Chromatography*, 25(1-2), 39-46.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (2009). *Starch: chemistry and technology*: Academic Press.
- Bisulca, C., Odegaard, N., & Zimmt, W. (2016). Testing for Gums, Starches, and Mucilages in Artifacts with O-toluidine. *Journal of the American Institute for Conservation*, 55(4), 217-227.

- Bohin, A., Bouchart, F., Richet, C., Kol, O., Leroy, Y., Timmerman, P., . . . Zanetta, J.-P. (2005). GC/MS identification and quantification of constituents of bacterial lipids and glycoconjugates obtained after methanolysis as heptafluorobutyrate derivatives. *Analytical Biochemistry*, 340(2), 231-244.
- Bornet, F., Brouns, F., Tashiro, Y., & Duvillier, V. (2002). Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digestive and liver disease*, 34, S111-S120.
- Bourlioux, P. (2014). *Actualité du microbiote intestinal*. Paper presented at the Annales pharmaceutiques françaises.
- Bubb, W. A. (2003). NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: Characterizing the structural complexity. *Concepts in Magnetic Resonance Part A: An Educational Journal*, 19(1), 1-19.
- Buchmeiser, M. R. (2006). *Polymeric materials in organic synthesis and catalysis*: John Wiley & Sons.
- Cao, X., Liu, R., Liu, J., Huo, Y., Yang, W., Zeng, M., & Yang, C. (2013). A novel polysaccharide from *Lentinus edodes* mycelia exhibits potential antitumor activity on laryngeal squamous cancer cell line Hep-2. *Applied biochemistry and biotechnology*, 171(6), 1444-1453.
- Chadni, M., Bals, O., Ziegler-Devin, I., Brosse, N., & Grimi, N. (2019). Microwave-assisted extraction of high-molecular-weight hemicelluloses from spruce wood. *Comptes Rendus Chimie*, 22(8), 574-584.
- Chavez Montes, R. A. (2008). *Caractérisation de mutants et transformants d'alpha-L-arabinofuranosidase chez Arabidopsis thaliana*. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Chemat, F., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4), 813-835.
- Chemat, S. (2005). *Contribution à l'étude de l'extraction de la carvone et du limonène à partir des graines de carvi selon des procédés conventionnels, ultrasons et chauffage micro-ondes: Application à l'extraction de polluants organiques de type PCBs et à l'oxydation des acides humiques*.
- Chen, G., Fang, C., Ran, C., Tan, Y., Yu, Q., & Kan, J. (2019). Comparison of different extraction methods for polysaccharides from bamboo shoots (*Chimonobambusa quadrangularis*) processing by-products. *International journal of biological macromolecules*, 130, 903-914.

- Chen, J., Li, J., Sun, A.-d., Zhang, B.-l., Qin, S.-g., & Zhang, Y.-q. (2014). Supercritical CO₂ extraction and pre-column derivatization of polysaccharides from *Artemisia sphaerocephala* Krasch. seeds via gas chromatography. *Industrial Crops and Products*, *60*, 138-143.
- Chen, S. K., Tsai, M. L., Huang, J. R., & Chen, R. H. (2009). In vitro antioxidant activities of low-molecular-weight polysaccharides with various functional groups. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(7), 2699-2704.
- Chen, X., Xu, X., Zhang, L., & Zeng, F. (2009). Chain conformation and anti-tumor activities of phosphorylated (1→3)-β-d-glucan from *Poria cocos*. *Carbohydrate Polymers*, *78*(3), 581-587.
- Chen, Y., Jiang, X., Xie, H., Li, X., & Shi, L. (2018). Structural characterization and antitumor activity of a polysaccharide from *Ramulus mori*. *Carbohydrate Polymers*, *190*, 232-239.
- Chen, Y., Xie, M. Y., Wang, Y. X., Nie, S. P., & Li, C. (2009). Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, *20*(6), 503-510.
- Cheng, Z., Song, H., Yang, Y., Liu, Y., Liu, Z., Hu, H., & Zhang, Y. (2015). Optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of polysaccharides from the fruit of *Schisandra chinensis* Baill. *International journal of biological macromolecules*, *76*, 161-168.
- Chollet, G., Gadenne, B., Alfos, C., & Cramail, H. (2012). Les lipides: une matière première alternative pour la synthèse de polymères de spécialités. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, *19*(1), 39-50.
- Christiaens, S., Van Buggenhout, S., Houben, K., Jamsazzadeh Kermani, Z., Moelants, K. R., Nguemazong, E. D., . . . Hendrickx, M. E. (2016). Process–structure–function relations of pectin in food. *Critical reviews in food science and nutrition*, *56*(6), 1021-1042.
- Combo, A. M. M., Aguedo, M., & Paquot, M. (2011). Les oligosaccharides pectiques: production et applications possibles. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, *15*(1), 153-164.
- Coskun, O. (2016). Separation techniques: chromatography. *Northern clinics of Istanbul*, *3*(2), 156.
- Costa, C., Alves, A., Pinto, P. R., Sousa, R. A., da Silva, E. A. B., Reis, R. L., & Rodrigues, A. E. (2012). Characterization of ulvan extracts to assess the effect of different steps in the extraction procedure. *Carbohydrate Polymers*, *88*(2), 537-546.

- Cui, S. W. (2005). *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*: CRC press.
- Cummings, J. H., & Macfarlane, G. T. (2002). Gastrointestinal effects of prebiotics. *British journal of nutrition*, 87(S2), S145-S151.
- Cummins, P. M., Rochfort, K. D., & O'Connor, B. F. (2017). Ion-exchange chromatography: basic principles and application *Protein Chromatography* (pp. 209-223): Springer.
- d'Ayala, G. G., Malinconico, M., & Laurienzo, P. (2008). Marine derived polysaccharides for biomedical applications: chemical modification approaches. *Molecules*, 13(9), 2069-2106.
- Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(4), 1076-1080.
- Da Silva, R. P., Rocha-Santos, T. A., & Duarte, A. C. (2016). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 40-51.
- Daneshvand, B., Ara, K. M., & Raofie, F. (2012). Comparison of supercritical fluid extraction and ultrasound-assisted extraction of fatty acids from quince (*Cydonia oblonga* Miller) seed using response surface methodology and central composite design. *Journal of Chromatography A*, 1252, 1-7.
- Drosou, C., Kyriakopoulou, K., Bimpilas, A., Tsimogiannis, D., & Krokida, M. (2015). A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. *Industrial Crops and Products*, 75, 141-149.
- Espinoza, L. C., Silva-Abreu, M., Calpena, A. C., Rodríguez-Lagunas, M. J., Fábrega, M.-J., Garduño-Ramírez, M. L., & Clares, B. (2019). Nanoemulsion strategy of pioglitazone for the treatment of skin inflammatory diseases. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 19, 115-125.
- Ettre, L. (2000). Chromatography: The separation technique of the 20th century. *Chromatographia*, 51(1-2), 7.
- Fang, Z., Smith, R. L., & Tian, X.-F. (2019). *Production of Materials from Sustainable Biomass Resources* (Vol. 9): Springer.
- Fernandes, P. A., Le Bourvellec, C., Renard, C. M., Wessel, D. F., Cardoso, S. M., & Coimbra, M. A. (2020). Interactions of arabinan-rich pectic polysaccharides with polyphenols. *Carbohydrate Polymers*, 230, 115644.
- Frassoldati, A., & Ranzi, E. (2019). Modeling of Thermochemical Conversion of Biomasses.

- García-Vaquero, M., Rajauria, G., O'doherty, J., & Sweeney, T. (2017). Polysaccharides from macroalgae: Recent advances, innovative technologies and challenges in extraction and purification. *Food Research International*, *99*, 1011-1020.
- Giridhar, G., Manepalli, R., & Apparao, G. (2017). Size-exclusion chromatography *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization* (pp. 51-65): Elsevier.
- Gorai, M., El Aloui, W., Yang, X., & Neffati, M. (2014). Toward understanding the ecological role of mucilage in seed germination of a desert shrub *Henophyton deserti*: interactive effects of temperature, salinity and osmotic stress. *Plant and Soil*, *374*(1-2), 727-738.
- Gorshkova, T., Kozlova, L., & Mikshina, P. (2013). Spatial structure of plant cell wall polysaccharides and its functional significance. *Biochemistry (Moscow)*, *78*(7), 836-853.
- Graves, C. R., Merlau, M. L., Morris, G. A., Sun, S.-S., Nguyen, S. T., & Hupp, J. T. (2004). Characterization and purification of supramolecular metal complexes using gel-permeation chromatography. *Inorganic chemistry*, *43*(6), 2013-2017.
- Guan, J., & Li, S. (2007). *Quality Control of Polysaccharides from Medicinal Plants and Fungi*: Nova Science Publishers Inc.: New York, NY, USA.
- Guo, N., Bai, Z., Jia, W., Sun, J., Wang, W., Chen, S., & Wang, H. (2019). Quantitative Analysis of Polysaccharide Composition in *Polyporus umbellatus* by HPLC–ESI–TOF–MS. *Molecules*, *24*(14), 2526.
- He, K., Mergens, B., Yacilla, M., Zheng, Q., Bao, Z., Zhang, Y., . . . Xie, Z. (2018). Molecular weight determination of aloe polysaccharides using size exclusion chromatography coupled with multi-angle laser light scattering and refractive index detectors. *Journal of AOAC International*, *101*(6), 1729-1740.
- Hu, D. j., Cheong, K. l., Zhao, J., & Li, S. p. (2013). Chromatography in characterization of polysaccharides from medicinal plants and fungi. *Journal of separation science*, *36*(1), 1-19.
- Hu, H.-B., Liang, H.-P., Li, H.-M., Yuan, R.-N., Sun, J., Zhang, L.-L., . . . Wu, Y. (2018). Isolation, purification, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from the stem barks of *Acanthopanax leucorrhizus*. *Carbohydrate Polymers*, *196*, 359-367.
- Hu, X., & Goff, H. D. (2018). Fractionation of polysaccharides by gradient non-solvent precipitation: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *81*, 108-115.

- Isik, M., Sardon, H., & Mecerreyes, D. (2014). Ionic liquids and cellulose: dissolution, chemical modification and preparation of new cellulosic materials. *International journal of molecular sciences*, *15*(7), 11922-11940.
- Jackson, C. L., Dreaden, T. M., Theobald, L. K., Tran, N. M., Beal, T. L., Eid, M., . . . Kumar, M. V. (2007). Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology*, *17*(8), 805-819.
- Jani, G. K., Shah, D. P., Prajapati, V. D., & Jain, V. C. (2009). Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. *Asian J Pharm Sci*, *4*(5), 309-323.
- Jin, M., Zhao, K., Huang, Q., Xu, C., & Shang, P. (2012). Isolation, structure and bioactivities of the polysaccharides from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels: A review. *Carbohydrate Polymers*, *89*(3), 713-722.
- Kamerling, J., & Gerwig, G. (2007). Strategies for the structural analysis of carbohydrates.
- Kato, N., Nagayoshi, K., Takayama, Y., & Nasuno, E. (2019). Structuring of multiple parallel pectin gel filaments by applied shear. *International journal of biological macromolecules*, *128*, 304-313.
- Kawakami, A., Yoshida, M., & Van den Ende, W. (2005). Molecular cloning and functional analysis of a novel 6&1-FEH from wheat (*Triticum aestivum* L.) preferentially degrading small graminans like bifurcose. *Gene*, *358*, 93-101.
- Kong, F.-L., Zhang, M.-W., Kuang, R.-B., Yu, S.-J., Chi, J.-W., & Wei, Z.-C. (2010). Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from pulp tissue of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *Carbohydrate Polymers*, *81*(3), 612-616.
- Laoufi, M., & Dounit, S. (2013). Modélisation du Transfert de Matière Lors d'une Extraction: Solide-Liquide. *Hawliyyāt al-'Ulūm wa-al-Tiknūlūjiyā*, *281*(1765), 1-22.
- Laparra, J. M., & Sanz, Y. (2010). Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharmacological research*, *61*(3), 219-225.
- Le Floch, A., Jourdes, M., & Teissedre, P.-L. (2015). Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. *Carbohydrate research*, *417*, 94-102.
- Leclere, L., Van Cutsem, P., & Michiels, C. (2013). Anti-cancer activities of pH-or heat-modified pectin. *Frontiers in pharmacology*, *4*, 128.

- Lee, J.-H., Shim, J. S., Lee, J. S., Kim, M.-K., Chung, M.-S., & Kim, K. H. (2006). Pectin-like acidic polysaccharide from *Panax ginseng* with selective antiadhesive activity against pathogenic bacteria. *Carbohydrate research*, *341*(9), 1154-1163.
- Lee, S. (2017). Strategic design of delivery systems for nutraceuticals *Nanotechnology Applications in Food* (pp. 65-86): Elsevier.
- Leonelli, C., & Mason, T. J. (2010). Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *49*(9), 885-900.
- Li, S.-p., Wu, D.-t., Lv, G.-p., & Zhao, J. (2013). Carbohydrates analysis in herbal glycomics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *52*, 155-169.
- Liang, F., Hu, C., He, Z., & Pan, Y. (2014). An arabinogalactan from flowers of *Chrysanthemum morifolium*: structural and bioactivity studies. *Carbohydrate research*, *387*, 37-41.
- Liang, Y., Liu, J., Zhong, Q., Shen, L., Yao, J., Huang, T., & Zhou, T. (2018). Determination of major aromatic constituents in vanilla using an on-line supercritical fluid extraction coupled with supercritical fluid chromatography. *Journal of separation science*, *41*(7), 1600-1609.
- Liu, C., Leung, M., Koon, J., Zhu, L., Hui, Y., Yu, B., & Fung, K. (2006). Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from *Aloe vera* L. var. *chinensis* (Haw.) Berg. *International Immunopharmacology*, *6*(11), 1634-1641.
- Liu, J., Willför, S., & Xu, C. (2015). A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *5*(1), 31-61.
- Liu, W., Liu, Y., Zhu, R., Yu, J., Lu, W., Pan, C., . . . Gao, X. (2016). Structure characterization, chemical and enzymatic degradation, and chain conformation of an acidic polysaccharide from *Lycium barbarum* L. *Carbohydrate Polymers*, *147*, 114-124.
- Liu, Y., & Huang, G. (2019). Extraction and derivatisation of active polysaccharides. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *34*(1), 1690-1696.
- Liu, Y., Sun, Y., & Huang, G. (2018). Preparation and antioxidant activities of important traditional plant polysaccharides. *International journal of biological macromolecules*, *111*, 780-786.
- Lupo, C., Boulos, S., & Nyström, L. (2020). Influence of Partial Acid Hydrolysis on Size, Dispersity, Monosaccharide Composition, and Conformation of Linearly-Branched Water-Soluble Polysaccharides. *Molecules*, *25*(13), 2982.

- Ma, T., Sun, X., Tian, C., Luo, J., Zheng, C., & Zhan, J. (2016). Polysaccharide extraction from *Sphallerocarpus gracilis* roots by response surface methodology. *International journal of biological macromolecules*, 88, 162-170.
- Machmudah, S., Kanda, H., & Goto, M. (2017). Hydrolysis of Biopolymers in Near-Critical and Subcritical Water *Water Extraction of Bioactive Compounds* (pp. 69-107): Elsevier.
- Maran, J. P., & Priya, B. (2014). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel. *International journal of biological macromolecules*, 70, 530-536.
- Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 703-709.
- Marcus, S. E., Blake, A. W., Benians, T. A., Lee, K. J., Poyser, C., Donaldson, L., . . . Boraston, A. (2010). Restricted access of proteins to mannan polysaccharides in intact plant cell walls. *The Plant Journal*, 64(2), 191-203.
- Marinach-Patrice, C., Pionneau, C., & Mazier, D. (2011). Spectrométrie de masse en biologie médicale: principes et applications. *Bio tribune magazine*, 40(1), 4-12.
- Martinez, J. L. (2007). *Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds*: CRC Press.
- McNair, H. M., Miller, J. M., & Snow, N. H. (2019). *Basic gas chromatography*: John Wiley & Sons.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47.
- Mérillon, J.-M. (2015). *Polysaccharides Bioactivity and Biotechnology*: Springer International Publishing Switzerland.
- Mesbahi, G., Jamalian, J., & Farahnaky, A. (2005). A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocolloids*, 19(4), 731-738.
- Messaoudi, M., Rozan, P., Nejdi, A., Hidalgo, S., & Desor, D. (2005). Behavioural and cognitive effects of oligofructose-enriched inulin in rats. *British journal of nutrition*, 93(S1), S27-S30.
- Mirhosseini, H., & Amid, B. T. (2012). A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. *Food Research International*, 46(1), 387-398.

- Mohammad, A. (2013). *Green Chromatographic Techniques: Separation and Purification of Organic and Inorganic Analytes*: Springer Science & Business Media.
- Mohammad, A. K., & Reineke, J. (2012). Quantitative nanoparticle organ disposition by gel permeation chromatography *Nanotoxicity* (pp. 361-367): Springer.
- Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current opinion in plant biology*, 11(3), 266-277.
- Mojsiewicz-Pieńkowska, K. (2014). Size Exclusion Chromatography a Useful Technique For Speciation Analysis of Polydimethylsiloxanes *Green Chromatographic Techniques* (pp. 181-202): Springer.
- Moldoveanu, S., & David, V. (2015). Chapter 11 - Chemical Degradation of Polymers for Chromatographic Analysis. In S. Moldoveanu & V. David (Eds.), *Modern Sample Preparation for Chromatography* (pp. 393-409). Amsterdam: Elsevier.
- Montesanti, N. (2008). *Système modèle de cristallisation de l'amylose A*.
- Moreira, L. (2008). An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. *Applied microbiology and biotechnology*, 79(2), 165.
- Moreira, L. (2016). Insights into the mechanism of enzymatic hydrolysis of xylan. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(12), 5205-5214.
- Moret, S., Conchione, C., Srbinovska, A., & Lucci, P. (2019). Microwave-based technique for fast and reliable extraction of organic contaminants from food, with a special focus on hydrocarbon contaminants. *Foods*, 8(10), 503.
- Moure, A., Gullón, P., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Advances in the manufacture, purification and applications of xylo-oligosaccharides as food additives and nutraceuticals. *Process Biochemistry*, 41(9), 1913-1923.
- Moussa, A. B., Ksibi, H., Tenaud, C., & Baccar, M. (2005). Paramètres géométriques de contrôle de la détente d'un fluide supercritique. *International journal of thermal sciences*, 44(8), 774-786.
- Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*, 1(1), 21-29.
- Naseri-Nosar, M., & Ziora, Z. M. (2018). Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. *Carbohydrate Polymers*, 189, 379-398.
- Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., & Gallo, M. (2019). Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques. *Foods*, 8(7), 245.

- Ndiaye, M., Sy, G., Dièye, A., Touré, M., & Faye, B. (2006). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'annona reticulata (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 15, 179-186.
- Nie, S., Cui, S. W., & Xie, M. (2017). *Bioactive polysaccharides*: Academic Press.
- Nielsen, J. W., Kramhøft, B., Bozonnet, S., Abou Hachem, M., Stipp, S. L. S., Svensson, B., & Willemoës, M. (2012). Degradation of the starch components amylopectin and amylose by barley α -amylase 1: role of surface binding site 2. *Archives of biochemistry and biophysics*, 528(1), 1-6.
- Nielsen, S. S. (2010). Phenol-sulfuric acid method for total carbohydrates *Food analysis laboratory manual* (pp. 47-53): Springer.
- Ó'Fágáin, C., Cummins, P. M., & O'Connor, B. F. (2017). Gel-filtration chromatography *Protein Chromatography* (pp. 15-25): Springer.
- Øbro, J., Borkhardt, B., Harholt, J., Skjøt, M., Willats, W. G., & Ulvskov, P. (2009). Simultaneous in vivo truncation of pectic side chains. *Transgenic research*, 18(6), 961.
- Ochoa-Villarreal, M., Aispuro-Hernández, E., Vargas-Arispuro, I., & Martínez-Téllez, M. Á. (2012). Plant cell wall polymers: function, structure and biological activity of their derivatives. *Polymerization*, 4, 63-86.
- Ortiz-Soto, M. E., Porras-Domínguez, J. R., Seibel, J., & López-Munguía, A. (2019). A close look at the structural features and reaction conditions that modulate the synthesis of low and high molecular weight fructans by levansucrases. *Carbohydrate Polymers*, 219, 130-142.
- Pauly, M., Gille, S., Liu, L., Mansoori, N., de Souza, A., Schultink, A., & Xiong, G. (2013). Hemicellulose biosynthesis. *Planta*, 238(4), 627-642.
- Petit, B., Ritz, M., & Federighi, M. (2002). Nouveaux traitements physiques de conservation des aliments: revue bibliographique. *Revue Méd. Vét*, 153(10), 653-664.
- Pingret de Sousa, D. (2012). *Application des ultrasons aux procédés de transformation des produits agroalimentaires*.
- Qu, C., Yu, S., Jin, H., Wang, J., & Luo, L. (2013). The pretreatment effects on the antioxidant activity of jujube polysaccharides. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 114, 339-343.
- Rebiere, J. (2017). *Nouvelle méthodologie pour la caractérisation de distributions de masses molaires d'échantillons cellulose complexes*. Institut National Polytechnique (Toulouse).

- Ren, B., Chen, C., Li, C., Fu, X., You, L., & Liu, R. H. (2017). Optimization of microwave-assisted extraction of *Sargassum thunbergii* polysaccharides and its antioxidant and hypoglycemic activities. *Carbohydrate Polymers*, *173*, 192-201.
- Ren, Y., Bai, Y., Zhang, Z., Cai, W., & Del Rio Flores, A. (2019). The preparation and structure analysis methods of natural polysaccharides of plants and fungi: A review of recent development. *Molecules*, *24*(17), 3122.
- Ridley, B. L., O'Neill, M. A., & Mohnen, D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, *57*(6), 929-967.
- Roberfroid, M. (2007). Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of nutrition*, *137*(3), 830S-837S.
- Roberts, A. (2018). Cellulose microfibril structure: inspirations from plant diversity. *E&ES*, *130*(1), 012001.
- Ronda, F., Pérez-Quirce, S., & Villanueva, M. (2017). Rheological properties of gluten-free bread doughs: relationship with bread quality *Advances in food rheology and its applications* (pp. 297-334): Elsevier.
- Rongpipi, S., Ye, D., Gomez, E. D., & Gomez, E. W. (2019). Progress and opportunities in the characterization of cellulose—an important regulator of cell wall growth and mechanics. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1894.
- Rotelli, A. E., Guardia, T., Juárez, A. O., De la Rocha, N. E., & Pelzer, L. E. (2003). Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacological research*, *48*(6), 601-606.
- Rozan, P., Nejdi, A., Hidalgo, S., Bisson, J.-F., Desor, D., & Messaoudi, M. (2008). Effects of lifelong intervention with an oligofructose-enriched inulin in rats on general health and lifespan. *British journal of nutrition*, *100*(6), 1192-1199.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.-M., & Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, *50*(1), 1-16.
- Sauceau, M., Fages, J., Common, A., Nikitine, C., & Rodier, E. (2011). New challenges in polymer foaming: A review of extrusion processes assisted by supercritical carbon dioxide. *Progress in Polymer Science*, *36*(6), 749-766.
- Saxena, I. M., & Brown Jr, R. M. (2005). Cellulose biosynthesis: current views and evolving concepts. *Annals of botany*, *96*(1), 9-21.
- Scheller, H. V., Jensen, J. K., Sørensen, S. O., Harholt, J., & Geshi, N. (2007). Biosynthesis of pectin. *Physiologia plantarum*, *129*(2), 283-295.

- Shi, L. (2016). Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International journal of biological macromolecules*, 92, 37-48.
- Singh, R. D., Banerjee, J., & Arora, A. (2015). Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1), 19-30.
- Somerville, C. (2006). Cellulose synthesis in higher plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 22, 53-78.
- Soria, A. C., Brokl, M., Sanz, M. L., & Martínez-Castro, I. (2012). Sample preparation for the determination of carbohydrates in food and beverages.
- Soukoulis, C., Gaiani, C., & Hoffmann, L. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*, 22, 28-42.
- Sousa, S. G., Oliveira, L. A., de Aguiar Magalhães, D., de Brito, T. V., Batista, J. A., Pereira, C. M. C., . . . Vasconcelos, D. F. P. (2018). Chemical structure and anti-inflammatory effect of polysaccharide extracted from *Morinda citrifolia* Linn (Noni). *Carbohydrate Polymers*, 197, 515-523.
- Sparkman, O. D., Penton, Z., & Kitson, F. G. (2011). *Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide*: Academic press.
- Stanton, P. (2004). Gel filtration chromatography *HPLC of Peptides and Proteins* (pp. 55-73): Springer.
- Stick, R. V., & Williams, S. J. (2009). Chapter 9 - Disaccharides, Oligosaccharides and Polysaccharides. In R. V. Stick & S. J. Williams (Eds.), *Carbohydrates: The Essential Molecules of Life (Second Edition)* (pp. 321-341). Oxford: Elsevier.
- Tan, Z.-j., Li, F.-f., Xu, X.-l., & Xing, J.-m. (2012). Simultaneous extraction and purification of aloe polysaccharides and proteins using ionic liquid based aqueous two-phase system coupled with dialysis membrane. *Desalination*, 286, 389-393.
- Thirugnanasambandham, K., Sivakumar, V., & Maran, J. P. (2015). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *International journal of biological macromolecules*, 72, 1-5.
- Tyśkiewicz, K., Konkol, M., & Rój, E. (2018). The application of supercritical fluid extraction in phenolic compounds isolation from natural plant materials. *Molecules*, 23(10), 2625.
- Vereyken, I. J., Van Kuik, J. A., Evers, T. H., Rijken, P. J., & de Kruijff, B. (2003). Structural requirements of the fructan-lipid interaction. *Biophysical journal*, 84(5), 3147-3154.

- Villares, A., Mateo-Vivaracho, L., & Guillamón, E. (2012). Structural features and healthy properties of polysaccharides occurring in mushrooms. *Agriculture*, 2(4), 452-471.
- Vincken, J.-P., Schols, H. A., Oomen, R. J., McCann, M. C., Ulvskov, P., Voragen, A. G., & Visser, R. G. (2003). If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant physiology*, 132(4), 1781-1789.
- Wang, J., Zhang, J., Zhao, B., Wang, X., Wu, Y., & Yao, J. (2010). A comparison study on microwave-assisted extraction of *Potentilla anserina* L. polysaccharides with conventional method: Molecule weight and antioxidant activities evaluation. *Carbohydrate Polymers*, 80(1), 84-93.
- Wang, L., Wu, Y., Li, J., Qiao, H., & Di, L. (2018). Rheological and mucoadhesive properties of polysaccharide from *Bletilla striata* with potential use in pharmaceuticals as bio-adhesive excipient. *International journal of biological macromolecules*, 120, 529-536.
- Wang, M., Jiang, C., Ma, L., Zhang, Z., Cao, L., Liu, J., & Zeng, X. (2013). Preparation, preliminary characterization and immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from the peduncles of *Hovenia dulcis*. *Food Chemistry*, 138(1), 41-47.
- Wang, P., Li, S., Zhou, T., Gan, R., Zhang, P., & Li, H. (2016). Resources and bioactivities of polysaccharides. *Int J Tradit Nat Med*, 6, 1-8.
- Wang, S.-J., Wang, X.-H., Dai, Y.-Y., Ma, M.-H., Rahman, K., Nian, H., & Zhang, H. (2019). *Prunella vulgaris*: A Comprehensive Review of Chemical Constituents, Pharmacological Effects and Clinical Applications. *Current pharmaceutical design*, 25(3), 359-369.
- Wang, Z., Xie, J., Shen, M., Nie, S., & Xie, M. (2018). Sulfated modification of polysaccharides: Synthesis, characterization and bioactivities. *Trends in Food Science & Technology*, 74, 147-157.
- Wei, X., Mao, F., Cai, X., & Wang, Y. (2011). Composition and bioactivity of polysaccharides from tea seeds obtained by water extraction. *International journal of biological macromolecules*, 49(4), 587-590.
- Wertz, J.-L. (2011). L'amidon et le PLA: deux biopolymères sur le marché. *Note de Synthèse*.
- Wicker, L., Kim, Y., Kim, M.-J., Thirkield, B., Lin, Z., & Jung, J. (2014). Pectin as a bioactive polysaccharide—Extracting tailored function from less. *Food Hydrocolloids*, 42, 251-259.
- Willför, S., Pranovich, A., Tamminen, T., Puls, J., Laine, C., Suurnäkki, A., . . . Hemming, J. (2009). Carbohydrate analysis of plant materials with uronic acid-containing polysaccharides—A comparison between different hydrolysis and subsequent chromatographic analytical techniques. *Industrial Crops and Products*, 29(2-3), 571-580.

- Wu, D.-T., Guo, H., Lin, S., Lam, S.-C., Zhao, L., Lin, D.-R., & Qin, W. (2018). Review of the structural characterization, quality evaluation, and industrial application of *Lycium barbarum* polysaccharides. *Trends in Food Science & Technology*, *79*, 171-183.
- Wu, D.-T., Meng, L.-Z., Wang, L.-Y., Lv, G.-P., Cheong, K.-L., Hu, D.-J., . . . Li, S.-P. (2014). Chain conformation and immunomodulatory activity of a hyperbranched polysaccharide from *Cordyceps sinensis*. *Carbohydrate Polymers*, *110*, 405-414.
- Xiaokang, W., Lyng, J. G., Brunton, N. P., Cody, L., Jacquier, J.-C., Harrison, S. M., & Papoutsis, K. (2020). Monitoring the effect of different microwave extraction parameters on the recovery of polyphenols from shiitake mushrooms: Comparison with hot-water and organic-solvent extractions. *Biotechnology Reports*, *27*, e00504.
- Xie, J.-H., Liu, X., Shen, M.-Y., Nie, S.-P., Zhang, H., Li, C., . . . Xie, M.-Y. (2013). Purification, physicochemical characterisation and anticancer activity of a polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves. *Food Chemistry*, *136*(3-4), 1453-1460.
- Xie, J. H., Xie, M. Y., Shen, M. Y., Nie, S. P., Li, C., & Wang, Y. X. (2010). Optimisation of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja using response surface methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(8), 1353-1360.
- Xu, W., Zhang, F., Luo, Y., Ma, L., Kou, X., & Huang, K. (2009). Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*. *Carbohydrate research*, *344*(2), 217-222.
- Yan, J., Shi, S., Wang, H., Liu, R., Li, N., Chen, Y., & Wang, S. (2016). Neutral monosaccharide composition analysis of plant-derived oligo- and polysaccharides by high performance liquid chromatography. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 1273-1280.
- Yang, L., & Zhang, L.-M. (2009). Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*, *76*(3), 349-361.
- Yang, X., Li, A., Li, X., Sun, L., & Guo, Y. (2020). An overview of classifications, properties of food polysaccharides and their links to applications in improving food textures. *Trends in Food Science & Technology*.
- Yi, G., & Zhang, Y. (2012). One-Pot Selective Conversion of Hemicellulose (Xylan) to Xylitol under Mild Conditions. *ChemSusChem*, *5*(8), 1383-1387.

- Yu, Y., Shen, M., Song, Q., & Xie, J. (2018). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate Polymers*, *183*, 91-101.
- Zeng, H., Zhang, Y., Jian, Y., Tian, Y., Miao, S., & Zheng, B. (2015). Rheological properties, molecular distribution, and microstructure of *Fortunella margarita* (Lour.) swingle polysaccharides. *Journal of Food Science*, *80*(4), E742-E749.
- Zeng, P., Li, J., Chen, Y., & Zhang, L. (2019). The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs *Progress in molecular biology and translational science* (Vol. 163, pp. 423-444): Elsevier.
- Zhang, C., Li, Z., Zhang, C.-Y., Li, M., Lee, Y., & Zhang, G.-G. (2019). Extract Methods, Molecular Characteristics, and Bioactivities of Polysaccharide from Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Nutrients*, *11*(5), 1181.
- Zhang, M., Cui, S., Cheung, P., & Wang, Q. (2007). Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science & Technology*, *18*(1), 4-19.
- Zou, P., Yang, X., Huang, W.-W., Zhao, H.-T., Wang, J., Xu, R.-B., . . . Qin, D. (2013). Characterization and bioactivity of polysaccharides obtained from pine cones of *Pinus koraiensis* by graded ethanol precipitation. *Molecules*, *18*(8), 9933-9948.