



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 du diplôme de master

En biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale et valorisation des plantes

Thème

**Extraction purification et
caractérisation des polysaccharides
à base d'*Aloe brevifolia***

Réalisé par :

M^{elle} ZERROUKI Taous

&

M^{elle} LAZRI Aziza

Dirigé par :

Mr. LEFSIH Khalef

Maître de conférences de classe A(UMMTO)

Examiné par :

Mr. LIMANE ABDEL KRIM

Maître de conférences de classe A(UMMTO)

Mr. TITOUCHE YACINE

Maître de conférences de classe A(UMMTO)

Année universitaire : 2023 /2024

Remerciement

*Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier tout d'abord et en premier lieu **ALLAH** tout puissant qui nous a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous remercions notre encadreur **Monsieur Lefsih khalef** qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, d'orienter et d'aider. Merci à sa disponibilité, sa patience, ses conseils pertinents qui ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.*

*Nous remercions les membres de jury **Monsieur Titouche Yacine** et **Monsieur limane Abdelkarim** pour le temps qu'ils vont consacrer à l'examen de ce mémoire.*

*Nous remercions également notre co promotrice **Melle Radja Lydia** et **Monsieur Berkoud Moussa** de nous avoir guidées et pour tous les conseils indispensables et surtout leurs disponibilités permanentes.*

Un Merci spécial pour nos collègues et amis, et à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.



Dédicace

Je dédie ce Modest travail a

La femme la plus courageuse, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur « maman chérie »

Tu m'as donnée la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra pas exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

A mes chers frères "Makhlouf" "Meziane" "Ahmed" "Ahcen" "Hemza"

A mes chères sœurs « Nouria » « Sadjia » « Hayet » « Lila » « Nassima »

Qui m'ont fourni du courage, du soutien, et tous leurs efforts et moyens pour que je termine mes études.

A un être très cher à moi « Omar », a celui qui a été toujours présent, Qui m'a soutenu en toutes circonstances. Ce travail existe grâce à ses encouragements.

A mes copines « Mounia » « Sarah » et « Ouerdia » pour leurs présences et leurs soutiens.

A toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire .

Taous

Dédicace



D'un profond amour je dédie ce mémoire

A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, « Mon Père »

A la femme la plus généreuse, sensible, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard « Ma Mère »

A ma chère sœur « Loudmila » et mon cher frère « Mahfoudh »

Merci de m'avoir soutenue, merci d'avoir toujours été là quand j'en avais besoin. J'espère pouvoir faire de même en retour.

A mon cher époux « Yanis »

Aucun mot ne saurait exprimer mes sentiments les plus profonds envers toi, ton soutien, tes encouragements et tes conseils m'ont permis de réussir mes études. Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de mon amour fidèle et sincère.

A ma grand mere maternelle

A ma deuxième maman, je te dédie ce travail en témoignage de mon amour et mon attachement. Puisse Dieu, le tout puissant te préserve du mal, et te comble de santé et amour.

A mes tantes et oncles maternelles ainsi mes tantes et oncles paternelles.

A toute personne qui à contribuer de près ou de loin a la réalisation de ce travail.

AZIZA

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Listes des abréviations

Listes des tableaux

Listes des figures

Introduction

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur la plante

1. Historique.....	3
2. Description botanique.....	3
3. <i>Aloe Brevifolia</i>	4
3.1. Classification.....	5
3.2. Structure et organe de la plante.....	5
3.2.1. Feuilles	5
3.2.2. Fleurs et fruits.....	6
3.3. Composition chimique.....	6
3.4. Domaines d'utilisations	7
3.4.1. Cosmétique	7
3.4.2. Utilisations nutritionnelles	8
3.4.3. Utilisations médicinales et thérapeutiques.....	8
3.5. Effets de la plante	9
3.5.1. Effet anti cancéreux	9
3.5.2. Effet antiviral.....	9
3.6. Toxicité de la plante	10

Chapitre 2 : Généralités sur les polysaccharides

1. Définition des polysaccharides	12
2. Classification	13
2.1. Selon la structure	13

2.1.1. Les homopolysaccharides.....	13
2.1.1. Les hétéropolysaccharides.....	13
2.2. Selon le rôle biologique.....	13
2.2.1. Les polysaccharides de structure	14
2.2.1.1. Cellulose	14
2.2.1.2. Hémicellulose	14
2.2.1.3. Pectine	16
2.2.2. les polysaccharides de réserve.....	17
2.2.2.1. L'amidon.....	17
2.2.2.2. Fructane.....	17
2.2.3. Les exsudats et les mucilages.....	15
2.2.3.1. Les exsudats	18
2.2.3.2. Les mucilages	18
3. Applications des polysaccharides	18

Chapitre 3 : Techniques d'extraction des polysaccharides

1. Définition de l'extraction.....	21
2. Technique d'extraction.....	21
2.1. Extraction traditionnelle solide liquide	21
2.2. Extraction assistée par un micro-onde.....	21
2.2.1. Principe	21
2.2.2. Avantages	22
2.3. Extraction par ultrason	22
2.3.1. Définition	22
2.3.2. Principe	22
2.3.3. Avantages.....	23
2.4. Extraction par fluide supercritique	23
2.4.1. Définition	23
2.4.2. Principe de l'extraction par CO ₂ supercritique.....	24
2.4.3. Avantages et inconvénients	24

Chapitre 4 : Caractérisation des polysaccharides

1. Caractérisation biochimique des polysaccharides.....	25
1.1. Composition en monosaccharides.....	25
1.1.1. Définition d'un monosaccharide.....	25
1.2. La chromatographie en phase gazeuse CPG.....	26
1.3. La chromatographie sur couche mince CCM.....	26
1.4. La chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC.....	26
1.5. Réaction chimique.....	27
1.5.1. Hydrolyse acide	27
1.6. Type de liaison.....	27
2. Caractérisation biologique.....	27
2.1. Activité anti oxydante	28
2.2. Activité anti inflammatoire	28

Deuxième partie : partie expérimentale

Chapitre 5 : Matériels et Méthodes

1. Extraction des polysaccharides	29
1.1. Cadre de l'étude	29
1.2. Matériel végétal	29
1.3. Matériels du laboratoire	29
1.4. Préparation du matériel végétal.....	29
2. Extraction solide liquide	30
3. Protocol TPP (Three Phases Partitionning)	30
3.1. Dénaturation des protéines avec l'acide acétique.....	30
3.2. Précipitation des protéines	32
3.3. Récupération des polysaccharides.....	32
4. Caractérisation physico chimique des polysaccharides issus d' <i>Aloe brevifolia</i>	33
4.1. Analyse spectroscopique par FTIR	33
4.2. Chromatographie sur couche mince CCM	34
4.2.1. Optimisation des protocoles hydrolyse acide suivie par CCM	34

4.2.1.1. Solvolyse acide	34
4.2.1.2. Hydrolyse acide	34
4.2.1.3. Chromatographie sur couche mince CCM	35
5. Dosages colorimétriques	38
5.1. Matériels du laboratoire	38
5.2. Le dosages des sucres totaux avec la méthode phénol acide sulfurique	38
5.3. Le dosage des protéines par la méthode de Bradford	39
5.3.1. Préparation du réactif du Bradford	40
5.3.2. Préparation de gamme d'étalonnage avec l'albumine sérique bovine (BSA).....	40
5.3.3. Préparations des étalons de l'échantillon	40
5.3.4. Dilution du réactif du Bradford.....	40
5.3.5. Mesure des absorbances.....	40
6. Détermination du taux de cendres	41
6.1. Principe	41
6.2. Mode opératoire.....	41
7. Activité antioxydante du polysaccharides extrait	42
7.1. Matériels du laboratoire	42
7.2. Test DPPH.....	42
7.2.1. Préparations des solutions	43

Chapitre 6 : Résultats et Discussion

1. Analyse spectroscopie FTIR.....	44
2. Chromatographie sur couche mince CCM.....	46
3. Dosages colorimétriques	47
3.1. Le dosages des sucres totaux avec la méthode phénol acide sulfurique	47
3.2. Le dosage des protéines par la méthode de Bradford	49
4. Activité antioxydante	50
5. conclusion	53

Références bibliographiques

Résumé

Liste des abréviations

PS : polysaccharides

UV : ultra violet

CCM : chromathographie sur couche mince

TPP : three phase partitioning

rpm : rotation par minute

PAB : polysaccharides d'*Aloe brevifolia*

SAB : serum albumin bovine

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

Mg : milligramme

ml : millilitre

G : gramme

Kg : kilogramme

L : litre

µl : microlitre

mM : millimollar

Liste des tableaux

Tableau 1 : classification d'*Aloe brevifolia*

Tableau 2 : quelques pathologies et recettes médico traditionnelle à base d'*Aloe brevifolia*

Tableau 3 : origines des principaux polysaccharides

Tableau 4 : domaines d'applications des polysaccharides

Tableau 5 : l'ensemble des principaux piques des polysaccharides d'*Aloe brevifolia*

Tableau 6 : les différentes conditions d'hydrolyse et d'élution utilisée pour réaliser la CCM

Tableau 7 : la gamme de sérum albumine bovine BSA

Liste des figures

Figure 1 : espèces appartenant au genre *Aloe*

Figure 2 : feuilles d'*Aloe brevifolia*

Figure 3 : fleurs et fruits d'*Aloe brevifolia*

Figure 4 : diagramme de classification des polysaccharides

Figure 5 : structure chimique de la cellulose

Figure 6 : structure chimique de xyloglucane

Figure 7 : structure chimique du xylane

Figure 8 : structure chimique de l'acemannane

Figure 9 : structures chimiques des pectines

Figure 10 : structure chimique d'amylose et d'amylopectine

Figure 11 : principe d'extraction liquide solide

Figure 12 : extraction assistée par un micro-onde

Figure 13 : les solvants pour l'extraction par ultrasons

Figure 14 : formes aldoses et cétooses des monosaccharides

Figure 15 : une liaison glycosidique

Figure 16 : préparation du matériel végétal

Figure 17 : extraction liquide solide

Figure 18 : dénaturation des protéines avec l'acide acétique

Figure 19 : purification des polysaccharides avec la méthode TPP

Figure 20 : séchages des polysaccharides

Figure 21 : diagramme général résumant toutes les étapes d'extraction et de purification des PS

Figure 22 : étapes de la dégradation acide par solvolysse et hydrolyse

Figure 23 : solutions standards de monosaccharides

Figure 24 : étapes de la CCM

Figure 25 : diagramme récapitulatif de l'ordre des étapes de CCM

Figure 26 : diagramme de dosage des sucres totaux par la méthode de phénol acide sulfurique

Figure 27 : dosages des protéines par la méthode de Bradford

Figure 28 : étapes de détermination du taux de cendres

Figure 29 : principe de la réaction du DPPH

Figure 30 : dosage de l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH

Figure 31 : spectre FTIR des polysaccharides d'*Aloe brevifolia*

Figure 32 : CCM sous différentes conditions d'hydrolyse et élution

Figure 33 : courbe d'absorbance de la gamme du glucose

Figure 34 : courbe d'absorbance de la gamme sérum albumine bovine

Figure 35 : courbe de DPPH résiduel obtenues avec l'*Aloe brevifolia* et l'acide ascorbique

Introduction

Les plantes médicinales sont reconnues pour offrir, par leurs utilisations, un effet bienfaisant et thérapeutique à l'organisme. Malgré cet effet, elles doivent cependant être utilisées avec plus de prudence car elles peuvent avoir un risque de toxicité (Gaskell et al., 2000). À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer des connaissances ethnobotaniques assurant des utilisations moins compromettantes pour la santé des humains (Boumediou & ADDOUN, 2017).

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations accumulées au cours des siècles. Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines (Majinda et al., 2001).

Parmi toutes les plantes médicinales utilisées, l'*Aloe Vera* est la plus utilisée. L'*Aloe* est une plante succulente vivace originaire de l'Afrique du Sud et de l'Est. Elle est présente essentiellement dans les régions désertiques d'Asie et d'Amérique, notamment aux Antilles et en Amérique du Sud. Très souvent confondue à tort avec l'Agave, elle appartient, selon les classifications, soit à la famille des Aloécacées, soit à la famille des Xanthorhacées. Il en existe près de 420 espèces. Mais seules quelques-unes sont reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques (Mehta, 2017).

Souvent appelée « plante miracle » ou « guérisseuse de la nature », l'*Aloe* est une plante aux nombreuses propriétés. En plus d'être utilisée dans les produits pharmaceutiques, elle est également utilisée dans les produits cosmétiques et alimentaires (Mehta, 2017). Cette jolie plante verte a envahi les rayons des grands magasins et revendique des actions hydratantes, anti-inflammatoires ou encore laxatives. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de certains composés naturels bioactifs tels que les polysaccharides.

Les polysaccharides sont une classe de biomolécules dont certains présentent des propriétés biologiques susceptibles d'être valorisées à l'échelle industrielle. Extraits majoritairement des végétaux, ces polymères hydrosolubles établissent des interactions spécifiques avec l'eau et peuvent épaissir, stabiliser ou gélifier une solution, même à faible concentration. L'intérêt des polysaccharides ne se limite pas à leurs propriétés rhéologiques, les rôles biologiques englobant diverses bio-activités trouvant des applications prometteuses dans les domaines pharmaceutique et biomédical (Pérez, 1997).

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 de liaison. Ce qui rend donc l'étape d'extraction et de la caractérisation structurelle et physique très importante pour identifier ces bio-activités telles que l'activité anti-oxydante (les antioxydants permettent l'inhibition des radicaux libres (MEDJOUJDA, 2012).

L'étude donc est faite en deux parties, la première théorique qui se base sur la présentation et la description du genre *Aloe* plus spécifiquement l'espèce *Aloe brevifolia*, ainsi que sa composition chimique. Les bio activités sont mentionnée aussi dans la première partie.

La deuxième partie dite « expérimentales » présente et résume tous les travaux et les expériences réalisées au sein de laboratoire du département. L'objectif de notre travail s'est porté sur trois aspects :

Le premier se basant sur l'extraction des polysaccharides d'*Aloe brevifolia* et la détermination de leurs teneurs en sucres et en protéines.

Le deuxième s'appuie sur la réalisation des chromatographies en couche mince CCM afin d'étudier et d'identifier la composition osidique des polysaccharides d'*Aloe brevifolia*.

Le troisième se focalise sur la mise en évidence de l'activité anti oxydante des polysaccharides issues des feuilles d'*Aloe brevifolia*.

Chapitre 1

Généralités sur la plante

1. Historique

Depuis au moins 5000 ans, à des époques différentes et dans régions du monde éloignées les unes des autres, l'homme a toujours utilisé les aloès pour prévenir ou soigner de nombreux maux. En effet, plusieurs preuves archéologiques et historiques témoignent de ses multiples et identiques usages médicinaux. Il existe près de 420 espèces d'Aloe présentes dans le monde entier (Rochweg et al., 2017). Cette espèce est originaire de l'Afrique du sud (ou var. chinensis en Inde). Aujourd'hui, elle est largement répandue dans les grandes civilisations (Haupt et al., 2013).

Les *Aloes* ont une histoire remontant à l'époque biblique, elles appartiennent à la famille des Asphodelacées. C'est une plante vivace ressemblant à un cactus (Canter, Thomas, & Ernst, 2005). L'aloès est une plante préférée de nombreuses nations du monde. Il a été trouvé et décrit dans les écrits de beaucoup de cultures différentes aussi loin que les époques Grecque, égyptienne et romaine (Levin et al., 2017).

2. Description botanique

Aloe est le plus grand genre de la famille des Asphodelaceae et il comprend plus de 400 espèces allant des petits arbustes aux grands arbres largement répartis en Afrique, Inde, et d'autres zones arides, avec une plus grande diversité en Afrique du sud. Le nom *Aloe* est tiré du mot arabe (Alloeh), qui signifie substance amère et brillante (Diriba & Deresa, 2022). Le genre *Aloe* renferme plusieurs types d'espèces dont les plus célèbres : *Aloe Vera*, *Aloe brevifolia*, *Aloe Dorothee* (Pole-Evans & Flora, 1919). En plus de la spécificité, il existe également de nombreux cultivars et hybrides d'aloès, avec une variété de couleurs, de tailles et de formes de feuilles. Ces cultivars sont souvent développés pour des fins ornementales ou pour répondre à des besoins spécifiques de culture. La figure 1 montre quelques espèces les plus répandues.



a : Aloe Aristata



b : Aloe Barbadensis



c : Aloe Saponaria



c: Aloe Africana



e: Aloe Dorotheaea



f: Aloe Brevifolia

Figure 1 : Espèces appartenant au genre *Aloe* (Klopper & Smith, 2013) .

3. *Aloe brevifolia*

Est une plante vivace, à feuilles succulentes de couleur vert pois, grasses et courtes qui peuvent atteindre 20cm de hauteur et d'environ 10cm de diamètre. *Aloe brevifolia* appartient aux xérophytes grâce à sa capacité de conserver l'eau pendant la sécheresse tout en maintenant le processus photosynthétique normal (Sung, 2006).

3.1. Classification

D'après le système de classification utilisé, l'*Aloe brevifolia* n'appartient pas à la même famille. En parcourant la littérature botanique et scientifique, on remarque que l'*Aloe brevifolia* appartient à différentes familles : Asphodélacées, Aloécées, Xanthorrhoeacées et Liliacées. Cette dernière est celle que l'on rencontre le plus souvent (ABDELLAH, ABDELLAOUI, & RAHMANI, 2022) .

(a) Classification Cronquist (1981)

Règne :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Liliopsida
Sous- classe :	Liliidae
Ordre :	Liliales
Famille :	Aloeaceae
Genre :	Aloe
Espèce :	<i>Aloe brevifolia</i>

(b) Classification APG III (2009)

Clade :	Angiospermes
Clade :	Monocotylédones
Ordre :	Asparagales
Famille :	Xanthorrhoeaceae
Sous famille :	Asphodeloideae
Espèce :	<i>Aloe brevifolia</i>

Tableau 1 : Synthèse des deux principales classifications botaniques utilisées aujourd'hui.

1.1. Structure et organes de la plante

3.2.1. Feuilles

Aloe brevifolia possède des feuilles triangulaires charnues, courtes et épaisses avec des épines sur les bords, elles poussent en forme rosette, les plus jeunes au centre et les plus âgés vers l'extérieur (**Figure 2**).

On réalise une coupe transversale au niveau de la feuille afin de distinguer ses différentes couches. La cuticule qui représente la partie extérieure de la feuille, à l'intérieur se trouve la pulpe qui est une couche assez épaisse. Le mucilage contient 99.3% d'eau et 0.7% de molécules solides essentiellement des glucides. Le gel d'*Aloe* est utile pour stimuler le système immunitaire du corps. Les extraits concentrés de feuilles d'*Aloe* sont également utilisés comme

laxatif et dans le traitement des hémorroïdes. L'utilisation de produits végétaux est également progressivement augmentée à des fins pharmaceutiques (Reynolds, 1958) .



Figure 2 : feuilles d '*Aloe brevifolia* (Puia et al., 2021).

3.2.2. Fleurs et fruits

Fleurs réparties sur une ou plusieurs hampes, semblables à des trompettes d'un blanc verdâtre au rouge, jaune et orange. Fruit une petite baie verte charnue qui pousse à partir de la plante, de la grosseur d'un raisin (SALMA) .



(a)



(b)

Figure 3 : fleurs et fruits d '*Aloe brevifolia* (Klopper & Smith, 2013).

3.3. Composition chimique

L'analyse biochimique de la feuille d '*Aloe* est exceptionnelle par sa richesse, elle contient plus de 75 éléments nutritifs et 200 autres composants. La pulpe contient beaucoup d'eau, des sucres simples et complexes impliqués dans la réaction immunitaire (lectines, polysaccharides),

Acides aminés, multiples minéraux et oligoéléments (calcium, chlore, cuivre, chrome, zinc, sélénium, potassium, fer sodium, manganèse, lithium, magnésium, phosphore), enzymes facilitant le métabolisme cellulaire et de la digestion, et enfin une gamme de vitamines (DABOUZ & CHIHANI, 2021) .

La composition chimique des feuilles d'aloès peut être détaillée comme suit :

- Les polysaccharides : (acémannane et glucomannane) font partie des composants les plus intéressants de *L'Aloe brevifolia*.
- L'acide malique : est un acide organique indispensable
- Les vitamines : B1, B2, B3, B6, B9, B12, C, bêta-carotène (précurseur de la vitamine A)
- Les minéraux : Calcium, Cuivre, Fer, Magnésium, Potassium, Sodium, Zinc, Phosphore, Bore, Chrome.
- Les enzymes : l'amylase, la carboxypeptidase, la catalase, la cellulase, la glucose-oxydase, lipase, phosphatase et déshydrogénase.
- Les acides aminés : acide glutamique, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, phénylalanine, proline, sérine, thréonine, tyrosine et valine.
- Les dérivés anthracéniques (de la sève) : barbaloïne, Aloe-émодol, isobarbaloïne, aloïnosides.
- Les substances antiseptiques : soufre, phénol, lupéol, anthraquinones.
- Les substances antalgiques : lupéol, magnésium et acide salicylique.
- Les substances anti-inflammatoires : acides gras, Brady kinase, gibbérelline, anthraquinone.
- Les autres constituants : Aloesine, Aloénine, acide cinnalique, acides chrysophanique,
- Résistanol
- (dérivé alcoolique de l'acide cinnamique), lignine, saponines, huiles volatiles, choline...(Bazeeb, 2002).

3.4. Domaines d'utilisation

3.4.1. Cosmétique

Aujourd'hui, l'*Aloe brevifolia* est utilisé dans de nombreux produits notamment dans le domaine de la cosmétologie partout dans le monde. Il est courant d'en retrouver dans des crèmes pour le visage ou pour les mains, dans des fonds de teint, des nettoyants, des crèmes solaires, des shampoings ou toniques pour cheveux, des crèmes de rasages, du maquillage, des produits pour le bain, et même des lotions ou lingettes pour bébé (Guo, Mei, & Health, 2016).

Cette utilisation intensive est en partie due à l'histoire de la plante, au marketing autour de celle-ci, qualifiée souvent de plante des miracles, mais surtout aux nombreux bienfaits qui Lui

sont attribués, tels que ses effets apaisants pour la peau, notamment en cas de brûlures, d'irritations ou de plaies (Surjushe, Vasani, & Saple, 2008).

3.4.2. Utilisation nutritionnelle

Les *Aloes* sont des plantes riches en différents nutriments de haute valeur nutritionnelle, telle que : les vitamines, les minéraux, les sucres et les protéines,etc (Dagne, Bisrat, Viljoen, & Van Wyk, 2000). Le gel des *Aloes* est utilisé comme une source nutritionnelle (complément alimentaire) Dans l'industrie agroalimentaire, surtout pour la préparation des boissons de santé sans effets laxatif, il aussi utilisé comme ingrédients dans divers produits alimentaires par exemple, Produits laitiers, crème glacée, la confiserie ...etc (Dakiche, 2011). L'*Aloe vera* peut être consommée comme légume (au Japon) et être transformé en nourriture ou boissons (STOJAN-ALO).

3.4.3. Utilisation médicinale et thérapeutique

Les produits de santé d'*Aloe* peuvent être employés extérieurement ou intérieurement, aujourd'hui il y a des capsules et des comprimés d'*Aloe* au marché (Liang et al., 2009). En Afrique du sud, une décoction de feuilles est administrée aux femmes pour faciliter leur accouchement, en Italie des jus de feuille d'*Aloe* sont commercialisés comme des boissons curatives (G. H. Schmelzer, Gurib-Fakim, & Schmelzer, 2008). L'*Aloe brevifolia* est principalement reconnue pour son activité hydratante, anti inflammatoire ainsi ses différents vertus thérapeutiques sur les brûlures et les cicatrices (G. I. H. t. Schmelzer & Gurib-Fakim, 2008) .

Le tableau ci-dessous nous présente quelques pathologies et recettes medico-taditionnelles qui sont à la base de l'*Aloe brevifolia* (DE, ET, & D'EXTRAITS)

Pathologie	Recette médico traditionnel
Seins gonflés et douloureux	Peler les feuilles d' <i>Aloe brevifolia</i> et en frictionner le sein malade 2 fois par jour .
Empoisonnement	Couper l' <i>Aloe brevifolia</i> en petits morceaux que l'on fait bouillir, tamiser ensuite et boire le verre de bambou 3 fois par jour .
Morsures	Découper la souche de l' <i>Aloe brevifolia</i> et appliquer le suc à l'endroit mordu en même temps

	bouillir une partie de la souche découper pour en boire ½ verre de bambou 2 fois par jour .
--	---

Tableau 2 : Quelques pathologie et recette médico traditionnelles à base d'*Aloe brevifolia* .

3.5.Effets de la plante

3.5.1. Effets anticancéreux

Le cancer est un problème majeur de santé publique dans le monde et la deuxième cause de décès après celle des maladies cardiovasculaires. C'est une maladie multifactorielle complexe typiquement caractérisée par une croissance incontrôlée de cellules transformées (Helming, Wang, & Roberts, 2014) , qui tendent à envahir les tissus environnants et à métastaser vers d'autres tissus et organes (Chen, Ortiz, Zong, & Nepf, 2012) . Selon le rapport statistique de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 12.7 millions de cas de cancer et 7.6 millions de décès ont été enregistrés dans le monde en 2008. En outre, il prédit environ près de 21.4 millions de nouveaux cas de cancer et plus de 13.2 millions de décès sont susceptibles de se produire d'ici à 2030 (Qu et al., 2013) . Actuellement, plusieurs études ont montré l'efficacité des médicaments anticancéreux extraits à partir des ressources naturelles en raison de leurs effets secondaires minimales (Matthieu, 2015) .

L'*Aloe brevifolia* contient deux éléments essentiels qui sont prétendus à avoir des effets anticancéreux : Les glycoprotéines (lectines) et les polysaccharides, spécifiquement l'acemannane, en tant qu'un modificateur d'une réponse biologique de nature polysaccharidique également un puissant stimulateur cellulaire, pourrait améliorer la reconnaissance de l'antigène en induisant la cytotoxicité dans les cellules péritonéales murines (OUARRAK, 2019) .

D'autre part, différentes études indiquent une activité anti-tumorale pour le gel d'*Aloe Vera* en termes de réduction de la charge tumorale, de rétrécissement de la tumeur, de nécrose tumorale et de taux de survie Prolongé. Un mécanisme d'action qui a été proposé pour ces effets anticancéreux des polysaccharides d'*Aloe* est la stimulation de la réponse immunitaire (Brown, Heyneke, Brown, Van Wyk, & Hamman, 2008) .

3.5.1. Effet antiviral

- Le virus Herpès simplex

L'extrait du gel d'*Aloe brevifolia* (concentrations de 0,2 % à 5 %) a montré une activité antivirale contre le virus Herpès simplex de type 1 en inhibant sa croissance.

- **Le virus de la grippe H1N1**

Par ailleurs, des études in vitro ont démontré que les polysaccharides d'*Aloe* ont réduit la réplication du virus de la grippe de sous-type H1N1 et la période d'adsorption virale en interagissant avec les particules du virus de la grippe.

- **Le virus de la grippe COVID-19**

L'extrait du gel d'*Aloe brevifolia* a montré une activité antivirale contre de nombreux virus mortels, à savoir le coronavirus du SARS (SRAS-CoV 1). Le coronavirus du SARS(COVID19) est un virus appartenant à la famille des Corona viridae, responsables d'infections digestives et respiratoires chez l'homme et l'animal. Le virus de la COVID-19 est un nouveau virus de la même famille que d'autres virus tels que le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) et certains types de rhumes courants. Le virus tire son nom du fait de son apparence : il est entouré d'une capsule de protéines en forme de couronne (SALMA) .

Ainsi, l'ensemble des composants de l'*Aloe breifolia* contribue à :

- Stimuler les défenses immunitaires naturelles.
- Favoriser l'équilibre général en renforçant le métabolisme.
- Prévenir les agressions dues à l'environnement et au stress.
- Lutter contre les états de fatigue psychique et physique.

L'acemannan est le principe actif le plus exploité de l'*Aloe brevifolia* en raison de ses multiples bienfaits sur le corps. C'est un polysaccharide trouvé dans le mucilage, qui contient plusieurs bienfaits tels que :

- Aide les cellules à être plus résistantes aux virus et aux bactéries pathogènes.
- Améliore le métabolisme cellulaire et son fonctionnement.
- Permet la réduction des inflammations.
- Permet une meilleure absorption de l'eau, des nutriments, vitamines et minéraux au niveau des intestins.

3.6. Toxicité de la plante

La toxicité de l'*Aloe brevifolia* reste un sujet peu étudié. Cette plante dite miracle qui nous permet un marketing très efficace. La découverte d'une certaine toxicité pourrait alors faire l'effet d'une bombe dans le milieu du cosmétique ainsi milieu médical et agroalimentaire. Donc, Aujourd'hui seul 8% des publications concernant l'*Aloe brevifolia* s'intéresse à sa toxicité et très peu concernent le gel d'*Aloe brevifolia*. Il existe d'ailleurs une grande disparité entre les

résultats démontrés. Ceci peut s'expliquer par un grand nombre de facteurs différents, notamment les conditions de vie de la plante (saison, localisation, irrigation...) mais aussi des différences dans la préparation des gels (Guo et al., 2016) .

Chapitre 2

Généralités sur les polysaccharides

1. Définition des polysaccharides

Les polysaccharides également appelés polyosides ou glycanes, sont de longues chaînes polymères de monosaccharides liées par des liaisons glycosidiques pour avoir une configuration alpha ou beta taille moléculaire non spécifique. Les polysaccharides ramifiés peuvent être peu branchés, espacés régulièrement ou irrégulièrement, courts ou longs ect, (KAFI & TAIEB, 2018). Elles sont composées de plus de dix polysaccharides pouvant compter plusieurs milliers d'unités et avoir des poids moléculaires considérables. Les polysaccharides sont présents dans la plupart des organismes vivants, principalement dans les végétaux. Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur composition en monomères en deux classes : les polysaccharides homogènes et les polysaccharides hétérogènes (Belhamra, 2015).

Chez les animaux, l'excès de glucose est stocké sous forme d'un long polysaccharide ramifié appelé glycogène, alors que chez la majorité des végétaux, la forme principale de stockage du glucose est l'amidon. Ainsi, les bactéries et les levures stockent le glucose polymérisé sous forme d'un autre type de polysaccharide : le dextrane. Il s'agit de réserves nutritives qui peuvent être dégradées en cas de besoin, les monosaccharides résultants étant ensuite métabolisés pour fournir l'énergie nécessaire. De plus, la cellulose est un polysaccharide de structure des parois cellulaires végétales (Hadrich, 2019) . La solubilité des polysaccharides est différente selon leurs origines. Certains polysaccharides sont insolubles dans l'eau (par exemple la cellulose et la chitine) (Crini, Badot, Roberts, & Guibal, 2009) .

Tableau 3 : Origine des principaux polysaccharides (Isik, Sardon, & Mecerreyes, 2014) .

Origines des polysaccharides	Type de Polysaccharides
Végétale	Agar, Agarose, Alginate, amidon, Arabinose galactane, Arabinoxylane, β -glucane, Carraghenane, cellulose, galactomannanes, Glucomannane, Pectine, Ulvane, Xylane (hémicellulose), Xyloglucanes.
Bactérienne	Curdlane ,Gellane β , Pellulane , Xanthane .
Fongique	Kristine ; Lentinane ; Schizophyllane ; Scléroglycane.
Animale	Chitine et chitosane , héparines , hyaluronane , sulfate de chondroïtines

2. Classification des polysaccharides

Les polysaccharides sont classés selon plusieurs aspects :

2.1. Selon la structure

D'après [Wei, Mao, Cai, and Wang \(2011\)](#), les PS notamment ceux issus des végétaux sont classés selon leur composition en monosaccharides en deux grandes classes :

2.1.1. Les homopolysaccharides

Constitués d'un seul type de monosaccharide. Ils portent souvent le nom de l'unité osidique qu'ils contiennent, par exemple les glucanes. Les polymères d'homo polysaccharides peuvent être soit linéaires, par exemple : cellulose et amylose, ou bien ramifiés comme l'amylopectine ([Naseri-Nosar & Ziora, 2018](#)) .

2.1.2. Les hétéro-polysaccharides ou hétéroglucanes

Constitués de deux ou plusieurs types de monosaccharides différents avec divers types de liaisons glycosidiques ([Akroun & Tellab, 2020](#)) .

2.2. Selon le rôle biologique

Les polysaccharides végétaux sont classés en trois (03) catégories selon leurs fonctions ou les rôles biologiques qu'ils exercent : PS de structure, PS de réserve, et les exsudats et mucilages. (Voir figure 7)

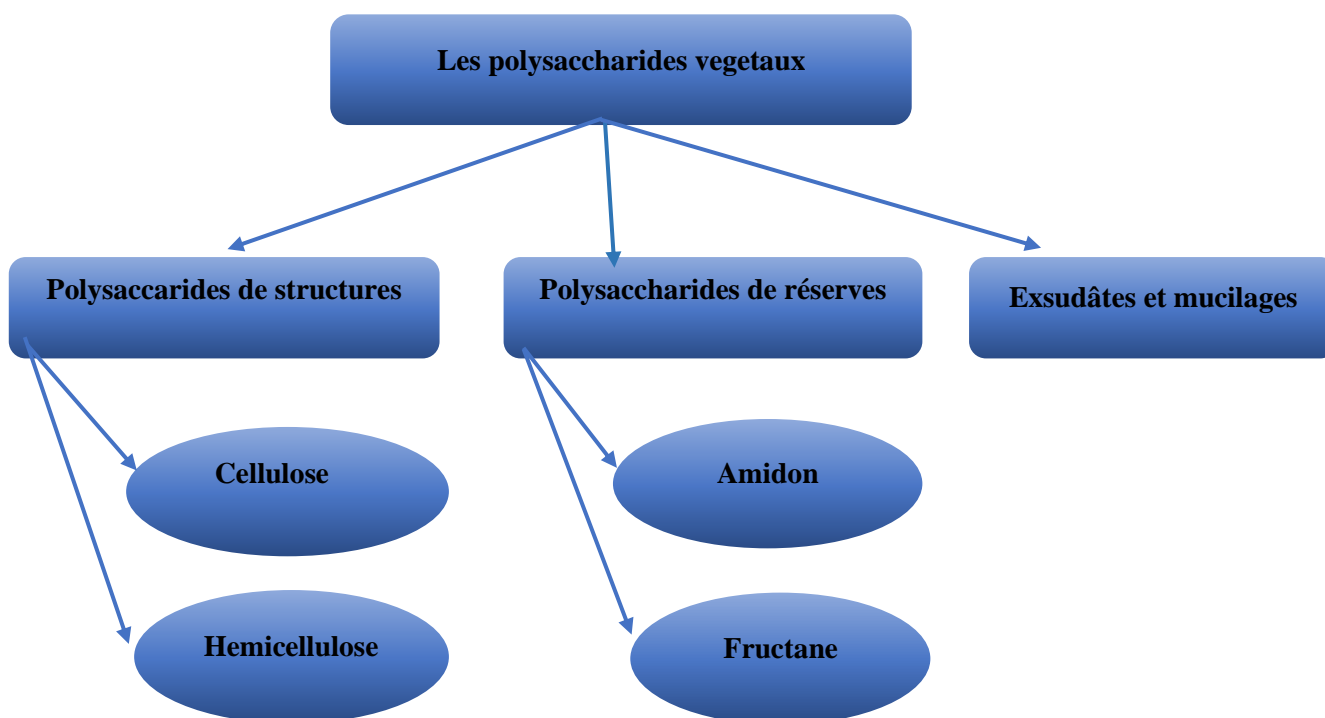


Figure 7 : Diagramme de classification des polysaccharides végétaux ([Akroun & Tellab, 2020](#))

2.2.1. Les polysaccharides de structure

Les PS structuraux, principalement la cellulose, les hémicelluloses et la pectine, jouent un rôle de soutien chez les végétaux (Barclay, Day, Petrovsky, & Garg, 2019).

2.2.1.1. 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 (Isik et al., 2014).

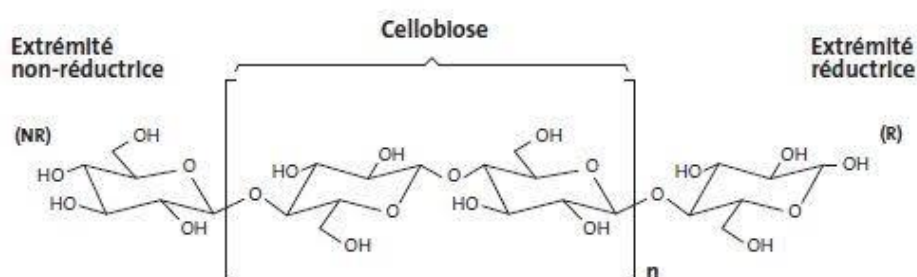


Figure 8 : structure chimique de la cellulose (Cazier, 2015).

Elle joue un rôle important dans la régulation du mécanisme de croissance chez les plantes (Rongpipi, Ye, Gomez, & Gomez, 2019). La cellulose est un polymère linéaire composé uniquement de résidus de D-glucose reliés par des liaisons (1→4). La cellobiose est l'unité de base. La cellulose est utilisée dans une variété de secteurs, notamment l'agroalimentaire, les industries chimiques et pharmaceutiques, les biocarburants, les cosmétiques et la production de matières plastiques comme la cellophane (Isik et al., 2014).

2.2.1.2 Les hémicelluloses

L'une des trois principales composantes de la biomasse lignocellulosique sont les hémicelluloses, qui représentent 20 à 40 % de la biomasse. Des micro fibrilles de cellulose sont liés à la surface avec des liaisons hydrogène, tandis que les glycanes assurent la réticulation dans ce sens. Contrairement à la cellulose, qui est un homopolysaccharides, qui sont formées par des voies biosynthétiques différentes. Ce polymère est composé de chaînes glucidiques courtes, linéaires et hautement ramifiées (Pauly et al., 2013).

Les hémicelluloses sont classées en plusieurs types De PS structurellement différents.

- **Xyloglucanes :**

Le squelette des xyloglucanes est identique à celui de la cellulose, leur chaîne principale est constituée de résidus de glucose liés en (1→4). Des chaînes latérales sont greffées sur cette chaîne principale en position O6 contenant uniquement des résidus de xylose mono-, di- ou tri-saccharides (Akroun & Tellab, 2020).

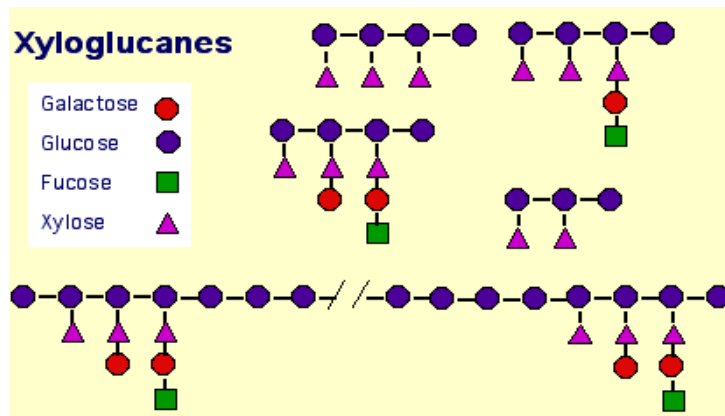


Figure 9 : structure chimique du xyloglucane (Machmudah, Kanda, & Goto, 2017).

- **Xylanes**

Les Xylanes sont les principaux composés hémicellulosiques des parois secondaires. Ils sont principalement constitués de résidus de xylose reliés en $\beta(1\rightarrow4)$ (Moreira, Filho, & biotechnology, 2016).

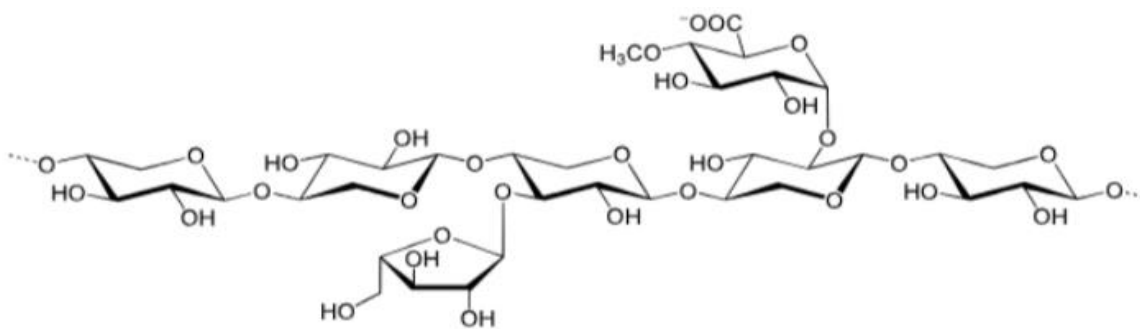


Figure 10 : structure chimique du xylane (Bichot & Clerc, 2016).

- **Mannanes**

Un groupe important d'hémicelluloses est les mannanes. Ils font partie à quatre sous-familles différentes : glucomannanes, galactomannanes, galactoglucomannanes et mannes linéaires (Moreira, Filho, & biotechnology, 2008). Ce sont des polymères linéaires de mannose liés en $(1\rightarrow4)$, jouent un rôle stockage et une fonction structurelle dans les parois cellulaires (NDIKURYAYO).

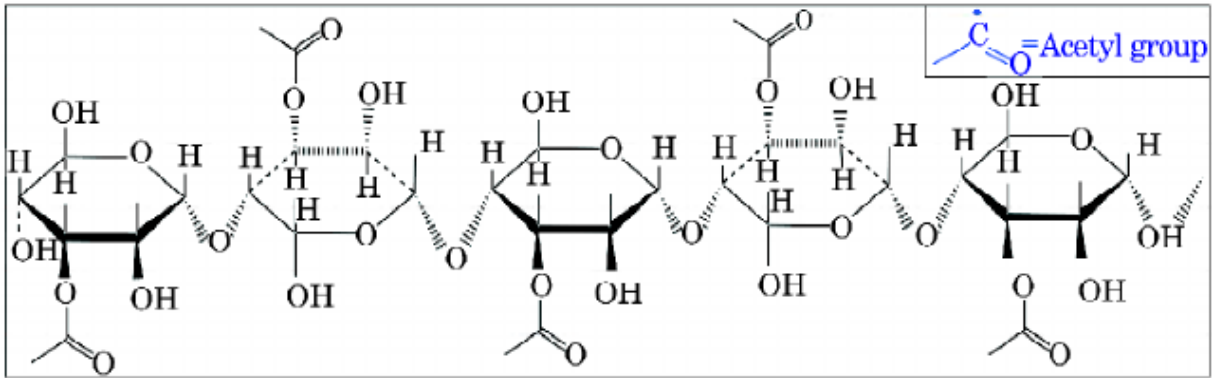


Figure 11 : structure chimique de l'acemannane (Ray & Ghosh, 2014).

2.2.1.3 Pectine

Les pectines sont des polysaccharides hétérogènes qui ont trois domaines principaux : un squelette linéaire homo-galacturonique (HG) lié en α -(1-4) alternant avec deux types de régions rhamno-galacturoniques hautement ramifiées, appelées RG-I et RG-II. Des chaînes composées d'arabinose et de galactose sont utilisées pour remplacer RG-I. Le squelette HG ramifié de RG-II contient onze monosaccharides différents, y compris l'apiose, l'acide acérique, le 2-céto-3-deoxy-d-manno-octulosonic acide et le 3-deoxy-d-lyxo-2-heptulosaric acide, parmi d'autres sucres rares (A. M. M. Combo, M. Aguedo, & M. J. B. Paquot, *Agronomie, Société et Environnement*, 2011).

Comme les hémicelluloses, les pectines sont synthétisées dans l'appareil de Golgi et présentent une diversité de structures qui varient selon le tissu végétal et la plante d'origine (Cuny & Rathgeber, 2021).

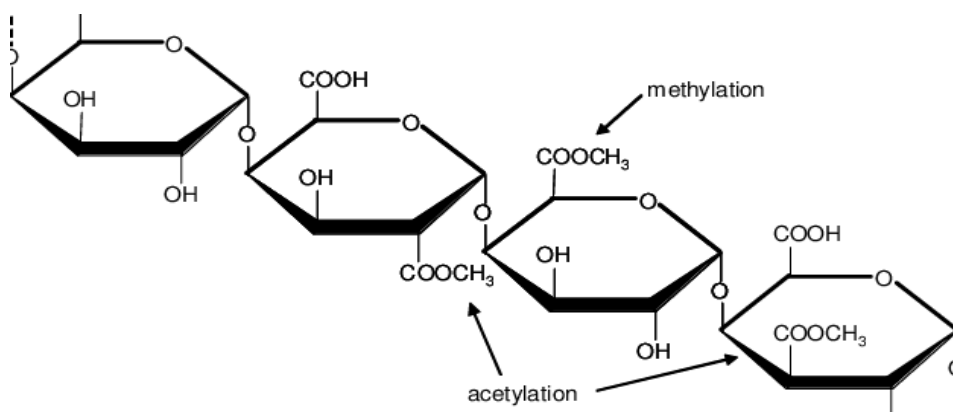


Figure 12 : structure chimique des pectines (Vos, 2008).

2.2.2. 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.

2.2.2.1 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) (Mhanna, 2014).

L'amidon est un homopolymère de D- glucose qui forme une substance très importante en industrie, notamment alimentaire en raison de ses particularités : nutritif, non toxique, biodégradable et renouvelable (Latifa, 2016).

Il est constitué principalement de deux polymères de structures différentes :

- L'amylose qui est un polymère linéaire qui rentre dans la composition de nombreux aliments, il est également utilisé dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et Textile.
- L'amylopectine est un polymère ramifié (Yahyaoui, 2020).

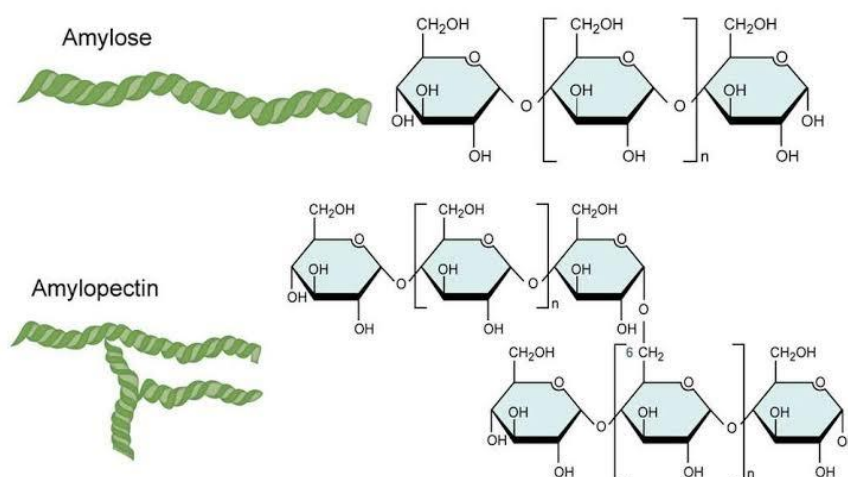


Figure 13 : structure chimique d'amylose et d'amylopectine (Montesanti, 2008).

2.2.2.2 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 (BOUAL, 2009). Selon la liaison glycosidique entre les unités de fructoses, ils sont divisés en différentes Classes : les inulines contenant exclusivement les liaisons β (1-), 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).

2.2.3. Les exsudats et les mucilages

Les gommés et les mucilages sont des éléments présents en grande quantité dans de nombreuses plantes, animaux, algues et champignons. Ils possèdent une structure polymère complexe et ramifiée grâce à laquelle ils présentent des propriétés cohésive et adhésives élevées qui sont très utiles dans les préparations pharmaceutiques (Mirhosseini & Amid, 2012).

2.2.3.1. Les exsudats

Les exsudats sont des produits pathologiques qui sont exsudés suite à une blessure de la plante ou effet d'un environnement malsain. Ils ont de nombreuses applications, en industrie alimentaire sont utilisés comme Modificateurs de texture, agents gélifiants, épaississants, stabilisants (Da Silva, Aires, da Silva Pena, & by-products, 2020).

2.2.3.2. Les mucilages

Les mucilages sont en générale des produits normaux du métabolisme, formés à l'intérieur de la cellule (Gorai, El Aloui, Yang, Neffati, & Soil, 2014). Ils permettent à la plante de stocker des quantités hydriques importantes qu'elle pourra utiliser en période de sécheresse. Par contre, en présence de quantités d'eau très importantes, le gonflement du mucilage peut entraîner un éclatement des tissus (Benaoun, 2017).

3. Propriétés et applications des polysaccharides

- Les polysaccharides ont une grande influence sur leurs propriétés physiques. Les propriétés en solution sont des éléments qui prennent plus d'importance dans le domaine alimentaire. Dans l'eau, les molécules linéaires forment des solutions plus visqueuses que les molécules branchées, car elles ont un volume hydrodynamique supérieur (Qu et al., 2013).
- Les composés ramifiés sont souvent plus solubles que les composés linéaires et forment plus facilement des gels car les interactions intermoléculaires sont moins fortes. Par contre, les solutions sont souvent plus collantes à cause de l'enchevêtrement des chaînes latérales. La charge des polymères exerce aussi une influence sur leur comportement en fonction du pH ou de la présence de sels (Francillon, 2021).
- Par exemple, les pectines jouent un rôle important dans l'adhésion et le maintien des cellules des tissus végétaux en formant un ciment rattachant les cellules les unes aux autres. Ces substances ont fait l'objet de nombreuses recherches qui ont conduit au développement de différentes applications dans des domaines aussi différents que l'industrie cosmétique, plastique et pharmaceutique. Mais, l'utilisation la plus importante se situe dans l'industrie agro-alimentaire où les pectines sont essentiellement utilisées

Chapitre 2 : Généralités sur les polysaccharides

comme agents de texture, gélifiants, stabilisants et épaississants (A. M. M. Combo, M. Aguedo, & M. Paquot, 2011).

- Les pectines ont également fait l'objet d'une attention particulière de la part des nutritionnistes. Elles sont en effet utilisées comme des fibres alimentaires et exercent des effets physiologiques sur le tractus intestinal en réduisant le temps du transit et l'absorption du glucose (Saxena & Brown Jr, 2005) .
 - L'utilisation de l'hémicellulose peut être très bénéfique, selon certaines études. Elle est utilisée comme une matière première de fermentation afin de produire de l'éthanol, d'acide lactique, acétone, butanol. Les hémicelluloses de la paille de blé peuvent être utilisés comme adhésifs, stabilisants, épaississants et émulsifiants dans les aliments. Elles sont considérées comme des bons formateurs de films et pourraient également avoir des utilisations potentielles comme neutraceutiques ou antivirales, selon de nombreuses études. Les industriels de l'énergie sont très intéressés par la production de bioéthanol et de produits chimiques de sources biologiques en raison de la pénurie imminente de combustibles fossiles.
 - La cellulose est un polysaccharide naturel d'intérêt car elle a de nombreuses applications industrielles grâce à sa forme naturelle en tant que additif alimentaire (Saxena & Brown Jr, 2005) .
 - Les propriétés mécaniques de résistance de la cellulose découlent de sa structure cristalline. Cependant, l'arrangement des chaînes de cellulose en fibrilles lui donne également une grande flexibilité, contrairement aux autres molécules cristallines (El Hadji Babacar, 2008) .
- Les différents domaines d'applications de ces PS végétaux sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Polysaccharides	Liaison osidique	L'ose principal	Domaines d'Applications
Cellulose	β (1-4)	Galactose	Secteur agroalimentaire matériaux textiles .
Hémicellulose	β (1-4)	Xylose	Industrie alimentaire d'énergie et

			commerce neutraceutique .
Pectine	α (1-4)	Acide galacturonique	Industrie alimentaire , cosmétique et pharmaceutique .
Amidon	α (1-4) α (1-6)	Glucose	Domaine alimentaire domaine de la santé

Tableau 5 : Domaines d'applications des PS végétaux (Akroun & Tellab, 2020) .

Chapitre 3

Techniques d'extraction des polysaccharides

1. Définition de l'extraction

Le terme « extraction » signifie retirer ou arracher quelque chose d'un lieu ou d'une matière. En biochimie, l'extraction est une opération ou le processus par lequel nous extrayons certaines substances selon diverses méthodes (Letouzey, 2017) .

2. Techniques d'extraction

2.1. Extraction traditionnelle solide liquide

L'extraction solide-liquide est une opération qui consiste au transfert de substances présentes dans une phase « solide » vers le solvant « liquide ». Le principe de diffusion et d'osmose est appliqué. En effet, les composés extractibles sont immergés dans un liquide. Il doit utiliser des substances chimiques qui se déplacent de l'intérieur au solide, puis de la surface au liquide (Moret, Conchione, Srbinovska, & Lucci, 2019).

L'extraction conventionnelle des composés bioactifs est une méthode qui permet d'extraire des polysaccharides végétaux en utilisant de l'eau, des solvants acides ou alcalins en contact avec la matrice solide (Derrien, 2017) .

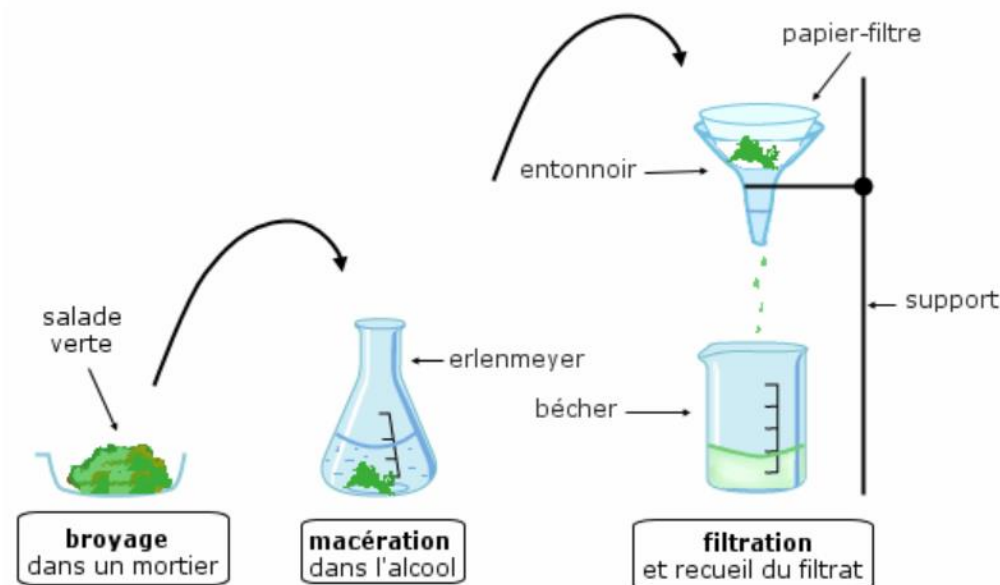


Figure 11: Principe d'extraction liquide solide

2.2 Extraction assistée par un micro-onde

2.2.1. Principe

L'extraction assistée par micro-ondes (EAM) se base sur l'utilisation des irradiations pour retirer les substances bioactives tels que les PS végétaux. Par interaction moléculaire, l'énergie des micro-ondes se transforme en chaleur qui est transférée directement dans les matériaux (Moret et al., 2019).

La chaleur provoque une évaporation du liquide et une augmentation de la pression dans les cellules en raison de leur éclatement, de leur migration et de leurs composants bioactifs vers la solution (Maran, Sivakumar, Thirugnanasambandham, & Sridhar, 2013) .

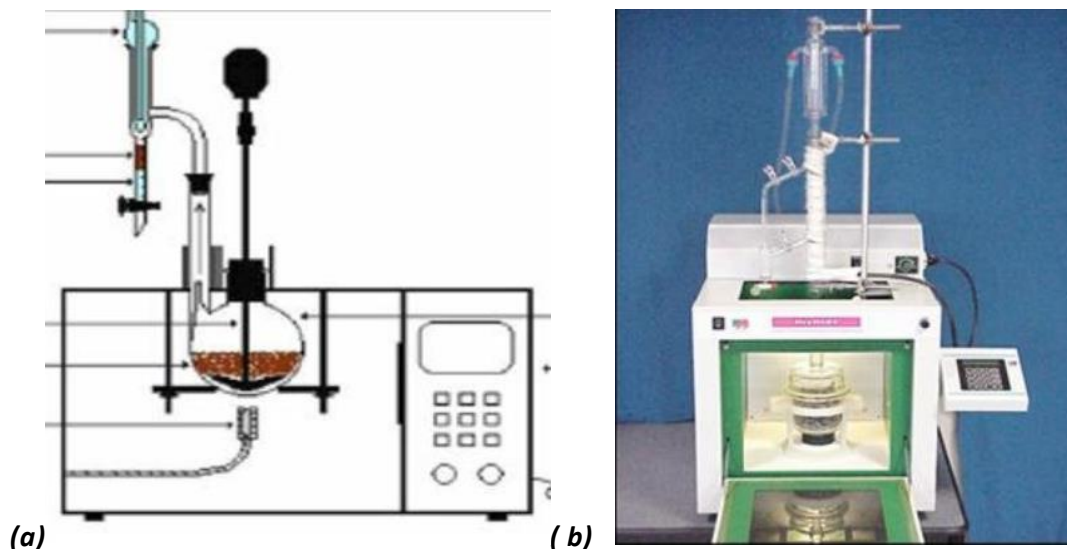


Figure 12 : extraction assistée par un micro-onde (el Haib, 2018) .

2.2.2 Avantages

EAM est l'une des plus puissantes méthodes d'extraction de PS végétaux (Chadni, Bals, Ziegler-Devin, Brosse, & Grimi, 2019). C'est une méthode qui possède des avantages comme la courte durée d'extraction, moins coûteuse, le taux d'extraction plus élevé avec moins de solvant et d'énergie consommée (Naviglio, Scarano, Ciaravolo, & Gallo, 2019) .

2.3. Extraction par ultrason

2.3.1. Définition

Un ultrason est une onde mécanique et élastique, fondée sur le principe de la cavitation acoustique qui permet d'endommager les parois cellulaires de la matrice végétale, favorisant ainsi la libération de composés bio actifs. Les sons sont différents en fonction de leur fréquence d'onde. Les caractéristiques principales 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).

2.3.2. Principe

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 forment des bulles d'air ou de vapeur de solvant, donnant lieu à un phénomène appelé cavitation. Les bulles de cavitation ont une taille plus élevée, qui impliquent

violemment en fin de phase de compression, produisant une température locale plus intense et des pressions élevées, ce qui provoque des micro-jets vers la surface solide, et la libération des composés du tissu végétal après la rupture de la paroi cellulaire (Maran & Priya, 2014).

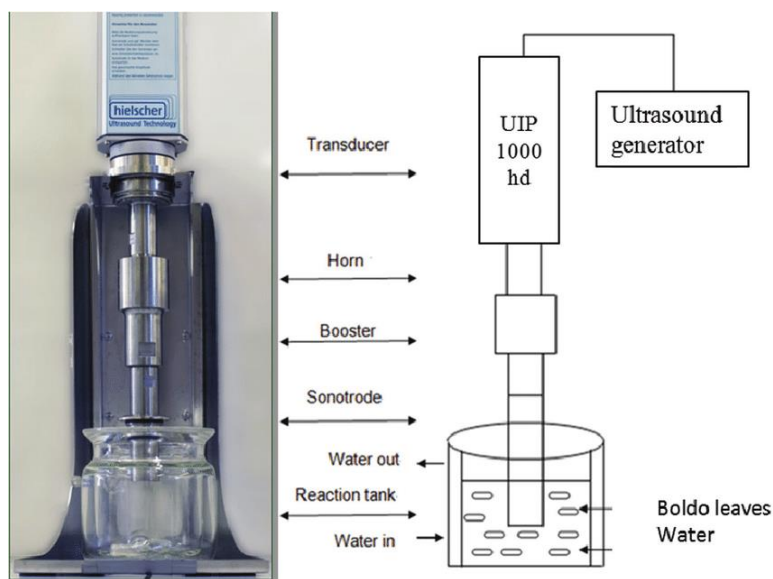


Figure 13 : les solvants pour l'extraction par ultrasons de plantes (Selvamuthukumar & Shi, 2017).

2.3.3. Avantages

La technique d'extraction ultrasonique, permet :

- La productivité et la qualité des extraits.
- La consommation élevée de solvant .
- Faible consommation d'énergie, facile à manipuler, reproductible.
- Diffusion plus efficace des éléments extraits par l'altération des parois cellulaires de la plante.
- Peu couteuse et rapide en comparaison à d'autres méthodes d'extraction conventionnelles (Maran & Priya, 2014) .

2.4. Extraction par fluide supercritiques

2.4.1 Définition

L'extraction par fluide supercritique (EFS) consiste à extraire un soluté ou une substance en utilisant un fluide supercritique comme solvant d'extraction. Ce procédé est similaire à l'extraction par un liquide. Le dioxyde de carbone supercritique est le plus utilisé. Ses principaux atouts sont sa non-toxicité et son inertie. Lors de l'extraction, le dioxyde de carbone

est utilisé à une température critique de 31°C et une pression critique de 74 °C (Sauceau, Puissant, Richon, & Fages, 2004) .

2.4.2 Principe de l'extraction par CO₂ supercritique

L'objectif est de faire circuler du CO₂ supercritique sous pression et température dans une matière, puis de décompenser pour récupérer l'extrait ou le contaminant (Camel, 1994) .

2.4.3 Avantages et inconvénients

L'extraction par fluide supercritique a remplacé diverses techniques classiques d'extraction liquide-solide telles que celles basées sur les procédés de macération, de percolation, de lixiviation, d'extraction accélérée par solvant, etc. Elle peut permettre une amélioration nette du rendement d'extraction et, compte tenu de la sélectivité du fluide supercritique, une amélioration significative de la pureté de l'extrait. Cependant, elle présente un certain nombre d'inconvénients, tant au niveau de la durée de l'opération, du coût et de la pollution de l'environnement (Melloul & Zehioua, 2023) .

Chapitre 4

Caractérisation des polysaccharides

1. Caractérisation biochimique des polysaccharides

Les polysaccharides ont été largement utilisés dans les industries pharmaceutiques et alimentaires en raison de leurs bio activités. Néanmoins, l'un des obstacles au développement et à l'utilisation des polysaccharides bioactifs est l'incapacité de la production, du criblage et de la synthèse de ces polysaccharides. La bio activité de ces derniers est influencée et déterminée par les caractéristiques structurelles, tel que le monosaccharide qui représente l'unité de base des polysaccharides (Wang et al., 2024).

1.1. Composition en monosaccharides

1.1.1. Monosaccharides (ou Oses) : Ce sont des glucides à chaîne carbonée non ramifiée qui ne peuvent pas être hydrolysés. Selon leur contenu en carbonyle, ils sont divisés en deux catégories : les aldoses (qui ont un groupement aldéhyde) et les cétooses (qui ont un groupement cétone) (Elie, 2022) .

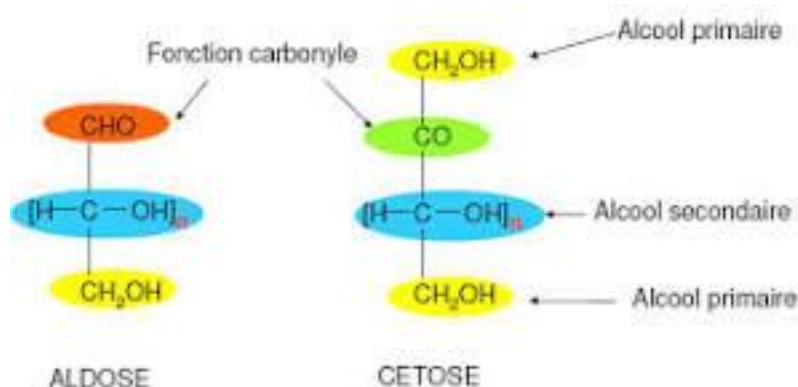


Figure 14 : Formes aldose et cétoose des monosaccharides (Elie, 2022) .

Ces deux formes se différencient par leur terminaison hémiacétalique, l'une portant la fonction aldéhyde, l'autre la fonction cétone. Qui sont représentées comme se suit :

- Aldose le plus simple : glycéraldéhyde $\text{HOC-CHOH-CH}_2\text{OH}$
- Cétoose le plus simple : dihydroxyacétone $\text{HOH}_2\text{C-CO-CH}_2\text{OH}$

Les monosaccharides sont aussi classés en familles selon le nombre d'atomes de carbone n qu'ils contiennent :

- $n = 3$: trioses
- $n = 4$: tétroses
- $n = 5$: pentoses
- $n = 6$: hexoses

Souvent on rencontre plusieurs difficultés pour analyser la composition en monosaccharides des polysaccharides ce qui résulte dans plusieurs aspects tels que :

- La complexité des Polysaccharides rend difficile la libération complète des monosaccharides
- Conditions d'hydrolyse peuvent conduire à la dégradation des monosaccharides libérés.

- Possibilité d'anomériser le monosaccharide.
- Les monosaccharides ont des structures similaires et beaucoup d'entre eux sont des épimères les uns des autres.

C'est pourquoi les scientifiques ont privilégié l'application des méthodes plus performantes pour l'analyse de la composition en monosaccharides. Un processus de base qui sera appliqué, en premier lieu, la libération maximale des monosaccharides, puis l'élucidation qualitative ou quantitative des monosaccharides libérés ou de leurs dérivés à l'aide de diverses méthodes de séparation et de détection, telles que la chromatographie en phase gazeuse (CPG), la chromatographie en couche mince (CCM) et la chromatographie en phase liquide (HPLC)..(Liu, Tang, Yin, Nie, & Xie, 2021) .

1.3 La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Il s'agit d'une méthode de chromatographie qui permet de faire la distinction entre des molécules d'un mélange gazeux qui peut être très complexe et de nature différente. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables. Elle se compose de trois composants : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur (Bouchonnet & Libong, 2004).

1.4 La chromatographie en couche mince (C.C.M)

La chromatographie sur couche mince, une technique de chromatographie planaire dont la phase mobile est liquide, permet de séparer et d'identifier les constituants d'un mélange, de suivre l'évolution d'une réaction et de déterminer la pureté d'une substance (Bele, Khale, & research, 2011) . C'est une méthode rapide, peu coûteuse qui est largement utilisée dans l'analyse pharmaceutique et cosmétique. Avant l'HPLC, elle a été utilisée comme méthode analytique préliminaire (Poole, 2003) .

1.5 La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

HPLC est l'acronyme pour « high performance liquid chromatography », ou en français « chromatographie en phase liquide à haute performance ». C'est une technique de séparation analytique de molécules constituant un mélange de composés en fonction de leur hydrophobicité. Pour des résultats plus précis et reproductibles.

L'HPLC est couplé à un système de détection UV et des pompes à pression pour une séparation plus rapide (Boudehenn & Gambier, 2011) .

La phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte (Snyder, Kirkland, & Dolan, 2011).

1.5. Réaction chimique

L'hydrolyse est la dégradation d'une molécule par ajout d'eau, dilution ou activité enzymatique. Il existe plusieurs types d'hydrolyse, notamment l'hydrolyse acide et l'hydrolyse enzymatique.

1.5.1 Hydrolyse acide

L'hydrolyse acide est un processus chimique dans lequel une liaison chimique est rompue par l'action de l'eau en présence d'un acide, il joue un rôle de catalyseur en facilitant la rupture de la liaison chimique. C'est une réaction couramment utilisée pour décomposer les composés complexes en leur sous unités ou monomères (Godin et al., 2011).

1.6 Type de liaisons

Les polysaccharides sont composés d'une série de monosaccharides reliés par des liaisons glycosidiques (Ruff, 2008) . La liaison glycosidique est une liaison covalente obtenue par réaction de condensation c'est-à-dire par formation d'eau H₂O entre :

- Le carbone anomérique de la fonction hémiacétalique transporte la fonction hydroxyle-OH (le carbone n°1 pour un aldose ou le carbone n°2 pour une cétose).
- Et l'hydrogène d'une autre molécule.

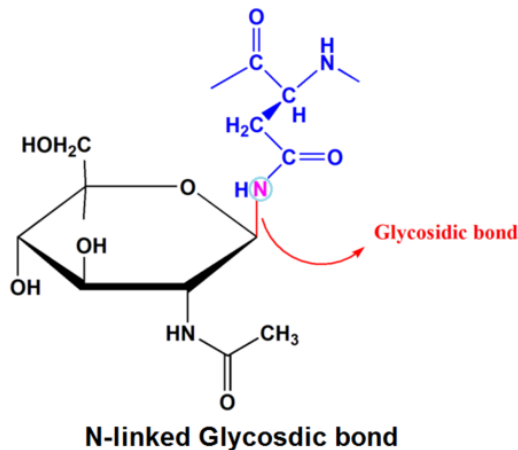


Figure 15 : une liaison glycosidique (Elie, 2022) .

2. Caractérisation biologique des polysaccharides

2.1. Activités biologiques des polysaccharides

Les PS possèdent de nombreuses activités biologiques et des propriétés pharmacologiques, quelle que soit leur origine (animale, végétale ou microbienne) en raison de leurs diversités structurales, chimiques et physiques, en particulier leurs effets sur la fonction immunitaire et leurs avantages potentiels pour la santé humaine (Chouana, 2017) .

2.1.1 Activité antioxydante

L'oxydation est un processus métabolique nécessaire dans de nombreux organismes vivants pour la production d'énergie nécessaire pendant les processus biologiques.

La production excessive de radicaux libres, comme le peroxyde d'hydrogène, le super oxyde et le radical hydroxyle, peut causer de nombreuses maladies, y compris la polyarthrite rhumatoïde, le diabète sucré, la maladie d'Alzheimer, la néphrite, le cancer et d'autres maladies liées au vieillissement (Oueslati, 2017).

Plusieurs auteurs suggèrent que différentes fractions d'*Aloe* peuvent avoir des effets antioxydants, comme la glutathion peroxydase et la super oxyde dismutase. Dans deux systèmes in vitro, le gel d'*Aloe* a montré un effet antioxydant dépendant de la dose (Eddine & Tarek, 2015).

2.1.2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un processus de défense contre les agressions externes ou les lésions cellulaires qui provoque la libération des médiateurs du système immunitaire (Li et al., 2019). Elle est considérée comme un facteur de risque permettant de développer ou d'aggraver de nombreuses maladies. Elle est considérée comme un facteur de risque qui peut provoquer de nombreuses maladies. Cette réaction est traitée par des anti inflammatoires, qui agissent de manière purement symptomatique (Scavo, 2020).

Ces dernières années, la recherche de PS bioactifs est devenue un point d'intérêt en raison de leurs propriétés pharmacologiques intéressantes telles que l'activité anti-inflammatoire, qui joue un rôle important dans l'inhibition de l'expression des chémokines. Selon (Brown et al., 2008). Les PS ont un effet inhibiteur sur l'adhérence des agents pathogènes microbiens aux cellules cibles telles que les cellules épithéliales gastriques, sans provoquer d'effets indésirables sur les bactéries bénéfiques et commerciales. De plus, l'activité anti-inflammatoire du mannose-6-phosphate ressemble aux effets observés pour le mannane acétylé dans le gel d'*Aloe*, qui réduit l'inflammation induite par les agents via la promotion de la synthèse des prostaglandines ainsi que l'infiltration accrue des leucocytes.

Les effets des extraits aqueux et éthanoliques du gel d'*Aloe brevisfolia* ont été testés sur l'œdème de la patte du rat et sur la migration des neutrophiles induite par Carraghénane (Benzinger et al., 2005). Les extraits aqueux ont un impact sur la formation d'œdème et ont diminué le nombre de neutrophiles migrants. L'extrait éthanolique n'a pas été efficace sur l'œdème, mais a réduit le nombre de neutrophiles migrants (Ludmir et al., 2019).

Matériels et méthodes

1. Cadre de l'étude

Toutes les expériences d'extraction, d'analyse et de caractérisation des polysaccharides de l'*Aloe brevifolia* ont été effectuées au sein du laboratoire de recherche en écologie, biotechnologie et santé à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques.

1.1 Extraction des polysaccharides végétaux

1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles d'*Aloe brevifolia*, qui ont été plantées en mois de novembre 2023 et récoltées en avril 2024 dans la région des Ouadhias, Tizi Ouzou. L'échantillonnage a été fait sur des feuilles matures, saines et de mêmes caractéristiques (longueur, couleur et stade de développement de 5 mois).

1.3. Matériel du laboratoire

Appareillages et matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">• Centrifugeuse• Agitateur magnétique• Etuve• Broyeur analytique• Réfrigérateur• Balance de précision• Spectrophotomètre• Plaques de CCM	<ul style="list-style-type: none">• Ethanol 96%• Ethanol absolu• Acide acétique• 1-Butanol• HCl• Sulfate d'ammonium• Méthanol• Dichlorométhane

1.4. Préparation du matériel végétal

4,38 kg des feuilles d'*Aloe brevifolia* sont nettoyées avec l'eau de robinet, broyées avec un broyeur électrique et filtrées avec une bande à gaz.



Figure 17 : Préparation du matériel végétal

2. Extraction solide-liquide

Ajouter 5L d'éthanol à la solution filtrée puis effectuer une agitation mécanique et stocker la solution à 4°C pendant une nuit. Après la précipitation, on obtient un surnageant et un culot des polysaccharides. Puis effectuer une centrifugation à 4000 *rpm* pendant 10 min.

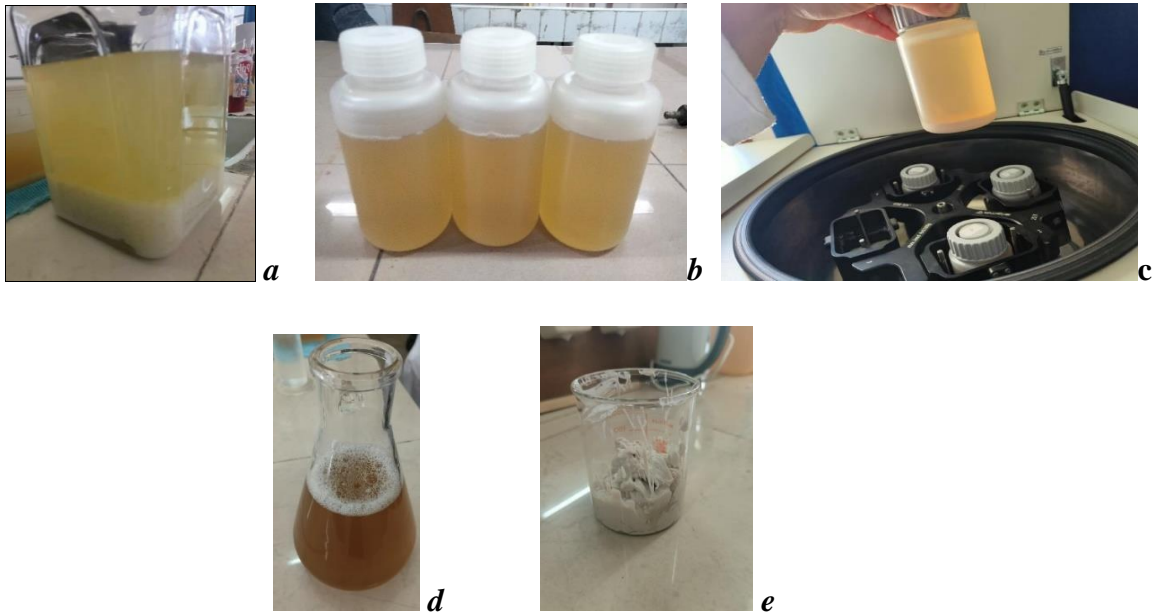


Figure 18 : Extraction solide-liquide. *a* : précipitation ethanologique, *b* et *c* : centrifugation, *d* : surnageant, *e* : culot.

3. Protocole TPP (Three Phase Partitioning)

3.1. Dénaturation des protéines avec l'acide acétique

La dénaturation des protéines se fait selon les étapes suivantes :

- Resolubilisation du culot obtenu après centrifugation dans une solution d'acide acétique 5%.
- Agitation magnétique jusqu'à obtention d'une solution limpide.
- Centrifuger à 2000 *rpm* pendant 10 min.

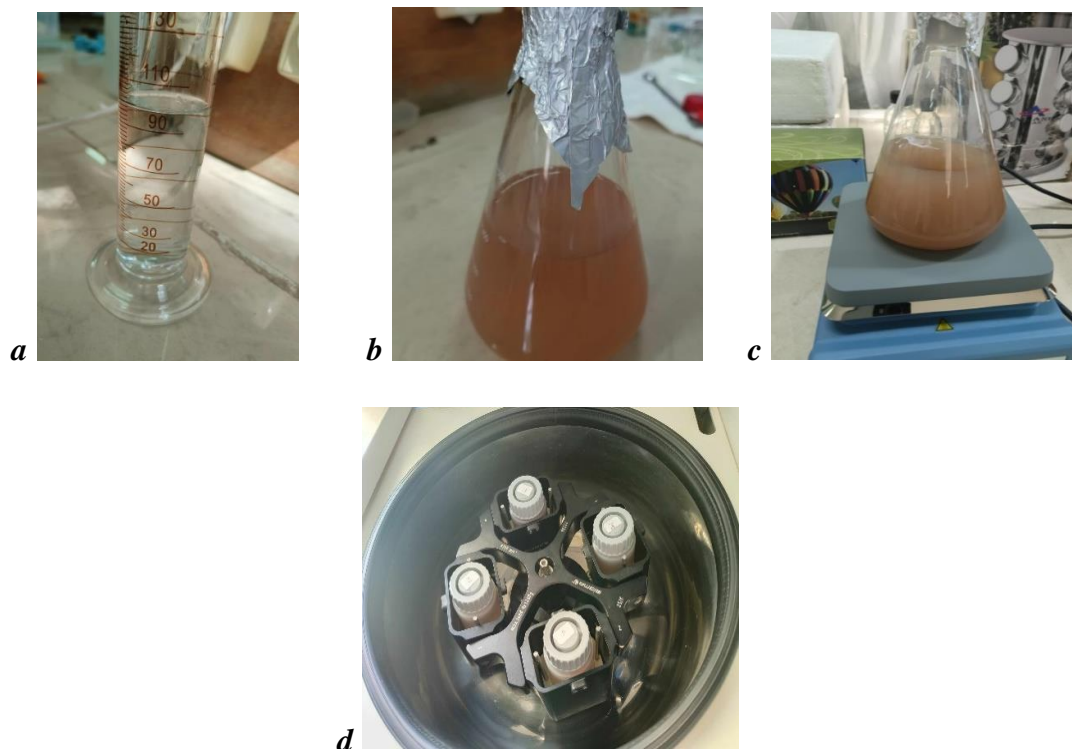


Figure 19 : Dénaturation des protéines avec l'acide acétique. *a*, *b* et *c* : dénaturation ; *d* : centrifugation.

3.2. Précipitation des protéines

76g de sulfate d'ammonium ont été ajoutés à 380mL de solution aqueuse des polysaccharides récupérés après la centrifugation. Ensuite, ajouter 100 mL de 1-butanol à la solution et effectuer une forte agitation mécanique dans un Erlenmeyer pendant 10 min. Enfin, centrifuger à 2000 rpm pendant 15 min et récupérer la phase aqueuse.

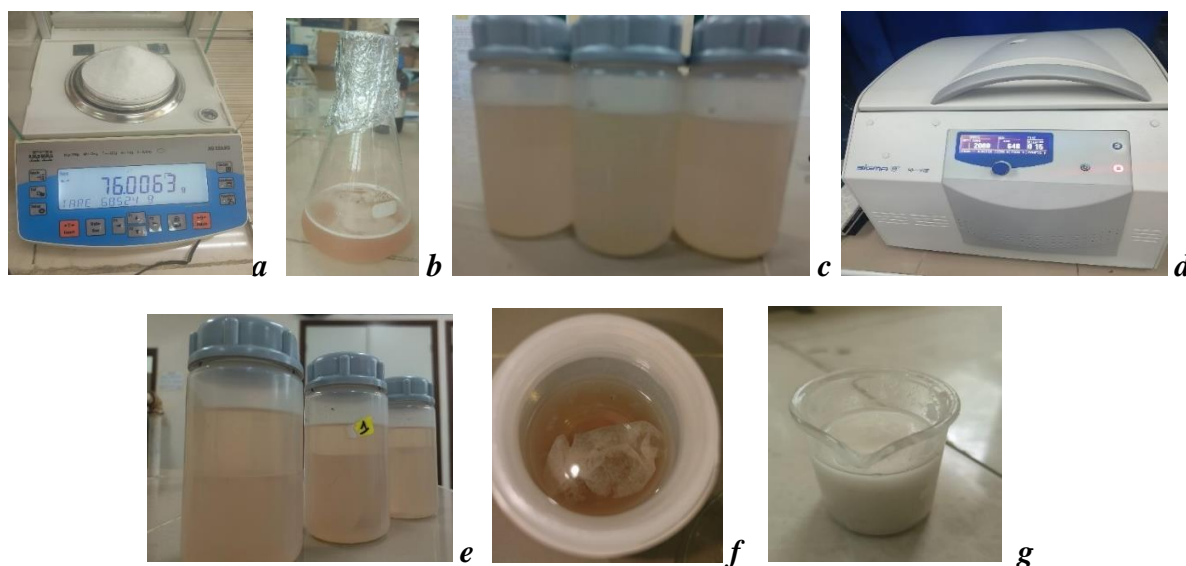


Figure 20 : Purification des polysaccharides avec la méthode de TPP

3.3. Récupération des polysaccharides

Ajouter 600 mL d'éthanol à 300 mL de la solution aqueuse récupérée précédemment. Après incubation toute la nuit à 4°C récupérer le surnageant et effectuer une centrifugation à 3000 rpm pendant 5 min. Etalement du culot sur un cristallisateur et sécher à 40°C dans l'étuve pendant 48h. Une fois séchés, les polysaccharides sont broyés avec un mortier et stocker dans des bouteilles hermétiques loin de l'humidité.

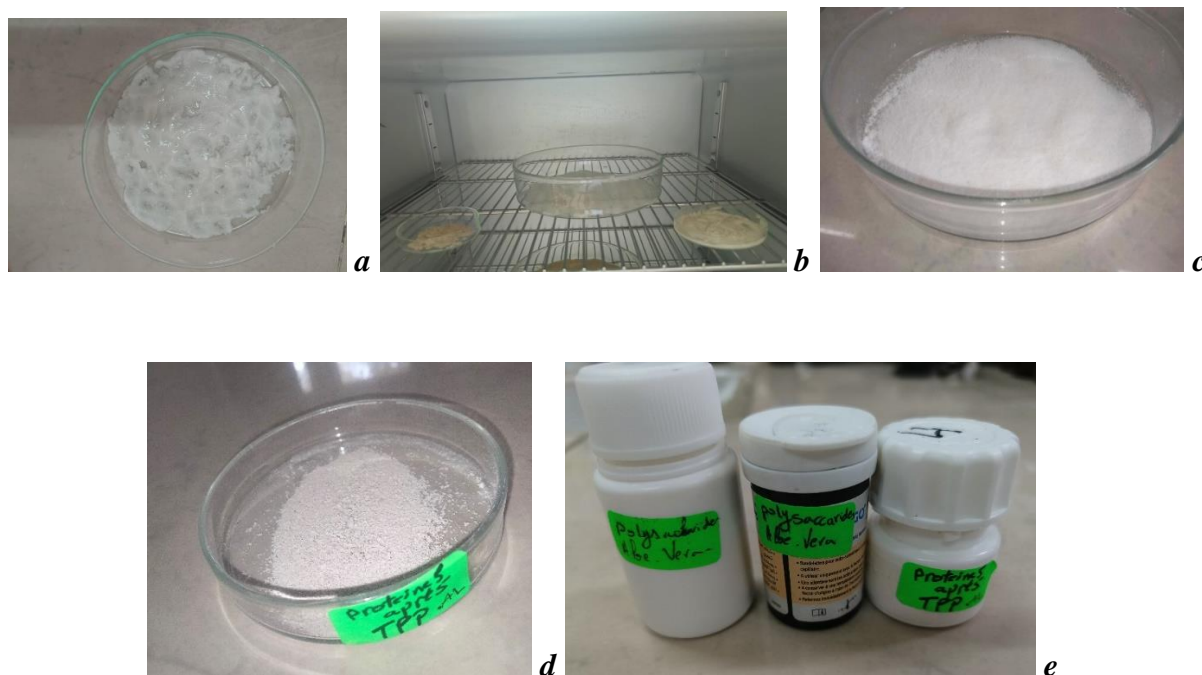


Figure 21 : séchage des polysaccharides

La figure 22 récapitule toutes les étapes suivies pour l'extraction solide-liquide des polysaccharides à partir des feuilles fraîches de l'*Aloe brevifolia*, ainsi que les étapes de précipitation éthanolique et de déprotéination et purification par le protocole TPP.

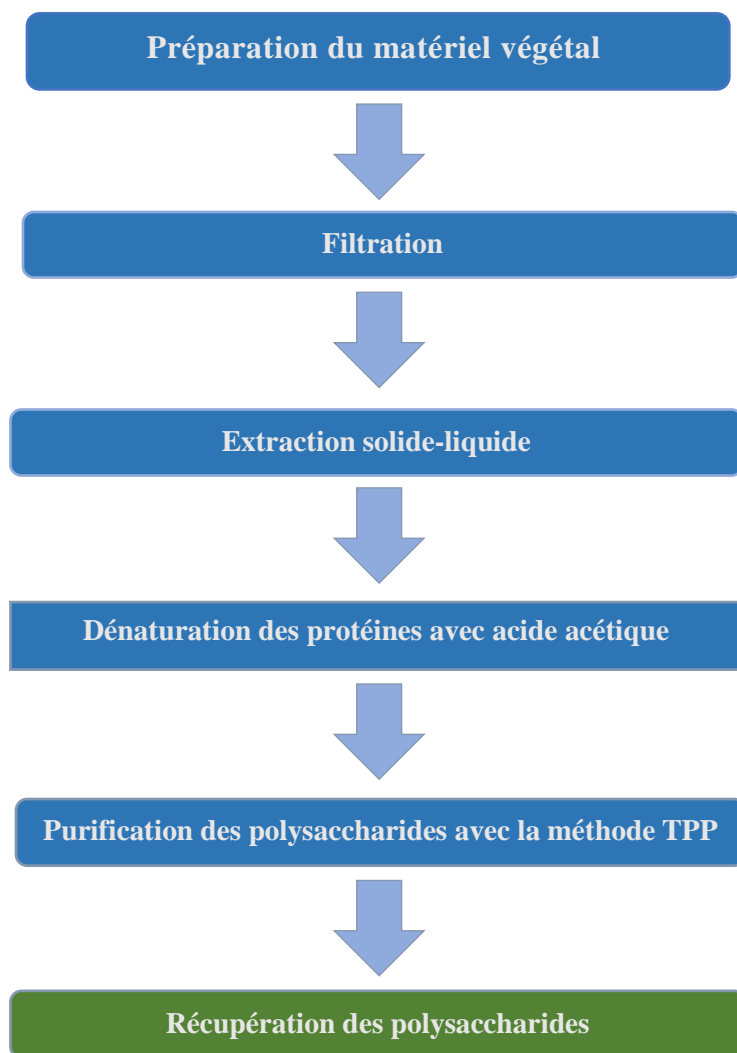


Figure 22 : Diagramme général résumant toutes les étapes d'extraction et de purification des polysaccharides.

4. Caractérisation physico-chimique des polysaccharides d'*Aloe brevifolia* (PAB)

4.1. Analyse spectroscopique par FTIR

Analyse infrarouge d'un échantillon d'origine biologique permet de révéler la présence de certains groupement fonctionnels caractéristiques. FTIR est une technique utile et fiable dans l'analyse d'une grande diversité dans différents secteurs industriels , elle fournit des information sur les caractéristiques structurales d'un large éventail de composés , ses principaux avantages incluent la vitesse de réponse , un degré élevée d'automatisation , une bonne résolution, le respect de l'environnement (Servant, Le Bourdon, & Buffeteau, 2011).

4.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Dans la CCM, les divers constituants d'un mélange migrent le long d'une couche mince à des vitesses différentes, permettant ainsi leur séparation. Ce phénomène utilise la différence de polarité entre les substances qui constituent le mélange, vis à vis de deux phases non miscibles. L'une est la phase stationnaire (gel de silice), l'autre est la phase mobile (éluant) qui entraîne les substances le long de la phase stationnaire (Leila, Nacer-Eddine, Gérard, & Marguerite, 2018). Dans notre étude, l'objectif est de déterminer la composition monosaccharidique d'un polysaccharide, on procède à son hydrolyse acide.

4.2.1. Optimisation des protocoles hydrolyse acide suivie par CCM

4.2.1.1. Solvolyse acide

- Une solution de HCl-méthanolique à 3M a été préparée ; Prendre 25ml d'acide chlorhydrique dans 75ml méthanol
- Un échantillon de 50mg des polysaccharides hydrosolubles issus des feuilles d'*Aloe brevifolia* est hydrolysé par 2,5ml d'acide chlorhydrique HCl-méthanolique à 3M à 130°C pendant 10h dans des tubes à essai fermés dans un four pasteur.

4.2.1.2. Hydrolyse acide

- Une solution de HCl à 20% (v/v) a été préparée en mettant 20 ml d'acide chlorhydrique à 37 % dans 17 ml d'eau distillée.
- Prendre 10 mg d'extrait polysaccharidique d'*Aloe brevifolia* et le dissoudre dans 1 ml d'eau distillée et ajouter 1ml d HCl à 20 % à 200°C pendant 2h dans des tubes à essai hermétiquement fermés dans un four pasteur.

Ensuite, les échantillons sont refroidis dans un bain de glace afin d'arrêter la réaction. Une fois l'hydrolyse effectuée, l'acide est évaporé et les monosaccharides libérés sont analysés par chromatographie sur couche mince CCM.



Figure 23 : Etapes de la dégradation acide par solvolysse et hydrolyse. *a* : solution de HCl ; *b* : dégradation acide des échantillons ; *c* : traitement thermique ; *d* : bain de glace.

4.2.1.3. Chromatographie sur couche mince CCM

- **Préparation des solutions standards des monosaccharides**

4mg de chaque ose, le D-mannose, D-xylose, D-galactose, L-rhamnose, L- arabinose, D-glucose, D-fructose et d'acide glucuronique est dissous dans 1ml d'eau distillée.



Figure 24 : solutions standards de monosaccharides

- **Type de plaque**

Ce sont des plaques prêtes à l'emploi, de gel de silice (TLC silica gel 60G F254) (made in Germany) de 0,25 mm d'épaisseur sur une plaque en verre.

- **Préparation des phases mobiles**

Préparation de trois éluants de 100 ml à base de polarités différentes :

Éluent 1 : méthanol, acide acétique, N-butanol, dichlorométhane (1/1/3/5).

Éluent 2 : méthanol, acide acétique, N-butanol, dichlorométhane (2/1/3/1).

Éluant 3 : méthanol, acide acétique, N-butanol, eau distillée (2/1/3/1).

- **Développement des plaques CCM et leur révélation**

Dans un premier stade, on vérifie qualitativement la composition en oses des hydrolysats en déposant en parallèle ; sur la même plaque une série des étalons : D-mannose, D-xylose, D-galactose, L-rhamnose, L-arabinose, D-glucose D-fructose et acide glucuronique ainsi la solution d'hydrolysate issu de l'échantillon

A 2,5cm du bas de la plaque, on dépose à intervalles réguliers chaque solution des oses standards ainsi hydrolysats à l'aide d'un capillaire, on introduit la plaque dans une cuve étanche dont 1cm du bas saturé par le mélange de l'éluant.

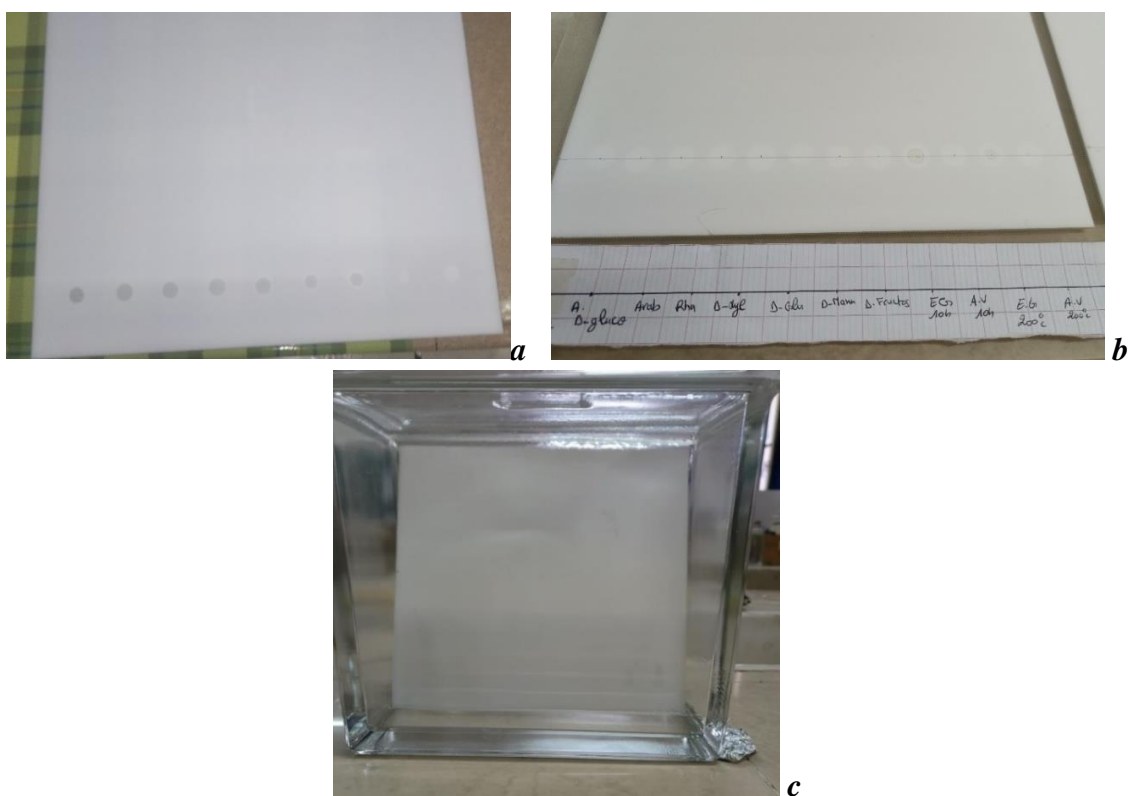


Figure 25 : Etapes de la CCM. *a* : dépôt des standards et des échantillons ; *b* : séchage ; *c* : développement.

La migration du chromatogramme est effectuée de façon ascendante jusqu'à ce que le front du solvant atteigne 2cm du bord supérieur de la plaque. Après séchage, la révélation du chromatogramme est faite par pulvérisation par une solution du phénol-acide-sulfurique (2 g phénol dissout dans 3 ml d'acide sulfurique 97 % et 50 ml d'éthanol absolu 99 %).

Le rapport frontal (RF) est calculé pour chaque constituant :

$$RF = \frac{\text{distance parcourue par le composé}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$

La distance parcourue par le composé est calculée à partir du niveau de déposition jusqu'au centre de la tache, tandis que la distance parcourue par l'éluant est calculée à partir du niveau de déposition de l'échantillon jusqu'au front de l'éluant, marqué à la fin de l'élution.

➤ Les étapes de réalisation CCM sont récapitulées dans le diagramme de la figure 26 :

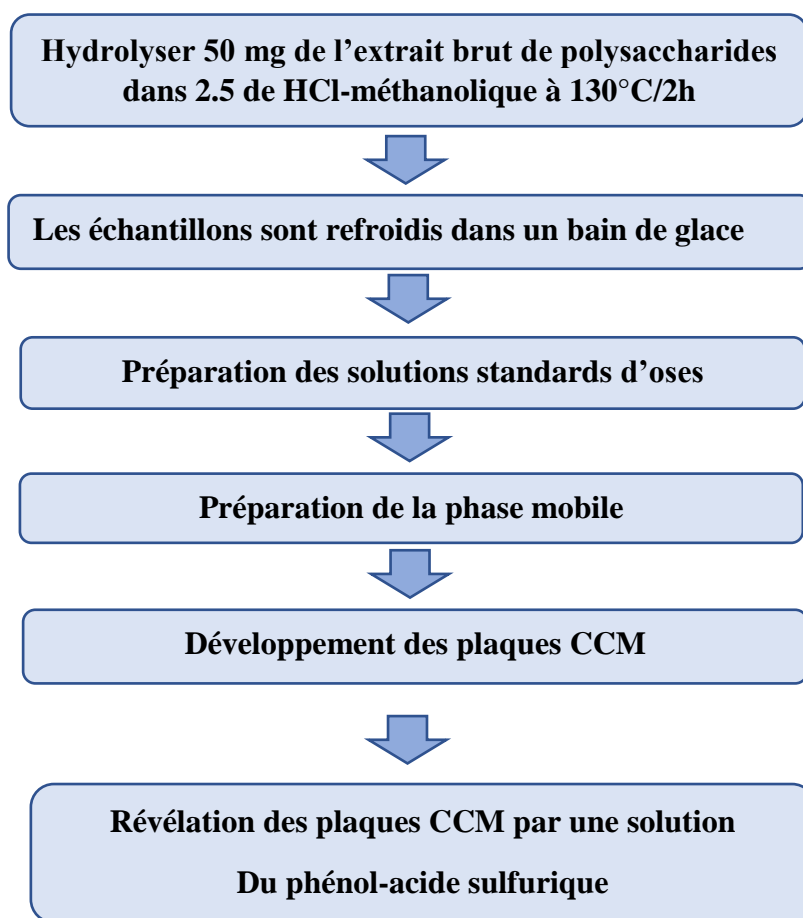


Figure 26 : Diagramme récapitulatif de l'ordre des étapes de la CCM

5. Dosages colorimétriques

5.1. Matériel du laboratoire

Appareillages	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">• Lecteur microplaques• Spectrophotomètre UV-VIS• Vortex• Four pasteur	<ul style="list-style-type: none">• Acide sulfurique concentré• Phénol 5%• Réactif de Bradford• Sérum Albumine Bovine (SAB)• Bleu de Coomassie• Ethanol• Acide phosphorique• Eau distillé

5.2. Dosage des sucres totaux avec la méthode phénol acide-sulfurique

Le dosage des sucres totaux est fait par la méthode de phénol-acide sulfurique élaborée par Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers, and Smith (1951). Notre protocole modifié est inspiré des travaux de Masuko et al. (2005) et de Lefsih (2017). Il comprend les étapes suivantes :

- Préparation de la solution du phénol 5% contenant 5 mg phénol dans 100 ml d'eau distillée.
- Préparation de la gamme d'étalonnage à partir d'une solution de D-glucose à 200 mg/ml (1 mg du D-glucose dans 5 ml d'eau distillée).
- Réaliser une série de dilution $\frac{1}{2}$
- Préparation de la solution mère de l'échantillon concentré à 200mg/ml, (prendre 1 mg de poudre polysaccharidique d'*Aloe brevifolia* dans 5 ml d'eau distillée et effectuer une série de dilution $\frac{1}{2}$).
- Prendre 500 μ l de chaque dilution, ajouter 300 μ l du phénol 5% et 1.5 ml d'acide sulfurique.
- Vortex les échantillons pour bien homogénéiser .
- Incuber les tubes dans un four pasteur à 90°C pendant 5 min.
- Après l'incubation, retirer les tubes et laissez refroidir dans bain de glace afin d'arrêter la réaction.
- Prendre 200 μ l des solutions réactionnelles dans les puits de la microplaque
- Mesurer l'absorbance à 490 nm.

➤ Ces étapes sont récapitulées dans le diagramme de la figure 27 :

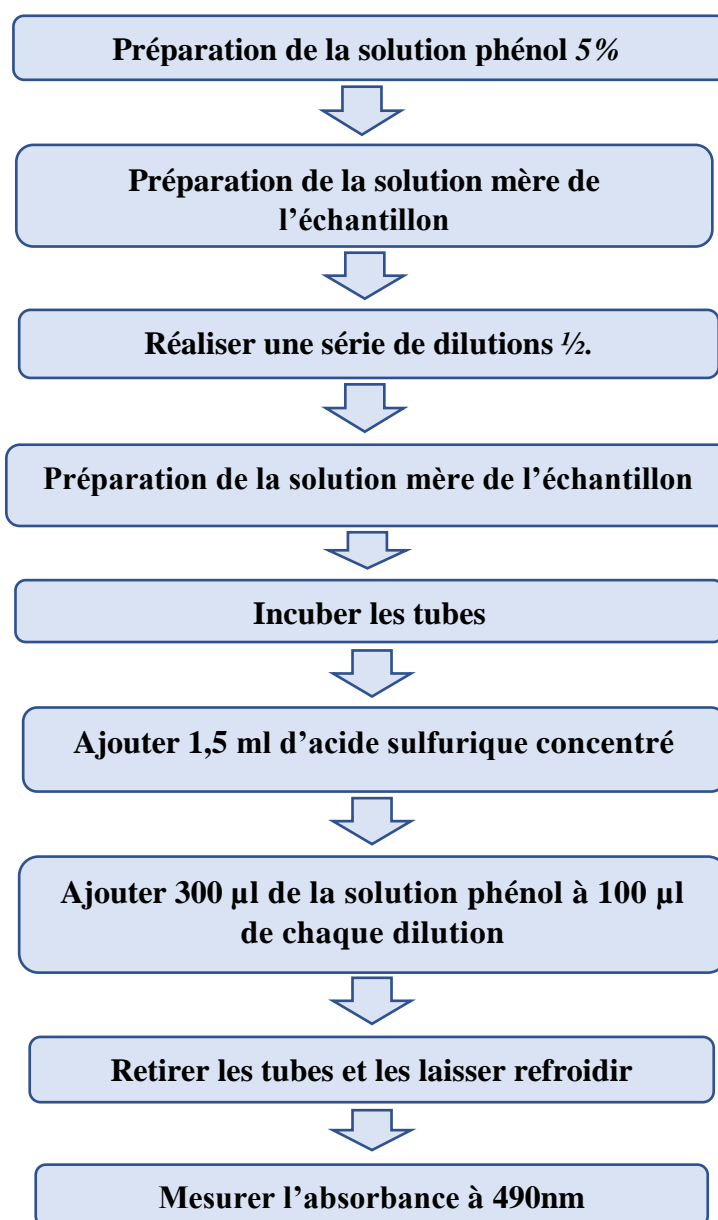


Figure 27 : Diagramme de dosage des sucres totaux par la méthode de phénol-acide sulfurique.

5.3. Le dosage des protéines par la méthode de Bradford

La teneur en protéines dans les extraits polysaccharidiques est mesurée par la méthode de Bradford (1976). Cette technique utilise du bleu de Coomassie qui a la propriété de s'adsorber sur les protéines. Cette adsorption s'accompagne d'une modification du spectre d'absorption de la molécule qui est décalé vers le bleu à 595 nm. Le développement de la couleur bleu est associé à la présence de certains acides aminés basiques tels que l'arginine, la lysine et l'histidine dans la structure protéique (Bocquené & Galgani, 2004).

5.3.1. Préparation du réactif de Bradford

Dissoudre 5 mg du Bleu de Coomassie G-250 dans 2,5 ml d'éthanol à 96%, puis mélanger la solution avec 5 ml d'acide phosphorique à 85%, et remplir avec de l'eau distillé jusqu'à 50mL. Filtrer la solution avec du papier filtre et conserver dans une bouteille à température de 4°C à l'obscurité.

5.3.2. Préparation de gamme d'étalonnage avec l'albumine sérique bovine (BSA)

Préparation de la solution mère de BSA à 2 mg/ml dans un tube à essai. Réaliser une série de dilution $\frac{1}{2}$ à partir de cette dernière (2 ; 1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.125 ; 0.0625 mg/ml). Ajouter 100 μ l d'eau distillée pour chaque dilution.

5.3.3. Préparation des étalons de l'échantillon

Préparation des solutions mère de 80mg/ml de la poudre des polysaccharides d'*Aloe breviafolia*. Réaliser une série des dilutions $\frac{1}{2}$ à partir de la solution mère (80 ; 40 ; 20 ; 10 ; 5 ; 2,5 mg/ml). 100ul d'eau distillée ont été ajoutés pour chaque dilution.

5.3.4. Dilution du réactif de Bradford

On suivant le ratio 1/5 (10 ml de la solution Bradford dans 50 ml d'eau distillé). 2ml de ce réactif de Bradford sont ajoutés pour chaque dilution de la gamme d'étalonnage BSA ainsi pour l'échantillon.

5.3.5. Mesure des absorbances

Laisser les solutions pendant 5 minutes à température ambiante, ensuite mesurer l'absorbance à 595 nm et tracer la courbe d'étalonnage.

➤ Ces étapes sont récapitulées dans le diagramme de la figure 28 :

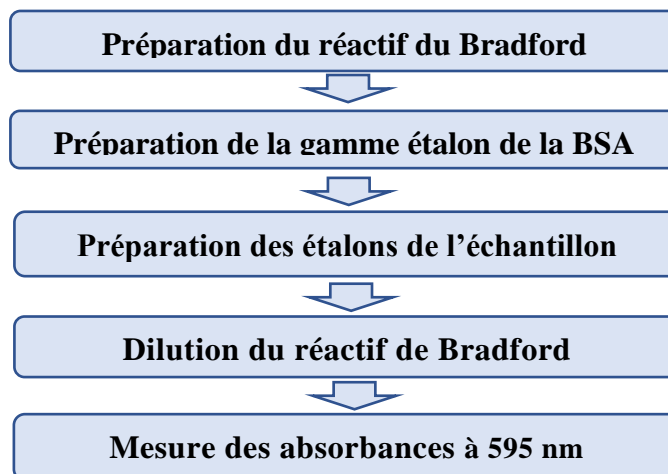


Figure 28 : Dosage des protéines par la méthode de Bradford

6. Détermination du taux de cendres

6.1. Principe

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon. Chaque échantillon est calciné à 500°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

6.2. Mode opératoire

Le taux de cendre de notre matière végétale est effectué conformément au protocole proposée par. Il comprend les étapes suivantes :

- Dans des creusets en porcelaine, peser 2g de feuilles fraîches d'*Aloe brevifolia* ;
- Placer les creusets dans un four à moufle à 500°C pendant 3 heures ;
- Retirer les creusets du four et les mettre à refroidir dans un dessiccateur puis les peser.

La teneur en cendres est calculée selon la formule suivante :

$$Mo (\%) = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

M_1 : masse initiale ; m_2 : masse de cendre produite.

$$Mo (\%) = \frac{0,06049}{2} 100 = 3,02 \%$$



a : 2g d'échantillon dans un creuset

b : four à moufle

Figure 29 : étapes de détermination du taux de cendres

7. Activité antioxydante du polysaccharide extrait

7.1. Matériels du laboratoire

Appareillage	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> Ethanol absolue DPPH Acide Ascorbique Eau distillée

7.2. Test DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) permet de mesurer le pouvoir anti-radicalaire des molécules pures ou des extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). En général, il mesure la capacité d'un antioxydant (AH) à réduire le radical chimique DPPH en transférant un hydrogène. Le DPPH d'abord violet, passe au DPPH-H jaune pâle (Merouane, Noui, Ali, Saadi, & sciences, 2014).

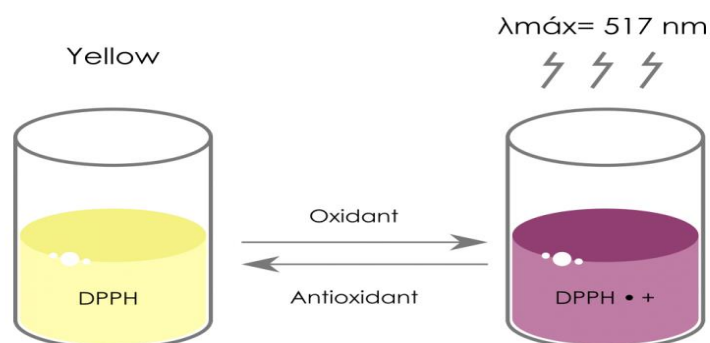


Figure 30 : principe de la réaction du DPPH

7.2.1. Préparation des solutions

DPPH de 0,1mM : 4mg de DPPH ont été ajoutés à 100ml d'éthanol absolue (99%)

L'échantillon polysaccharidique :

- Peser 96mg de la poudre polysaccharidique à dissoudre dans 3ml d'eau distillée équivalent de 32mg/ml
- Réaliser une série de dilution $\frac{1}{2}$ (16 ; 8 ; 4 ; 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,0625 ; 0,03125 ; 0,0156 ; 0,008 mg/ml)
- Prendre 2ml de solution échantillon de chaque dilution en ajoutant 1ml DPPH

Acide Ascorbique :

- Acide Ascorbique utilisé comme témoin positif (effectuer les mêmes étapes que l'échantillon).

Mesurer l'absorbance à 517 nm et calcule du pourcentage DPPH selon la formule suivante :

$$\text{DPPH résiduel (\%)} = \frac{AS}{AC} \times 10$$

As : absorbance échantillon ; **Ac** : absorbance contrôle (dpph)

- Les étapes du dosage de l'activité antioxydante par la méthode DPPH sont récapitulées dans le diagramme de la figure 31 :

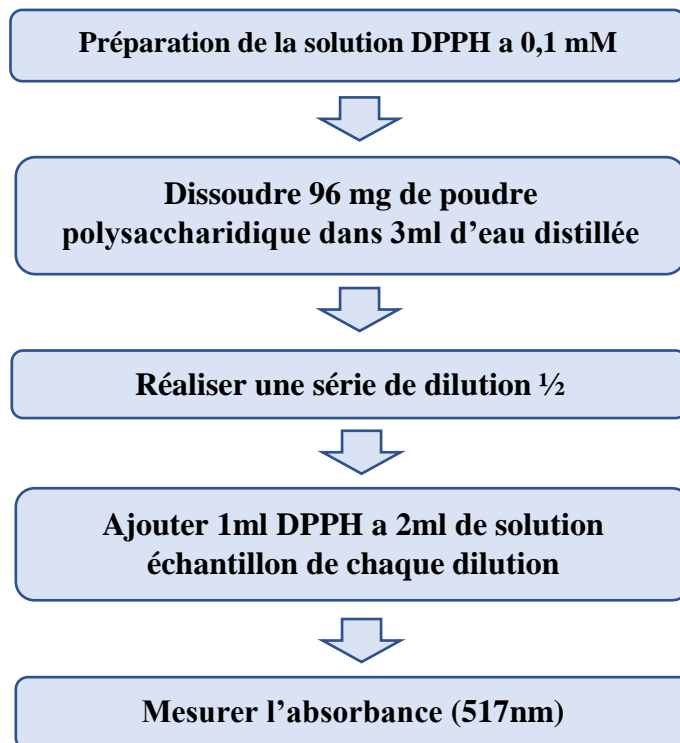


Figure 31 : Dosage de l'activité anti-radicalaire par la méthode au DPPH

Résultats et discussion

Au terme de cette étude nous avons constatés différents résultats apparaissent à travers nos expérimentations relatives à l'extraction, purification et caractérisation des polysaccharides à base d'*Aloe brevifolia*.

1. Analyse spectroscopique FTIR

Les résultats obtenus révèlent l'observation des signaux à 1727 cm^{-1} mettent en évidence la présence des groupements carboxylates ester C=O d'origine polysaccharidique (pectines) (Szymanska-Chargot & Zdunek, 2013). De plus un pique observé à 1661 cm^{-1} qui correspond au groupement carboxyl estérifié d'origine pectique (Lammers, Arbuckle-Keil, Dighton, & Biochemistry, 2009).

De même, un pique de vibration moyen observé à 1408 cm^{-1} correspond plus spécifiquement au groupement carboxyl libre COOH des pectines. Ensuite, un pique intense à 1066 cm^{-1} est attribué aux vibrations des liaisons C-O-C du cycle glycosidique comme rapporté dans la littérature scientifique (Szymanska-Chargot & Zdunek, 2013).

Enfin, nous avons observé quelques signaux aux alentours de 609 cm^{-1} sont attribués à la déformation des liaisons S-O correspond au résidus des sulfates d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ utilisé pour la précipitation des protéines dans le protocole TPP (Lammers et al., 2009).

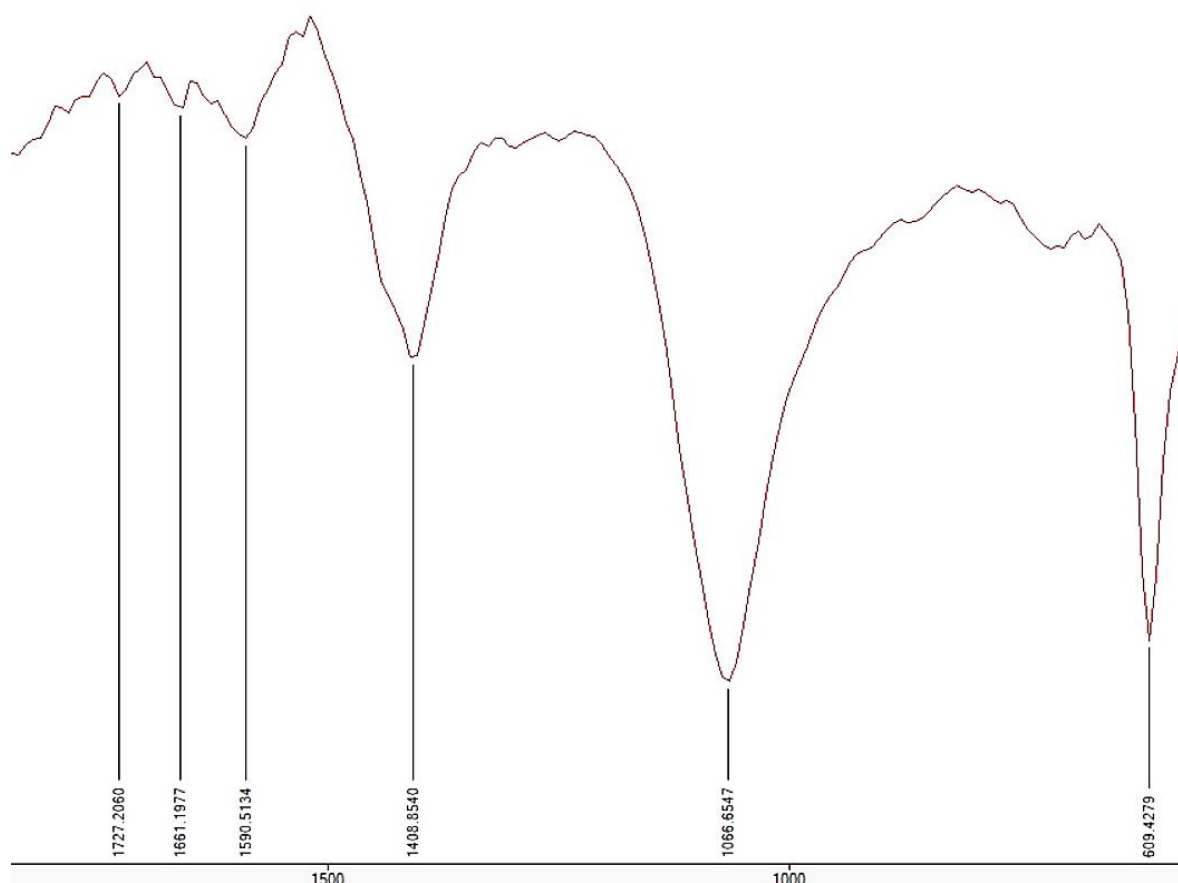


Figure 32: Spectre FTIR des polysaccharides d'*Aloe brevifolia*

Le tableau 5 récapitule l'ensemble des principaux pics observés dans notre extrait polysaccharidique et leur identification en correspondance avec les pics déjà rapportés dans la littérature scientifique. En conclusion, on peut dire que notre extrait polysaccharidique est de nature pectique estérifiée.

Tableau 5 : Les principaux pics des polysaccharides d'*Aloe brevifolia*

Piques observés (nm)	Piques dans la littérature (nm)	Groupe ment fonctionnel	Origine
609	580 – 670	Déformation S-O	• Résidus Sulfate d'ammonium
1066	1065	Liaison C-O-C	• Hémicellulose
1408	1410	COOH libre	• Carboxylate ester pectine
1661	1640 – 1680	Carboxyl estérifié	• Pectine
1727	1727 – 1740	Ester C=O	• Pectine

2. Chromatographie sur couche mince CCM

Les résultats de plusieurs essais d'optimisation de la CCM sous des conditions différentes d'hydrolyse et d'élution sont représentés par les plaques 1, 2 et 3 de la Figure 33. La plaque 4 de la même figure montre que l'hydrolyse a été bien effectuée sous les différentes conditions d'hydrolyse. Cela est démontré par la présence des spots blancs sur la plaque 4.

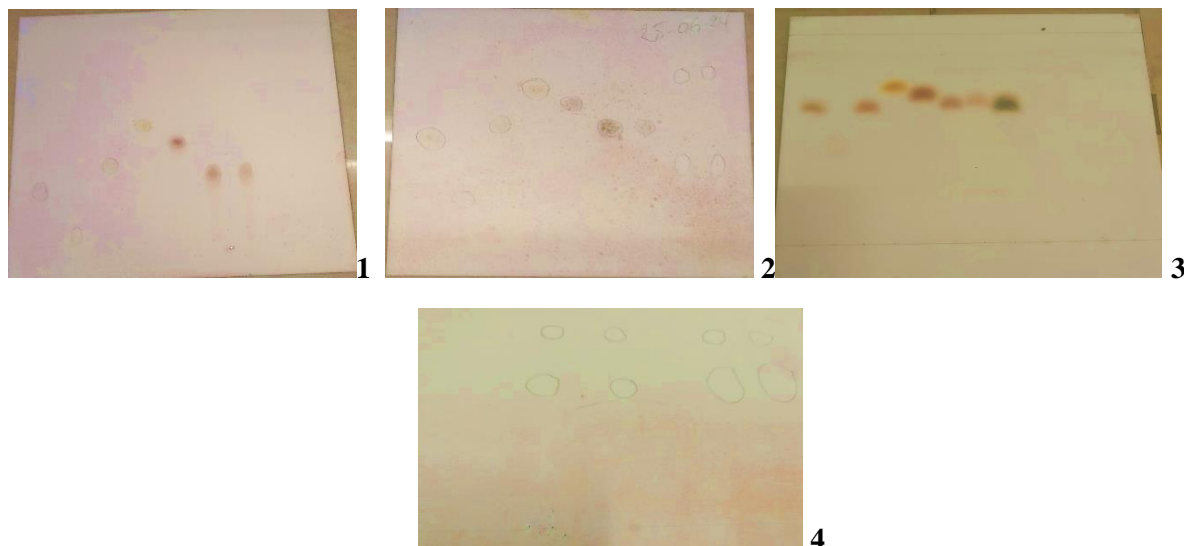


Figure 33 : CCM sous différentes conditions d'hydrolyse et d'élution. **1** : hydrolyse A éluant 1 ; **2** : hydrolyse B éluant 2 ; **3** : hydrolyse B éluant 3 ; **4** : hydrolyse A et B. (A : HCl à 3M, à 130°C/10h ; B : HCl à 20%, à 200°C/ 2h).

Le tableau 6 résume toutes les conditions d'hydrolyse et d'élution utilisées pour optimiser la séparation et la détection des spots monosaccharidiques des standards et ceux constitutifs de notre extrait.

Tableau 6 : les différentes conditions d'hydrolyse et d'élution utilisée pour réaliser la CCM

Plaques	Type d'hydrolyse	Éluant	Solution de révélation	Résultats (présence ou absence de spots).
Plaque 1	HCl à 3M, à 130°C/10h	Éluant 1 : méthanol, acide acétique, N-butanol, dichlorométhane (1/1/3/5).	Phénol-acide sulfurique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Standards : Présence ▪ Echantillons : absence
Plaque 2	HCl à 20%, à 200°C /2h	Éluant 2 : méthanol, acide acétique, N-butanol, dichlorométhane (2/1/3/1).	Phénol-acide sulfurique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Standards : Présence ▪ Echantillons : présence

Plaque 3	HCl à 20%, à 200°C/ 2h	Eluant 3 : méthanol, acide acétique, N-butanol, eau distillée (2/1/3/1).	Phénol-acide sulfurique	<ul style="list-style-type: none">▪ Standards : présence▪ Echantillons : présence
-----------------	------------------------	---	-------------------------	--

La plaque 1 : la migration entraînée par l'éluant 1 a donné une séparation de la totalité des standards mis à part celui de l'acide glucuronique et ceci est dû à sa polarité élevée conférée par le groupement COOH. Par contre les spots correspondant à l'échantillon n'ont pas été révélés est ceci est due probablement aux hypothèses suivantes :

- La faible concentration déposée sur la plaque
- La non migration de leurs acides uroniques constitutifs.

La plaque 2 : l'éluant 2 a effectué une bonne migration de standards et des échantillons. Les spots blancs de l'échantillon correspondent, respectivement, au rhamnose et à l'acide uronique, cela peut être expliqué par la présence des groupements qui n'interagissent pas avec la solution de révélation, éventuellement le groupement acétyle ou amine (Kurzyrna-Szklarek, Cybulska, & Zdunek, 2022). Par contre, le standard d'acide glucuronique a bien migré cette fois en raison de l'augmentation de la polarité de l'éluant 2. Cependant, contre le rhamnose a parcouru une distance de migration plus importante en raison de la présence du groupement méthyle CH₃ qui est moins polaire donc l'attachement de ce sucre avec le gel de silice est moins important.

La plaque 3 : le remplacement du volume de dichlorométhane par l'eau dans l'éluant 3 a contribué à une migration des standards beaucoup plus importante, mais une séparation moins remarquable des spots.

On peut donc conclure que :

- Les deux protocoles d'hydrolyses ont donné le même profil de séparation des sucres, mais l'hydrolyse à 200°C/2 h est idéale (augmenter de température pour gagner du temps).
- Pour la phase mobile l'éluant 2 est l'idéal compte tenu de la résolution élevée dans la séparation des spots, donc leur identification rapide.

3. Dosages colorimétriques

3.1. Dosage des sucres totaux avec la méthode phénol-acide sulfurique

Pour déterminer la concentration en sucres totaux présents dans notre extrait polysaccharidique, il faut établir une courbe étalon. La concentration en sucres totaux est exprimée en équivalents glucose.

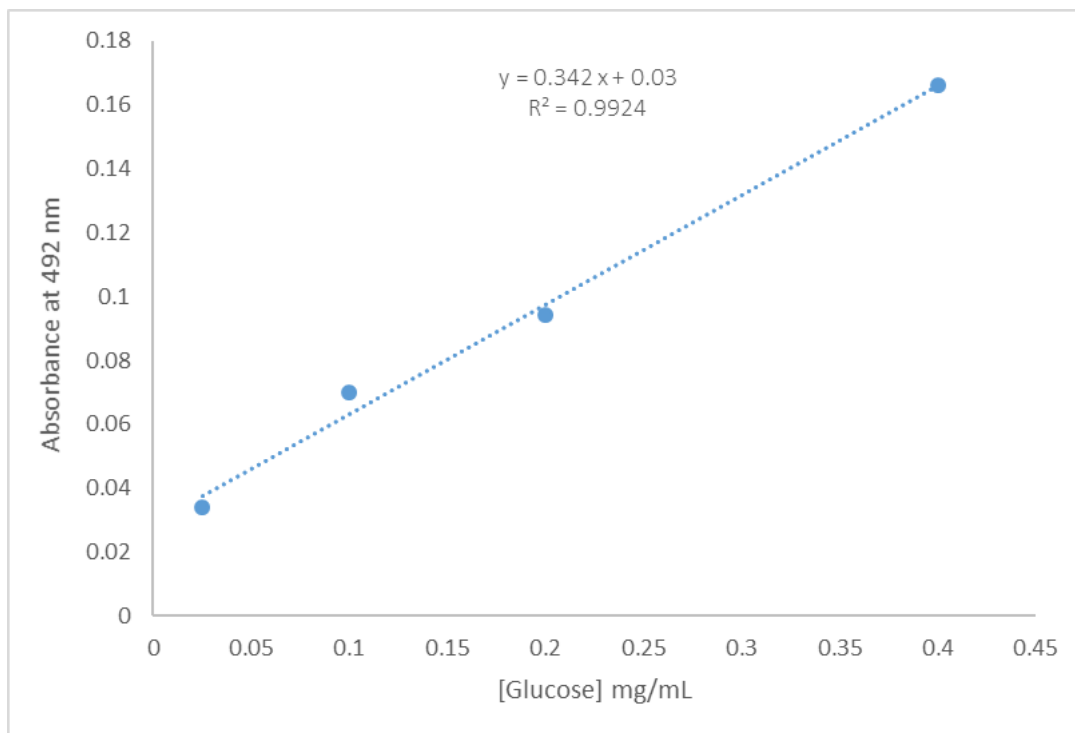


Figure 34 : courbe d'absorbance de la gamme du glucose

La DO de l'extrait polysaccharidique (0.1 mg/mL) est de 0.061, elle correspond à une concentration de 0.0906 mg/ml. Donc dans un échantillon de 0.1 mg on a 0.0906 mg de sucres totaux. Cela correspond à un pourcentage de **90.6 %** de sucres totaux équivalents glucose.

La teneur en sucres totaux a été estimée à **90.60 %** du poids total de l'extrait brut polysaccharidique d'*Aloe brevifolia*. Cette teneur est supérieure à celle retrouvée par [Femenia, Sánchez, Simal, and Rosselló \(1999\)](#) soit **82 %** menée sur la fraction des polysaccharides des feuilles d'*Aloe Vera*, une étude sur la même espèce décrit par [\(Piña et al., 2017\)](#), note un pourcentage inférieur à **50%** en teneur en sucres totaux. On suggère que la différence des pourcentages pour la même espèce est due peut-être au : protocoles d'extraction, manipulation suivie, la localisation géographique et l'âge de cette dernière, la saison de récolte l'ensoleillement et l'humidité, le type de sol et la météorologie peuvent aussi influencer sur la variation de la teneur en sucres.

Ces pourcentages sont aussi supérieur à celui décrit par [Mannai et al. \(2024\)](#), portée sur les feuilles d'une autre espèce succulente d'*opuntia ficus indica* ou le taux de sucre est à **51.30 %**. Cette différence de pourcentage peut être due à la différence d'espèces ou autrement dit, la différence de composition chimique de chaque plante : l'*Aloe brevifolia* riche en sucres par contre *opuntia ficus indica* riche en polyphénols et pauvre en sucres.

3.2. Le dosage des protéines par la méthode de Bradford

Pour déterminer la concentration en protéines présents dans notre extrait polysaccharidique, il faut établir une courbe d'étalon. La concentration en protéines est exprimée en équivalents BSA.

Tableau 7 : La gamme de sérum albumine bovine (BSA).

[BSA] mg/ml	DO à 595nm	
0.06	0.377	
0.03	0.305	
0.02	0.216	
0.01	0.135	
Echantillon	[C] (mg/ml)	DO (595 nm)
A.brevifolia	80	0.596

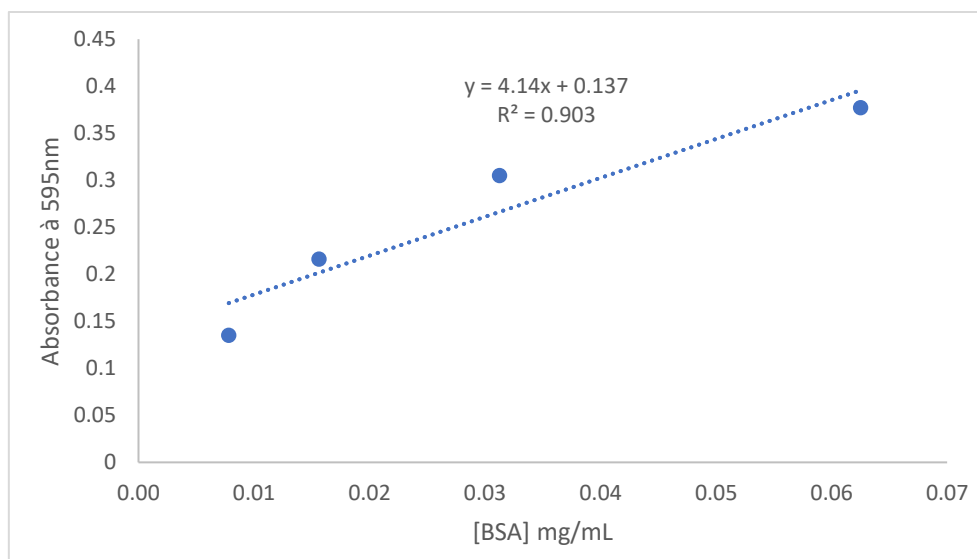


Figure 35 : courbe d'absorbance de la gamme de sérum albumine bovine (BSA).

Dans 80 mg de l'extrait d'*Aloe brevifolia*, on a **0.110 mg** de protéines ce qui correspond à un pourcentage de **0.13 %**.

Le taux de protéines mesuré a été de **0.13 %** du poids total de l'extrait polysaccharidique des feuilles d'*Aloe brevifolia*. Cette teneur est faible par rapport aux teneurs notées par [Femenia et al. \(1999\)](#), qui ont étudié la fraction des polysaccharides issus des feuilles d'*Aloe Vera*. Sur la même espèce, [Iboukhoulef and Lardjane \(2017\)](#) ont trouvé une teneur de **2.85 %**. Le travail de [Mannai et al. \(2024\)](#) sur les feuilles d'*Opuntia ficus indica* a révélé un taux de protéines estimé

0.3 %. Les différentes teneurs en protéines proviennent de l'efficacité du processus de déproteination ainsi le test de Bradford.

Donc on peut conclure que cette faible teneur en protéines **0,13%** de l'extrait polysaccharidique des feuilles d *aloe brevifolia* est attribuée à l'absence des pics des protéines sur le spectre de l'analyse spectroscopique FTIR, ce qui confirme et justifie l'efficacité du processus de déproteination effectuée par la méthode de TPP lors de l'extraction

Les protéines restent présentes avec un taux de 0,13% même après avoir effectué la déproteination est expliquée par la présence de glycoprotéines qui présentent la particularité de posséder des petites chaînes d'oligosaccharides liées de manière covalente à leurs acides aminés.

4. L'activité anti-oxydante

L'estimation de l'activité anti oxydante est exprimée par la valeur du pourcentage du DPPH résiduel calculé à l'aide de la formule suivante :

$$DPPH\% = \frac{AS}{AC} \times 100$$

AS : absorbance de la solution en présence de l'extrait

AC : absorbance du blanc analytique (contrôle)

❖ Echantillon

Concentration mg/mL	DO	DPPH résiduel
0.125	0.077	18.644
0.0625	0.098	23.728
0.03125	0.113	27.360
0.0156	0.124	30.024

❖ Acide ascorbique

Concentration mg/mL	DO	DPPH résiduel
0.25	0.006	1.452
0.125	0.008	1.937
0.0625	0.014	3.389
0.03125	0.023	5.569
0.0156	0.038	9.200

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes de pourcentages du DPPH résiduel obtenus en fonctions des concentrations représentées sur les tableaux précédents (**Figure 36**).

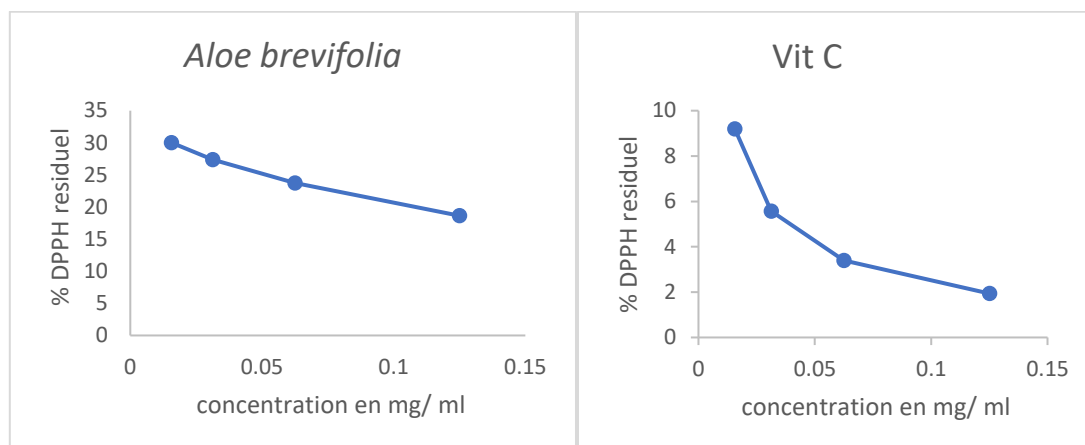


Figure 36 : Courbes de DPPH résiduel obtenues avec l'*Aloe brevifolia* et l'acide ascorbique.

Le pourcentage résiduel de DPPH dans le cas de l'*Aloe brevifolia* diminue avec l'augmentation concentration de **0.125 mg/ml**. Tandis que, le pourcentage résiduel de DPPH dans le cas de l'acide ascorbique diminue fortement avec l'augmentation des concentrations atteignant un pourcentage de **1.93%** à une concentration plus élevée de **0.125 mg/ml**. L'*Aloe brevifolia* a montré une activité antioxydante remarquable de **30.47%** par rapport aux valeurs données par l'activité de piégeage de l'acide ascorbique utilisé comme témoin positif qui a noté un pourcentage de **9.20%** ce qui explique sa forte activité antioxydante.

D'après la bibliographie et (Liu et al., 2019) , l'*Aloe brevifolia* note une forte activité antioxydante par rapport à sa composition en acémannane qui est généralement un polysaccharide acétylé avec un effet antioxydant . Des études ont prouvés que les antioxydants ont pour effet de protéger les systèmes biologiques des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres en piégeant ou en inhibant leurs productions. Les groupes acétyle et hydroxyle de l'acémannane ont respectivement une influence sur le piégeage et la formation des radicaux libres.

Les pourcentages du DPPH résiduel obtenues notent une activité antioxydante remarquable pour l'extrait polysaccharidique *aloe brévífolia* avec un pourcentage inférieur à celui retrouvée par (Lefsih et al., 2018) menée sur la fraction du D-galactose et polysaccharide issues d'aloë Vera. De plus une étude sur les polysaccharides hydrosolubles extrait du cladode de cereus triangularis décrit par (Petera, 2016) qui a révélé un pourcentage supérieur.

En conclusion, les recherches précédentes indiquent que les propriétés antioxydantes peuvent être intimement liées aux propriétés structurales des polysaccharides. Cependant, les polysaccharides ne sont pas tous des antioxydants. On a noté que l'unité d'oses, les liaisons glycosidiques, le degré ramification et la conformation du polysaccharide déterminent généralement les capacités antioxydantes des polysaccharides.

- Nous avons constaté une rareté d'articles et de résultats permettant de comparer nos résultats sur l'effet antioxydant des polysaccharides d'*Aloe brevifolia*. En effet, la majorité des recherches existantes se focalisent sur l'activité antioxydante des polyphénols d'*Aloe Vera*, compliquant ainsi l'acquisition de données comparatives adéquates pour notre investigation.

Conclusion

Les plantes médicinales ont toujours été une source privilégiée de métabolites bioactives, ce qui explique leur exploitation accrue en thérapie alternative ou comme model pour la synthèse de nouvelles molécules fines en industrie pharmaceutique, ce qui fait d'elles un objet d'étude qui suscite un regain d'intérêt important qui a augmenté considérablement ces dernières années et cela dans divers pays.

Le but de cette étude était de déterminer la teneur en sucres totaux et en protéines, de caractériser par chromatographie sur couche mince (CCM), et d'évaluer l'activité antioxydante de la poudre polysaccharidique des feuilles d'*Aloe brevifolia*. Dans un premier temps, des analyses quantitatives ont été menées pour mesurer les concentrations de ces biomolécules essentielles. Ensuite, des techniques de CCM ont été utilisées pour identifier et séparer les différents composants présents dans les extraits. Enfin, des tests d'activité antioxydante ont été réalisés afin de déterminer le potentiel de ces composés à neutraliser les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs. Ces résultats pourraient contribuer à une meilleure compréhension des propriétés biochimiques de l'*Aloe brevifolia* et à la valorisation de cette plante dans le domaine de la santé et de la nutrition.

En premier lieu, nous avons déterminé le taux de sucres **90 %** par la méthode de phénol acide sulfurique et le taux de protéines **0,13%** par la méthode de Bradford. Ces résultats montrent que la poudre polysaccharidique possède une teneur très importante en sucres et une teneur très faible en protéines ce qui explique la réussite de processus de purification et de déprotéination par le protocole Three Phase Partitioning (TPP) lors de l'extraction solide-liquide.

En deuxième lieu, nous avons réalisé des chromatographies sur couche mince CCM dans le but de déterminer la composition qualitative des constituants monosaccharidiques présent confirmant la nature pectique de notre extrait grâce sa composition en rhamnose et acide uronique ; Un résultat en concordance parfaite avec le spectre FTIR présentant des pics caractéristiques des polysaccharides acides (pectines).

En troisième lieu, en ce qui concerne l'activité antioxydante réalisée par le DPPH qui a montré que la poudre polysaccharidique représente une activité antioxydante remarquable.

Bien que des recherches approfondies aient été réalisées sur les polysaccharides, aucun complément n'a encore été élaboré à partir des extraits d'*Aloe brevifolia*. De plus, les études disponibles jusqu'à présent sont limitées tant en nombre qu'en ampleur. Il est donc crucial de conduire des investigations scientifiques plus poussées pour confirmer l'efficacité de cette espèce en médecine traditionnelle et explorer les nombreux bienfaits potentiels qu'elle pourrait

offrir. Par ailleurs, il serait pertinent de découvrir et de décrire de nouvelles activités biologiques des polysaccharides dérivés de cette plante.

Synthèse bibliographique

- ABDELLAH, H., ABDELLAOUI, K., & RAHMANI, M. S. (2022). *Valorisation de la flore locale dans l'obtention de produits à haute valeur ajoutée; cas d'Aloe vera issu des sites différents*. Université Ibn Khaldoun-Tiaret-,
- Akroun, S., & Tellab, L. (2020). *Extraction, purification et caractérisation des polysaccharides végétaux*. Université Mouloud Mammeri,
- Barclay, T. G., Day, C. M., Petrovsky, N., & Garg, S. J. C. p. (2019). Review of polysaccharide particle-based functional drug delivery. *221*, 94-112.
- Bazeeb, A. J. E.-E. P. S. a., Yemen. (2002). *The medicinal plants in Yemen (3rd edn. ed)*.
- Bele, A. A., Khale, A. J. I. j. o. p. s., & research. (2011). An overview on thin layer chromatography. *2(2)*, 256.
- Belhamra, K. (2015). Optimisation des conditions d'extraction des polysaccharides à partir d'une plante médicinale citrullus colocynthis (la coloquinte).
- Benaoun, F. (2017). *Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de Plantago notata Lagasca (Plantaginaceae) et Urginea noctiflora Batt. Trab (Liliaceae)*. Université Clermont Auvergne [2017-2020],
- Benzinger, A., Muster, N., Koch, H. B., Yates, J. R., Hermeking, H. J. M., & proteomics, c. (2005). Targeted Proteomic Analysis of 14-3-3 ζ , a p53 Effector Commonly Silenced in Cancer* *S. 4(6)*, 785-795.
- Bichot, A., & Clerc, M. (2016). *Production d'alcool furfurylique par voie blanche*.
- BOUAL, Z. (2009). *Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérien)*.
- Bocquené, G., & Galgani, F. (2004). *Les marqueurs biologiques des effets des polluants: l'acétylcholinestérase*: Editions Quae.
- Bouchonnet, S., & Libong, D. J. A. C. (2004). Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *7-14*.
- Boudehenn, J., & Gambier, F. (2011). *Influence des finitions poudres sur l'impact environnemental du MDF*. UHP-Université Henri Poincaré,
- Boumediou, A., & ADDOUN, S. (2017). *ÉTUDE ETHNOBOTANIQUE SUR L'USAGE DES PLANTES TOXIQUES, EN MÉDECINE TRADITIONNELLE, DANS LA VILLE DE TLEMCEEN (ALGÉRIE)*.
- Brown, L., Heyneke, O., Brown, D., Van Wyk, J., & Hamman, J. J. J. o. E. (2008). Impact of traditional medicinal plant extracts on antiretroviral drug absorption. *119(3)*, 588-592.
- Camel, V. (1994). *Extraction par le dioxyde de carbone supercritique de polluants contenus dans des solides*. Paris 6,
- Canter, P. H., Thomas, H., & Ernst, E. J. T. i. B. (2005). Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *23(4)*, 180-185.
- Cazier, E. (2015). *Rôle des gaz dissous dans la digestion anaérobie par voie sèche de déchets ligno-cellulosiques*.
- Chadni, M., Bals, O., Ziegler-Devin, I., Brosse, N., & Grimi, N. J. C. R. C. (2019). Microwave-assisted extraction of high-molecular-weight hemicelluloses from spruce wood. *22(8)*, 574-584.
- Chen, Z., Ortiz, A., Zong, L., & Nepf, H. J. W. R. R. (2012). The wake structure behind a porous obstruction and its implications for deposition near a finite patch of emergent vegetation. *48(9)*.
- Chouana, T. (2017). *Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombo bunge*. Université Clermont Auvergne [2017-2020],
- Combo, A. M. M., Aguedo, M., & Paquot, M. (2011). Pectic oligosaccharides: production and potential applications.

Les references bibliographiques

- Combo, A. M. M., Aguedo, M., & Paquot, M. J. B., *Agronomie, Société et Environnement*. (2011). Les oligosaccharides pectiques: production et applications possibles. *15*(1).
- Crini, G., Badot, P.-M., Roberts, G. A., & Guibal, E. (2009). *Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application*: Presses Univ. Franche-Comté.
- Cuny, H. E., & Rathgeber, C. B. (2021). Une synthèse sur le fonctionnement et la régulation des processus cellulaires de la formation du bois.
- Da Silva, D. A., Aires, G. C. M., da Silva Pena, R. J. I. i. t. f. s. t. t. v. o. f., & by-products, a. f. (2020). Gums—characteristics and applications in the food industry.
- DABOUZ, M., & CHIHANI, I. S. (2021). *Caractéristiques physico-chimiques et biologique De la purée des feuilles d'Aloe-Vera*.
- Dagne, E., Bisrat, D., Viljoen, A., & Van Wyk, B.-E. J. C. o. c. (2000). Chemistry of Aloe species. *4*(10), 1055-1078.
- Dakiche, H. (2011). *Etude d'une plante à caractère thérapeutique Aloe Vera L. en vue de son utilisation comme émulsion cicatrisante*. blida,
- DE, A., ET, B. P., & D'EXTRAITS, D. Faculté de Médecine et de Pharmacie.
- Derrien, M. (2017). Bioraffinage de sous-produits de l'épinard (*Spinacia oleracea L.*): comparaison de méthodes vertes pour l'extraction de composés phytochimiques bioactifs.
- Diriba, T. F., & Deresa, E. M. J. A. J. o. C. (2022). Botanical description, ethnomedicinal uses, phytochemistry, and pharmacological activities of genus *Kniphofia* and *Aloe*: A review. *15*(9), 104111.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1951). A Colorimetric Method for the Determination of Sugars. *Nature*, *168*(4265), 167-167. doi:10.1038/168167a0
- Eddine, H. S., & Tarek, M. (2015). Étude Bibliographique sur Quelques Plantes Médicinales Ayant un Effet sur le Système Immunitaire.
- El Hadji Babacar, L. J. I. N. P. d. G. (2008). Nouveaux matériaux composites thermoformables à base de fibres de cellulose.
- el Haib, A. (2018). *VALORISATION DE TERPENES NATURELS ISSUS DE PLANTES MAROCAINES PAR TRANSFORMATIONS CATALYTIQUES*.
- Elie, F. (2022). Notions sur les glucides.
- Francillon, J. (2021). *Etude de la diversité moléculaire des oligosaccharides solubles d'hémicellulose issus d'autohydrolysats de bois*. Université Grenoble Alpes [2020-....],
- Gaskell, M., Fouche, B., Koike, S., Lanini, T., Mitchell, J., & Smith, R. J. H. (2000). Organic vegetable production in California—science and practice. *10*(4), 699-713.
- Godin, B., Agnessens, R., Gofflot, S., Lamaudière, S., Sinnaeve, G., Gerin, P. A., & Delcarte, J. J. B. (2011). Revue bibliographique sur les méthodes d'analyse des polysaccharides structuraux des biomasses lignocellulosiques.
- Gorai, M., El Aloui, W., Yang, X., Neffati, M. J. P., & Soil. (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. *374*, 727-738.
- Guo, X., Mei, N. J. J. o. E. S., & Health, P. C. (2016). Aloe vera: A review of toxicity and adverse clinical effects. *34*(2), 77-96.
- Hadrich, A. (2019). *Nouveaux hydrogels à base de polysaccharide obtenus par voie biomimétique ou par photoréticulation*. Normandie Université,
- Haupt, R., Minkov, M., Astigarraga, I., Schäfer, E., Nanduri, V., Jubran, R., . . . cancer. (2013). Langerhans cell histiocytosis (LCH): guidelines for diagnosis, clinical work-up, and treatment for patients till the age of 18 years. *60*(2), 175-184.

- Helming, K. C., Wang, X., & Roberts, C. W. J. C. c. (2014). Vulnerabilities of mutant SWI/SNF complexes in cancer. *26*(3), 309-317.
- Isik, M., Sardon, H., & Mecerreyes, D. J. I. j. o. m. s. (2014). Ionic liquids and cellulose: dissolution, chemical modification and preparation of new cellulosic materials. *15*(7), 11922-11940.
- KAFI, M., & TAIEB, N. (2018). Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles de *Ferula vesceritensis* récoltée dans la région de Biskra (Sahara septentrional Algérien).
- Klopper, R., & Smith, G. F. (2013). Aloes of the world: When, where and who? *Aloe*, *50*, 44-52.
- Lefsih, K. (2017). Pectine issue des raquettes d'Opuntia ficus indica: extraction, caractérisation biochimique, structurale et bioactivité.
- Leila, D. O., Nacer-Eddine, D., Gérard, C., & Marguerite, R. J. A. J. o. A. E. A. (2018). EXTRACTION DE POLYSACCHARIDES PARIETAUX DES NOYAUX DE DATTES VARIETE GHARS. *8*(1).
- Latifa, M. B. H. J. M. d. d. (2016). Elaboration de matériaux composites biodégradables issus de ressources renouvelables.
- Letouzey, P. (2004). *Programmation fonctionnelle certifiée: l'extraction de programmes dans l'assistant Coq*. Université Paris Sud-Paris XI,
- Levin, A., Tonelli, M., Bonventre, J., Coresh, J., Donner, J.-A., Fogo, A. B., . . . Jardine, M. J. T. L. (2017). Global kidney health 2017 and beyond: a roadmap for closing gaps in care, research, and policy. *390*(10105), 1888-1917.
- Li, J.-M., Yu, R., Zhang, L.-P., Wen, S.-Y., Wang, S.-J., Zhang, X.-Y., . . . Kong, L.-D. J. M. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *7*(1), 1-14.
- Liang, X., Bi, S., Yang, W., Wang, L., Cui, G., Cui, F., . . . Chen, Y. J. V. (2009). Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China—declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination. *27*(47), 6550-6557.
- Liu, D., Tang, W., Yin, J.-Y., Nie, S.-P., & Xie, M.-Y. J. F. H. (2021). Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources: Hydrolysis condition and detection method development. *116*, 106641.
- Ludmir, E. B., Mainwaring, W., Lin, T. A., Miller, A. B., Jethanandani, A., Espinoza, A. F., . . . Smith, G. L. J. J. o. (2019). Factors associated with age disparities among cancer clinical trial participants. *5*(12), 1769-1773.
- Machmudah, S., Kanda, H., & Goto, M. (2017). Hydrolysis of biopolymers in near-critical and subcritical water. In *Water extraction of bioactive compounds* (pp. 69-107): Elsevier.
- Majinda, R. R., Abegaz, B. M., Bezabih, M., Ngadjui, B. T., Wanjala, C. C., Mdee, L. K., . . . Chemistry, A. (2001). Recent results from natural product research at the University of Botswana. *73*(7), 1197-1208.
- Maran, J. P., & Priya, B. J. I. j. o. b. m. (2014). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel. *70*, 530-536.
- Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R. J. C. p. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *97*(2), 703-709.
- Matthieu, M. L. J. F. o. P., University of Lille: Lille, France. (2015). Les Cannabinoïdes Dans La Prise en Charge des Patients Sous Anticancéreux et Antiretroviraux: Connaissances Actuelles et Perspectives D'avenir en France.

- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.-I., & Lee, Y. C. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol–sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339(1), 69-72. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.001>
- Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., Saadi, A. J. I. j. o. b., & sciences, c. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. 8(4), 1865-1870.
- MEDJOUJDA, O. J. R. (2012). Méthodes d'études d'activité des antioxydants des plantes médicinales. 6, 3.
- Mehta, I. J. I. J. H. S. S. (2017). 'History OF Aloe Vera'-(A Magical Plant). 22, 21-24.
- Melloul, S., & Zehioua, R. (2023). *Conception de fluide supercritique pour l'extraction a fluide supercritique d'huile des plantes naturelles*. Université Constantine 3 Salah Boubnider, Faculté de génie des procédés ...,
- Mhanna, A. (2014). *Synthèse et formulation de résines photopolymérisables issues de la biomasse: application pour l'impression Braille*. Dijon,
- Mirhosseini, H., & Amid, B. T. J. F. R. I. (2012). A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. 46(1), 387-398.
- Montesanti, N. (2008). *Système modèle de cristallisation de l'amylose A*. Université Joseph Fourier (Grenoble I),
- Moreira, L., Filho, E. J. A. m., & biotechnology. (2008). An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. 79, 165-178.
- Moreira, L., Filho, E. J. A. m., & biotechnology. (2016). Insights into the mechanism of enzymatic hydrolysis of xylan. 100, 5205-5214.
- Moret, S., Conchione, C., Srbinovska, A., & Lucci, P. J. F. (2019). Microwave-based technique for fast and reliable extraction of organic contaminants from food, with a special focus on hydrocarbon contaminants. 8(10), 503.
- Naseri-Nosar, M., & Ziora, Z. M. J. C. p. (2018). Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. 189, 379-398.
- Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., & Gallo, M. J. F. (2019). Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques. 8(7), 245.
- NDIKURYAYO, F. Biochimie structurale (BCH2409).
- OUARRAK, K. (2019). L'aloès vera: un remède naturel aux vertus thérapeutiques.
- Oueslati, K. (2017). *Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande*. Université Clermont Auvergne [2017-2020],
- Pauly, M., Gille, S., Liu, L., Mansoori, N., de Souza, A., Schultink, A., & Xiong, G. J. P. (2013). Hemicellulose biosynthesis. 238, 627-642.
- Pérez, R. (1997). *Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, role dans la biosphere, utilisations, culture*: Editions Quae.
- Pole-Evans, I. J. V., & Flora. (1919). Our aloes: their history, distribution and cultivation. 5(1), 11.
- Poole, C. F. J. J. o. C. A. (2003). Thin-layer chromatography: challenges and opportunities. 1000(1-2), 963-984.
- Puia, A., Puia, I., Mois, E., Graur, F., Fetti, A., & Florea, M. (2021). The Phytochemical Constituents and Therapeutic Uses of Genus Aloe: A Review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49, 12332. doi:10.15835/nbha49212332
- Qu, D., Zheng, M., Du, P., Zhou, Y., Zhang, L., Li, D., . . . Sun, Z. J. N. (2013). Highly luminescent S, N co-doped graphene quantum dots with broad visible absorption bands for visible light photocatalysts. 5(24), 12272-12277.

- Ray, A., & Ghosh, S. (2014). Aloe vera L. Gel: Biochemical Composition, Processing and Nutraceutical Applications. In (pp. 1-22).
- Reynolds, G. W. (1958). *Les aloes de Madagascar* (Vol. 10): Institut de recherche scientifique de Madagascar.
- Rochweg, B., Brochard, L., Elliott, M. W., Hess, D., Hill, N. S., Nava, S., . . . Conti, G. J. E. R. J. (2017). Official ERS/ATS clinical practice guidelines: noninvasive ventilation for acute respiratory failure. *50*(2).
- Rongpipi, S., Ye, D., Gomez, E. D., & Gomez, E. W. J. F. i. P. S. (2019). Progress and opportunities in the characterization of cellulose—an important regulator of cell wall growth and mechanics. *9*, 1894.
- Ruff, Y. (2008). *Biopolymères dynamiques: Oligo-et polysaccharides*. Université Louis Pasteur (Strasbourg)(1971-2008),
- SALMA, B. Z. Investigations Sur Les Propriétés Antimicrobiennes Antifongiques Et Antivirales «anti COVID-19» Chez L’Aloe vera.
- Sauceau, M., Puissant, S., Richon, D., & Fages, J. (2004). *Développement de procédés d’extrusion assistés par un fluide supercritique*. Paper presented at the 39ème Colloque annuel du Groupe Français de Rhéologie.
- Saxena, I. M., & Brown Jr, R. M. J. A. o. b. (2005). Cellulose biosynthesis: current views and evolving concepts. *96*(1), 9-21.
- Scavo, L. (2020). *Effet de la mélatonine sur le risque d’ostéoporose, le métabolisme énergétique cérébrale et la remyélinisation dans un modèle expérimental de souris EAE*. Université Paris-Saclay,
- Schmelzer, G. H., Gurib-Fakim, A., & Schmelzer, G. H. (2008). *Medicinal plants* (Vol. 11): Protá.
- Schmelzer, G. I. H. t., & Gurib-Fakim, A. (2008). *Plantes médicinales I* (Vol. 11): PROTA.
- Selvamuthukumar, M., & Shi, J. (2017). Recent advances in extraction of antioxidants from plant by-products processing industries. *Food Quality and Safety, 1*, 61-81. doi:10.1093/fqsafe/fyx004
- Servant, L., Le Bourdon, G., & Buffeteau, T. J. P. (2011). Comprendre la spectroscopie infrarouge: principes et mise en oeuvre. (53), 68-73.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2011). *Introduction to modern liquid chromatography*: John Wiley & Sons.
- STOJAN-ALO, M. Aloès: Utilisations, Effets secondaires, Interactions, Posologies et Avertissements.
- Sung, C. K. (2006). The history of Aloe. In *New perspectives on Aloe* (pp. 7-17): Springer.
- Surjushe, A., Vasani, R., & Sable, D. J. I. j. o. d. (2008). Aloe vera: a short review. *53*(4), 163.
- Vereyken, I. J., Van Kuik, J. A., Evers, T. H., Rijken, P. J., & de Kruijff, B. J. B. j. (2003). Structural requirements of the fructan-lipid interaction. *84*(5), 3147-3154.
- Vos, A. (2008). Preclinical studies on the immune-modulatory effects of dietary oligosaccharides.
- Wang, Z., Zheng, Y., Lai, Z., Hu, X., Wang, L., Wang, X., . . . Wang, Q. J. I. J. o. B. M. (2024). Effect of monosaccharide composition and proportion on the bioactivity of polysaccharides: A review. *254*, 127955.
- Wei, X., Mao, F., Cai, X., & Wang, Y. J. I. J. o. B. M. (2011). Composition and bioactivity of polysaccharides from tea seeds obtained by water extraction. *49*(4), 587-590.
- Yahyaoui, M. (2020). Application des huiles essentielles dans le domaine des emballages alimentaires.

Résumé :

L'*Aloe brevifolia* est une plante médicinale emblématique et polyvalente, reconnue pour ses propriétés thérapeutiques et cosmétiques depuis des millénaires. Son histoire, ses applications modernes, et ses propriétés bénéfiques en font un sujet d'intérêt constant en médecine traditionnelle et en recherche scientifique. La poudre polysaccharidique extraite des feuilles d'*Aloe brevifolia* a montré une activité antioxydante appréciable réalisée par le test de DPPH. Des dosages colorimétriques effectués afin de déterminer le taux de sucres et le taux de protéines. Une série de chromatographies en couche mince CCM réalisée dans l'objectif de préciser la composition qualitative des constituants monosaccharidiques présents, en ajoutant à ça un résultat du spectre FTIR présentant des pics caractéristiques des polysaccharides acides (pectines).

Abstract :

Aloe brevifolia is an emblematic and versatile medicinal plant, recognized for its therapeutic and cosmetic properties for millennia. Its history, modern applications, and beneficial properties make it a subject of constant interest in traditional medicine and scientific research. The polysaccharide powder extracted from *Aloe brevifolia* leaves has shown appreciable antioxidant activity, assessed by the DPPH test. Colorimetric assays were conducted to determine sugar content and protein content. A series of thin-layer chromatographies (TLC) were performed to clarify the qualitative composition of the present monosaccharide constituents, along with results from the FTIR spectrum showing characteristic peaks of acidic polysaccharides (pectins).

ملخص:

الألوة بريفيوليا هي نبات طبي شهير ومتعدد الاستخدامات، معروف بخصائصه العلاجية والتجميلية منذ آلاف السنين. تاريخها وتطبيقاتها الحديثة وخصائصها المفيدة تجعلها موضوع اهتمام مستمر في الطب التقليدي والبحث العلمي. أظهرت المسحوق البولي سكاريدي المستخرج من أوراق الألوة بريفيوليا نشاطا مضادا للأكسدة ملحوظا تم قياسه عن طريق اختبار DPPH. تم إجراء تحاليل لونية لتحديد نسبة السكريات ونسبة البروتينات. تم إجراء سلسلة من الكروماتوجرافيا على الطبقة الرقيقة بهدف توضيح التركيب النوعي للمكونات أحادية السكريات تظهر قما FTIR الموجودة، بالإضافة إلى ذلك تم الحصول على نتيجة من طيف مميزة للبوليسكاريدات الحمضية (البكتينات).