

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

~~17/08/2015~~

17/08/2015. 828



Université 8 mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés

Mémoire de Projet de Fin d'Etude 2^{ème} Année Master

Optimisation des conditions d'extraction des polysaccharides à partir d'une plante médicinale *Citrullus colocynthis* (la coloquinte)

Filière : Génie des procédés

Option: Matériaux et Génie des Procédés : Matériaux traitements de surfaces

Présenté par :

BELHAMRA Khaoula

Sous la direction de :

Pr. Hamid SATHA

juin 2015



513197

Sommaire

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

Introduction :..... 2

1. Généralités sur les plantes médicinales :..... 2

1.1. Définition d'une plante médicinale :..... 2

1.2. Les Principes actifs des plantes médicinales :..... 2

1.2.1. Phénols :..... 2

1.2.2. Huiles essentielles :..... 3

1.2.3. Tanins :..... 4

1.2.4. Saponines :..... 4

1.2.5. Alcaloïdes :..... 5

1.2.6. Vitamines :..... 6

1.2.7. Les Polysaccharides :..... 6

2. Généralités sur les polysaccharides :..... 7

2.1. Définition :..... 7

2.2. Propriétés des polysaccharides :..... 7

2.2.1. Propriétés rhéologiques :..... 7

2.2.2. Propriétés Physiques :..... 8

2.3. Classifications des polysaccharides :..... 9

2.4. Polysaccharides végétaux :..... 9

2.4.1. Polysaccharides de structure :..... 10

2.4.2. Les polysaccharides de réserve :..... 12

2.4.3. Les polysaccharides exsudats :..... 15

| | |
|---|----|
| 3. Applications industrielles des polysaccharides : | 16 |
| 3.1. Application industrielles agro-alimentaire de carraghénane : | 16 |
| 3.2. Applications médicinales et pharmaceutiques : | 17 |
| 3.3. Applications alimentaires et métaboliques : | 18 |
| Conclusion : | 19 |

CHAPITRE II : Présentation de la plante d'étude

| | |
|--|----|
| Introduction : | 20 |
| 1. Définition de la coloquinte : | 20 |
| 2. Noms vernaculaires. | 21 |
| 3. Position taxonomique de la coloquinte : | 21 |
| 4. Description morphologique : | 22 |
| 5. Répartition géographique : | 23 |
| 6. Composition chimique : | 23 |
| 7. Actions thérapeutiques : | 25 |
| 8. Utilisation populaire : | 27 |
| 9. Toxicité : | 28 |
| Conclusion : | 28 |

CHAPITRE III : Méthodologie de travail

| | |
|---|----|
| Introduction : | 29 |
| 1. Présentation de la zone d'étude : | 29 |
| 2. Principe d'étude : | 31 |
| 3. Matériels d'étude : | 31 |
| 3.1. le matériel végétal : | 31 |
| 3.2. Produits et appareillages utilisés : | 32 |
| 3.2.1. Produits et réactifs : | 32 |
| 3.2.2. Matériels et équipements scientifiques : | 33 |

| | |
|---|----|
| 4. Technique de séchage ,broyage et conservation du matériel végétal :..... | 33 |
| 5. Méthodes expérimentales : | 34 |
| 5.1. Procédure d'extraction des polysaccharides hydrosolubles :..... | 34 |
| 5.1.1. Optimisation de l'extraction des polysaccharides :..... | 34 |
| 5.1.2. Le protocole d'extraction :..... | 36 |
| 5.1.3. Calcul des rendements : | 37 |
| 5.2. Analyses statistiques : | 37 |
| 5.2.1. Modélisation des essais d'extraction par la méthode du plan d'expérience | 37 |
| 5.2.2. Définition de logiciel d'étude : | 37 |
| 5.2.3. Vérification des résultats : | 37 |
| 6. Etude de la composition d'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble :..... | 38 |
| 6.1. Teneur en cendres totales : | 38 |
| 6.1.1. Calcul : | 38 |
| 6.1.2. Méthodes de détermination de la teneur en cendres totales : | 38 |
| 6.2. Teneur en humidité : | 39 |
| 6.2.1. Principe : | 39 |
| 6.2.2. Calcul :..... | 39 |
| 6.3. Teneur en matière sèche : | 39 |
| 6.4. Dosage des lipides (ou matière grasse):..... | 39 |
| 7. Caractérisation structurale de polysaccharide hydrosoluble: | 40 |
| 7.1. Identification et dosage des résidus glycosidiques :..... | 40 |
| 7.1.1. Hydrolyse chimique des liaisons glycosidiques : | 40 |
| 7.1.2. Chromatographie sur couche mince des résidus glycosidiques :..... | 41 |
| 7.1.2.1. Définition :..... | 41 |
| 7.1.2.2. Principe :..... | 42 |
| 7.1.2.3. Préparation des solutions étalons : | 43 |

| | |
|---|----|
| 7.1.2.4. Types des plaques : | 43 |
| 7.1.2.5. Préparation des phases mobiles : | 43 |
| 7.1.2.6. Préparation de révélateur (Réactif de NIGRUM) : | 43 |
| 7.1.2.7. Méthode opératoire de CCM: | 43 |
| 7.1.3. La spectroscopie infrarouge : | 44 |
| 7.1.3.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ou FTIR)..... | 44 |
| 7.1.3.2. Principes de la spectroscopie infrarouge : | 45 |
| 7.1.3.3. Le mode opératoire de l'utilisation de l'infrarouge | 46 |

CHAPITRE IV : Résultats et discussions

| | |
|--|-----------|
| 1. Les résultats de rendement massique de polysaccharide avant l'extraction : | 47 |
| 2. L'effet des différentes températures d'extraction sur le rendement de polysaccharide ... | 48 |
| 3. L'effet des différents temps d'extraction sur le rendement de polysaccharide | 49 |
| 4. L'analyse statistique : | 50 |
| 5. Optimisation pour l'extraction de polysaccharide : | 53 |
| 6. Validation de condition optimale : | 54 |
| 7. Les résultats de la composition de l'extrait brut de polysaccharide : | 55 |
| 8. Caractérisations des polysaccharides d'extrait brut de <i>Citrullus colocynthis</i> : | 58 |
| 8.1. Caractérisation qualitative des résidus glycosidiques | 58 |
| 8.2. Groupements fonctionnels caractéristiques des polysaccharides | 60 |
| Conclusion générale | 63 |

Annexes

Références bibliographiques

Résumé

Remerciements

*Au terme de notre travail je remercie **Dieu** le puissant créateur qui m a guidé vers l'achèvement de ce travail.*

Ce travail de mémoire de master a été réalisé au Laboratoire des Silicates, Polymères et des Nanocomposites (LSPN) de l'université de Guelma sous la responsabilité du Professeur Hamid SATHA.

Je tiens à présenter mes sincères remerciements à mon encadreur SATHA Hamid, professeur au département de Génie des procédés de l'université 08 mai 1945 à Guelma pour son aide et ses encouragements, aussi ses orientations et surtout son soutien moral.

Mes sincères remerciements s'adressent à mademoiselle KOUADRI Imane, doctorante à l'université de Guelma, pour sa présence et tous les conseils qu'elle a pu me dispenser au cours de nos nombreuses discussions.

Je tiens à remercier monsieur LAYACHI Abdelheq doctorant à l'université de Guelma pour leur aide et ses conseils.

Un gros remerciement pour les laboratoires de chimie de l'université de Sétif, LCA et biologie de l'université de Guelma 08 mai 1945

Je remercie également toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Et je termine par un grand remerciement à mes chers parents et mes sœurs qui m'ont soutenue durant toute ma formation.

Liste des figures

CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

| | |
|---|----|
| Figure 01 : Représentation de la structure de phénol..... | 3 |
| Figure 02 : Exemples de composés aromatiques caractéristiques des huiles essentielles | 3 |
| Figure 03 : Représentation de la structure des Tanins | 4 |
| Figure 04 : Structure chimique des saponines. | 5 |
| Figure 05 : Représentation de la structure des Alcaloïdes..... | 5 |
| Figure 06 : Représentation de la structure de vitamine | 6 |
| Figure 07 : Représentation de la structure des polysaccharides | 7 |
| Figure 08 : Schéma représentatif de classification des polysaccharides..... | 9 |
| Figure 09 : Représentation de la chaîne de cellulose | 10 |
| Figure 10 : Représentation de la chaîne de pectine | 11 |
| Figure 11 : Structure de hémicelluloses..... | 12 |
| Figure 12 : Représentation de l'amylose..... | 13 |
| Figure 13 : Représentation de l'amylopectine | 13 |
| Figure 14 : Structure de l'inuline | 14 |
| Figure 15: La gomme arabique..... | 15 |

CHAPITRE II : Présentation de la plante d'étude

| | |
|---|----|
| Figure 01: <i>Citrullus colcoynthis</i> (Cucurbitacées)..... | 20 |
| Figure 02 : Schéma des différentes parties de <i>Citrullus Colocynthis</i> | 23 |
| Figure 03 : Structure de la cucurbitacine. | 24 |

CHAPITRE III : Méthodologie de travail

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Carte géographique représentative de la région d'étude | 30 |
| Figure 02 : Schéma qui représente les graines de la coloquinte | 31 |
| Figure 03 : La coloquinte avant et après le broyage | 34 |
| Figure 04 : Etapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles..... | 36 |
| Figure 05 : Mécanisme de dégradation acide de polysaccharide..... | 41 |

| | |
|---|----|
| Figure 06 : Représentation de la chromatographie sur couche mince CCM. | 41 |
| Figure 07 : Présentation schématique du développement et la méthode de CCM..... | 42 |
| Figure 08 : Domaines de l'IR dans le spectre électromagnétique..... | 44 |
| Figure 09 : Schéma de principe d'un spectromètre FTIR..... | 45 |
| Figure 10 : Schéma de principe d'un spectromètre IR. | 46 |
| Figure 11 : Schéma d'un spectrophotomètre de type Testcan Shimadzu FTIR 8400 séries. . | 46 |

CHAPITRE IV : Résultats et discussions

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Taux de rendement en polysaccharide en fonction du nombre des essais. | 48 |
| Figure 02 : Effets de la température d'extraction sur le rendement d'extraction (%). | 48 |
| Figure 03 : Effets de temps d'extraction sur le rendement d'extraction (%). | 49 |
| Figure 04 : surface de réponse (3D) et contour parcelles montrant les effets du temps d'extraction et de la température d'extraction sur le rendement d'extraction de polysaccharide de <i>Citrullus colocynthis</i> | 53 |
| Figure 05 : Les variables d'extraction optimisées. | 54 |
| Figure 06 : Composition totale de l'extrait brute..... | 56 |
| Figure 07 : Teneur en humidité et la matière sèche de <i>Citrullus colocynthis</i> | 57 |
| Figure 08 : Chromatogramme d'extrait de <i>Citrullus colocynthis</i> | 58 |
| Figure 09 : Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 100 °C et de t = 120min..... | 60 |
| Figure 10 : Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 40 °C et de t = 60 min..... | 60 |
| Figure 11 : Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 80 °C et de t = 90 min..... | 61 |
| Figure 12 : Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 60 °C et de t = 60 min..... | 61 |

Liste des tableaux

CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

| | |
|--|----|
| Tableau 01: Fonctions et applications des principaux polysaccharides utilisés dans l'industrie alimentaire | 18 |
|--|----|

CHAPITRE II : Présentation de la plante d'étude

| | |
|--|----|
| Tableau 01: Composition en métabolites secondaires des différentes parties de la coloquinte (<i>Citrullus colocynthis</i>) | 25 |
| Tableau 02: Quelques études sur les effets thérapeutiques de la coloquinte (<i>Citrullus colocynthis</i>) à travers le monde | 26 |

CHAPITRE III : Méthodologie de travail

| | |
|--|----|
| Tableau 01 : Liste des principaux réactifs utilisés | 32 |
| Tableau 02 : Matériels et équipements scientifiques | 33 |
| Tableau 03 : variation des facteurs d'extraction des polysaccharides bruts | 35 |

CHAPITRE IV : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| Tableau 01: Les résultats de rendement massique de polysaccharide | 47 |
| Tableau 02 : Les résultats de rendement massique de polysaccharide par le logiciel | 51 |
| Tableau 03 : Analyse de variance | 52 |
| Tableau 04: Test de validation pour connaître l'état d'extraction optimale. | 55 |
| Tableau 05 : Composition totale des lyophilisats bruts. | 55 |
| Tableau 06 : les rapports frontaux (R_f) des taches des étalons sur la plaque CCM. | 59 |
| Tableau 07 : les rapports frontaux (R_f) des taches sur la plaque CCM | 59 |

Introduction Générale

Les polysaccharides sont connus et exploités depuis de nombreuses années par l'industrie, à cause de leur abondance, leurs sources renouvelables, non toxicité, biodégradabilité, et origine de plusieurs produits dérivés, après modifications chimiques et biochimiques [1]. Ils représentent une classe très intéressante de produits actifs, et sont identifiés comme composés multifonctionnels, avec plusieurs activités pharmacologiques [2]. Ils peuvent être extraits de nombreux organismes, tels que les micro-organismes (xanthane, scléroglycane,...), les algues (alginate, carraghénane,...), les crustacés (chitine), les mammifères (héparine, chondroïtine sulfate,...) et les végétaux supérieurs. Les polysaccharides issus de cette dernière classe d'êtres vivants présentent une variabilité structurale et une richesse de propriétés physico-chimiques, que l'on ne rencontre chez aucune autre classe d'organismes [3].

Les polysaccharides fortement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique, pour leurs propriétés technologiques, physiologiques, sont des acteurs importants dans l'économie mondiale [4].

Ce travail est focalisé sur l'optimisation des procédés d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de la biomasse végétale, en particulier *Citrullus colocynthis* (*la coloquinte*) et leur caractérisation physico-chimique.

L'investigation se présente en deux grandes parties:

La première partie de ce travail est relative à l'étude bibliographique. Nous avons jugé utile de rappeler dans un premier chapitre quelques généralités sur les plantes médicinales et les polysaccharides végétales dans la biomasse végétale. Le deuxième chapitre traite la présentation de la plante d'étude.

La seconde partie de l'étude est axée sur l'expérimentation et elle est présentée en deux chapitres ; Le premier chapitre concerne les méthodes et les protocoles utilisés pour l'extraction et la caractérisation des polysaccharides. Le deuxième chapitre rassemble les résultats expérimentaux et leurs discussions.

Enfin, une conclusion générale et des perspectives clôtureront ce travail de Master.

La partie théorique

CHAPITRE I :

Synthèse bibliographique

Introduction :

Les polysaccharides sont les macromolécules les plus abondantes sur terre et dans les océans. Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux sont des substrats solides qui se présentent sous la forme de fibres, de granules ou de gels dont les propriétés physico-chimiques et structurales sont intimement liées à leurs structures chimiques et, par conséquent, à leurs biosynthèses. Ils sont fortement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique, pour leurs propriétés technologiques, physiologiques et pharmaceutiques, ils jouent un rôle important dans l'économie mondiale [5]

1. Généralités sur les plantes médicinales :**1.1. Définition d'une plante médicinale :**

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine, grain etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie.

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents [6].

1.2. Les Principes actifs des plantes médicinales :

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pourcent à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel [7].

Parmi les principes actifs les plus courants des plantes médicinales, il ya :

1.2.1. Phénols :

Ce sont des composés chimiques qui peuvent être simples comme l'acide salicylique, ou complexes à l'instar des composés phénoliques. Ces substances sont connues pour leurs propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires [8].

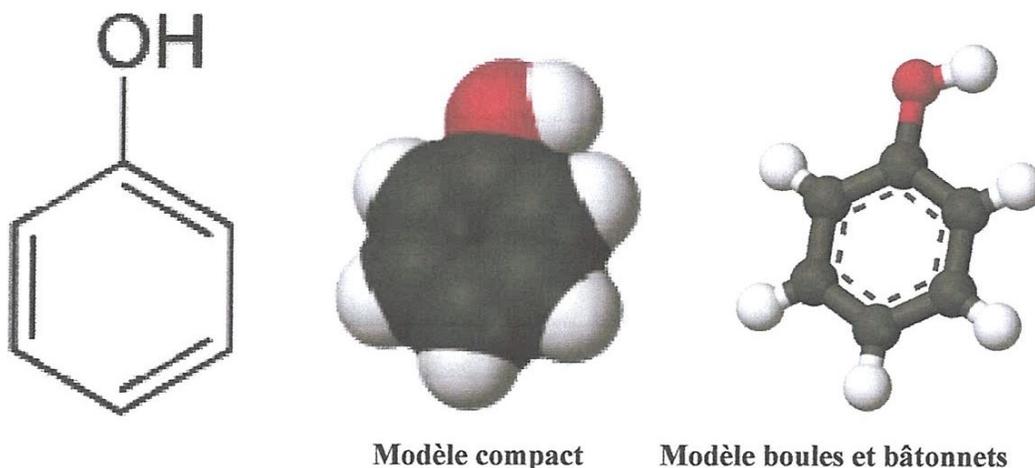
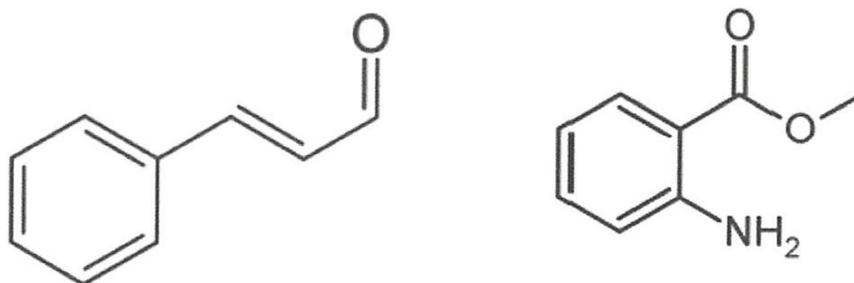


Figure 01 : Représentation de la structure de phénol [9].

1.2.2. Huiles essentielles :

Communément appelées " essences ", sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes odorants volatils contenus dans les végétaux. Elles diffèrent des huiles fixes (huile d'olive,...) et des graisses végétales par leur caractère volatil ainsi que leur composition chimique [10].

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie [11].



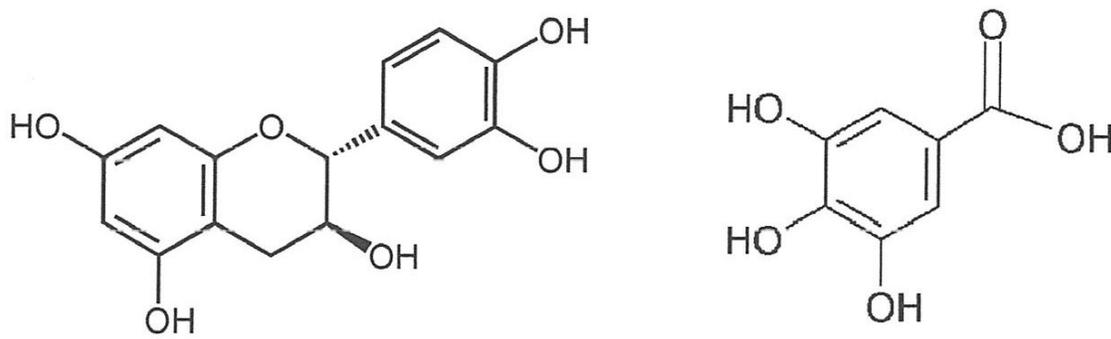
Cinnamaldéhyde

Anthranilate de méthyle

Figure 02 : Exemples de composés aromatiques caractéristiques des huiles essentielles [12].

1.2.3. Tanins :

Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour «tanner» les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour rendre les tissus souples [11].



Tannin condensé

Tannin hydrolysable

Figure 03 : Représentation de la structure des Tanins [13].

1.2.4. Saponines :

Les saponines sont des principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes [11].

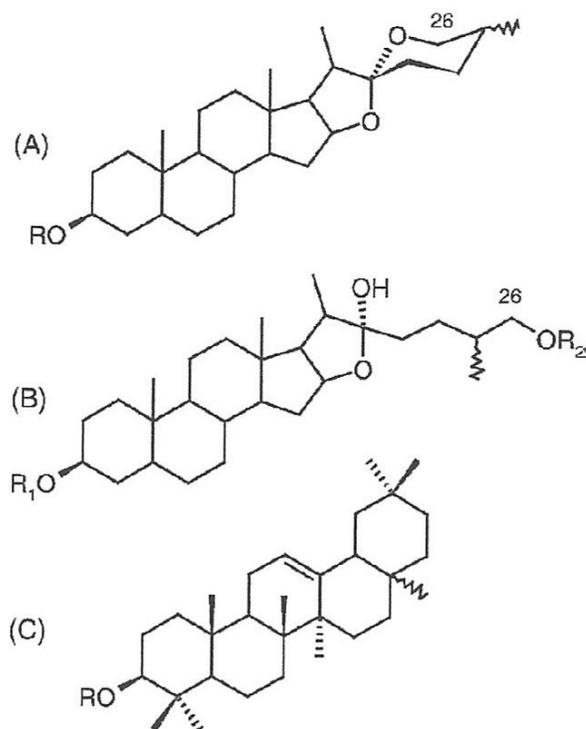


Figure 04 : Structure chimique des saponines. Squelette aglycone (A), spirostane stéroïdien, (B) furostane stéroïdien et saponines triterpénoides(C). R = sucre [14].

1.2.5. Alcaloïdes :

Ce sont des substances toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets thérapeutiques connues. C'est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe [15].

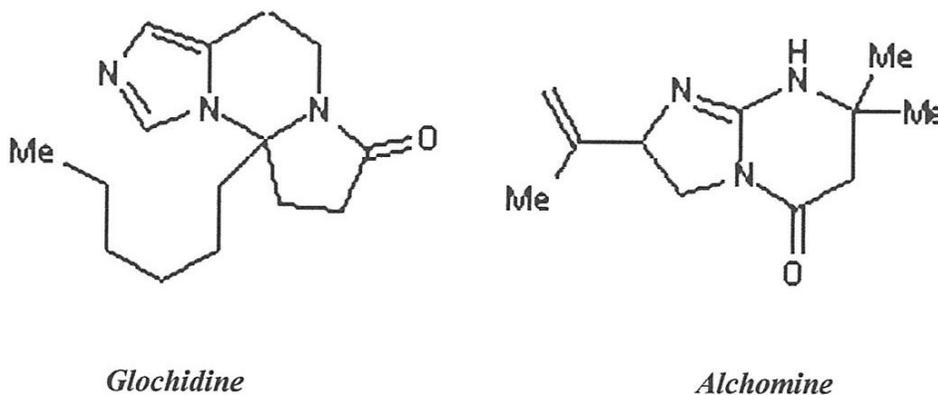


Figure 05 : Représentation de la structure des Alcaloïdes [16].

1.2.6. Vitamines :

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. Le citronnier notamment contient des doses élevées de vitamine C et la carotte est riche en β -carotène (provitamine A) [11].

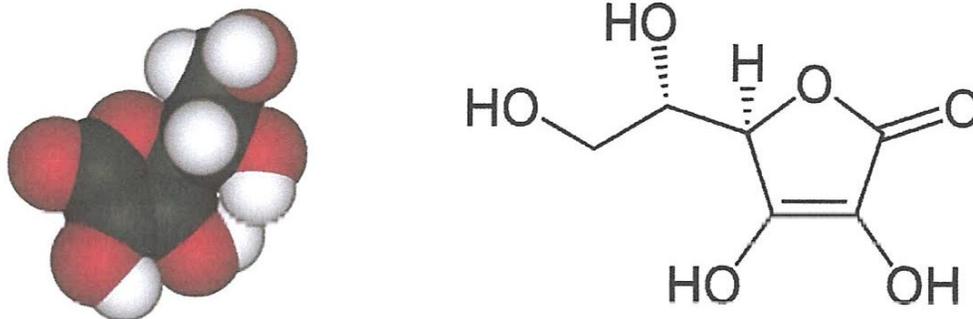
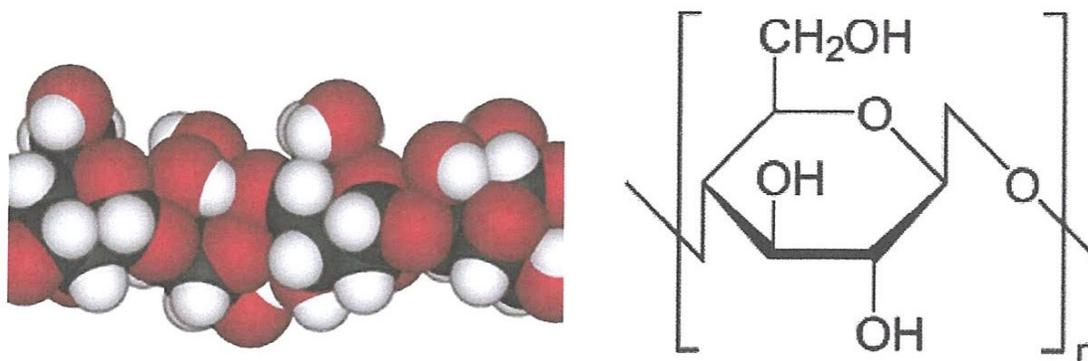


Figure 06 : Représentation de la structure de vitamine (vitamine C) [17].

1.2.7. Les Polysaccharides :

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages «visqueux» et les graines. Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés, par exemple quand la peau est sèche et irritée ou la paroi des intestins enflammée et douloureuse. La meilleure façon de préparer les herbes mucilagineuses comme l'orme rouge (*Ulmus rubra*) et le lin (*linum usitatissimum*) est de les gorger d'eau froide (de les faire macérer). Certains polysaccharides, comme les glucomannanes et les pectines, sont utilisés en cosmétologie [11].



Vue 3D d'une portion de la cellulose

Formule chimique développée de la cellulose.

Figure 07 : Représentation de la structure des polysaccharides [18].

2. Généralités sur les polysaccharides :

Les polysaccharides sont connus et exploités depuis de nombreuses années par l'industrie, à cause de leur abondance, leurs sources renouvelables, non toxiques, biodégradables, et origine de plusieurs produits dérivés, après modifications chimique et biochimiques [4].

2.1. Définition :

Les polysaccharides sont les macromolécules les plus répandus dans la nature (terre et océan). Ce sont des polymères constitués strictement de monosaccharides associés entre eux par des liaisons... α ou β (1-3, 1-4, 1-6, ...), et caractérisés par un degré de polymérisation et appelé aussi des glycanes. Les structures chimiques des polysaccharides d'origine végétales varient par les différents types de liaisons et d'oses ; pour cela ils ont plusieurs rôles : de structure (cellulose, pectine, hémicellulose...), de réserve (Amidon) et de protection et adaptation (gomme et mucilages) [19].

2.2. Propriétés des polysaccharides :

2.2.1. Propriétés rhéologiques :

Leurs propriétés rhéologiques (gélifiantes, stabilisantes, émulsifiantes, épaississantes,etc.) sont mises à profit dans l'agro-alimentaire, l'industrie pétrolière, le cosmétique, les peintures, les adhésifs, les biomatériaux, ... etc. Leur biocompatibilité confère à ce groupe de biomolécules de vastes possibilités d'utilisation dans l'industrie, particulièrement dans l'industrie chimique, l'industrie pharmaceutique et médicale.

Depuis un certain temps un intérêt particulier est porté aux polysaccharides polyfonctionnels ayant une application dans les domaines biomédicaux. Des nombreuses études sont menées sur leurs propriétés immuno-modulatrices et immunostimulantes, mais aussi sur leurs activités anti-tumorales et antivirales, etc. [20].

2.2.2. Propriétés Physiques :

La nature des polysaccharides influence fortement leurs propriétés physiques dans le domaine alimentaire ce sont les propriétés en solution qui revêtent le plus importance en milieu aqueux les molécules linéaires forment généralement des solutions plus visqueuses que les molécules branchées car elles ont un volume hydrodynamique plus important.

Les molécules linéaires ont aussi une plus grande tendance à précipiter en milieu concentré car leur conformation favorise les interactions intermoléculaires. Il peut en résulter un état plus ou moins cristallin ; comme pour l'amidon lors de la rétrogradation certains homoglycanes comme la cellulose sont insolubles car les ponts hydrogène intra et intermoléculaires sont très stable et forment un réseau cristallin hautement organisé empêchant la pénétration de l'eau.

Les composés ramifiés sont souvent plus solubles que les composés linéaires et forment plus facilement des gels car les interactions intermoléculaires sont moins fortes. Par contre, les solutions sont souvent plus collantes à cause de l'enchevêtrement des chaînes latérales.

La charge des polymères exerce aussi une influence sur leur comportement en fonction du PH ou de la présence de sels par exemple , la pectine et l'alginate précipitent à bas PH lorsque les groupement carboxyles est neutralisée , par contre, lorsque ces groupements sont déprotonés la répulsion entre les charges fait que les molécules prennent une conformation étendue, donnant des solutions visqueuses la présence de sels peut aussi induire des associations de chaînes car des cations divalents peuvent stabiliser des groupements chargés , et forme des structures de type Egg-box ou boîte à œufs .

La viscosité d'une solution est fonction de la taille de la structure des molécules, la structure des molécules influence leur flexibilité ou leur rigidité, par exemple la rotation autour des liaisons glycosidiques, et ainsi la forme que la molécule adoptera en solution [21].

2.3. Classification des polysaccharides :

Les polysaccharides sont classés sous cinq types qui sont les suivants :

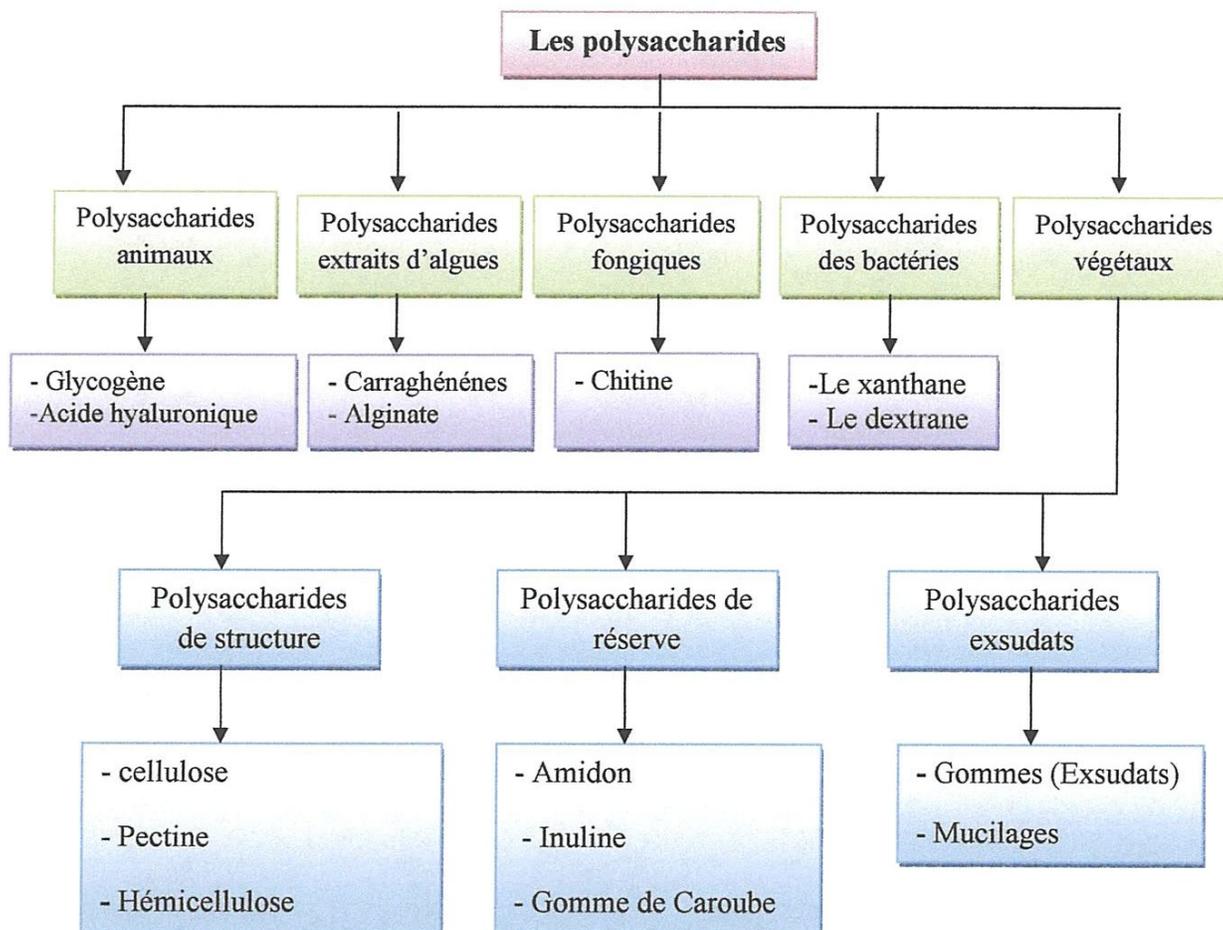


Figure 08 : Schéma représentatif de classification des polysaccharides

2.4. Polysaccharides végétaux :

Les polysaccharides végétaux appartiennent à trois groupes principaux ; les polysaccharides de structures (propriétés biomécaniques) qui composent la paroi pectocellulosique des cellules (cellulose, hémicellulose, pectine), les polysaccharides de réserve (amidon, caroube, inuline) constituant des formes de stockage de carbone, les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et en fin les mucilages.

Les polysaccharides végétaux sont utilisés dans de nombreux domaines industriels comme l'agro-alimentaire, industrie cosmétique ainsi que les industries pharmaceutiques, papeterie et textile...etc. [22].

2.4.1. Polysaccharides de structure :

a. La cellulose :

La cellulose est une macromolécule à très longue chaîne stéréo-régulière et appartient à la famille des β -D- glucanes. Elle est constituée exclusivement d'unités (β -D-glucose reliées entre elles par des liaisons de type β (1-4). L'unité répétitive, composée de l'association de deux glucoses, est appelée cellobiose [23].

La cellulose est le constituant le plus abondant des parois des cellules du bois. En effet, ce polymère de glucose constitue la structure principale de nombreux végétaux. La teneur varie selon l'espèce végétale, d'environ 40% dans le bois à 95-99% dans les fibres de coton [23].

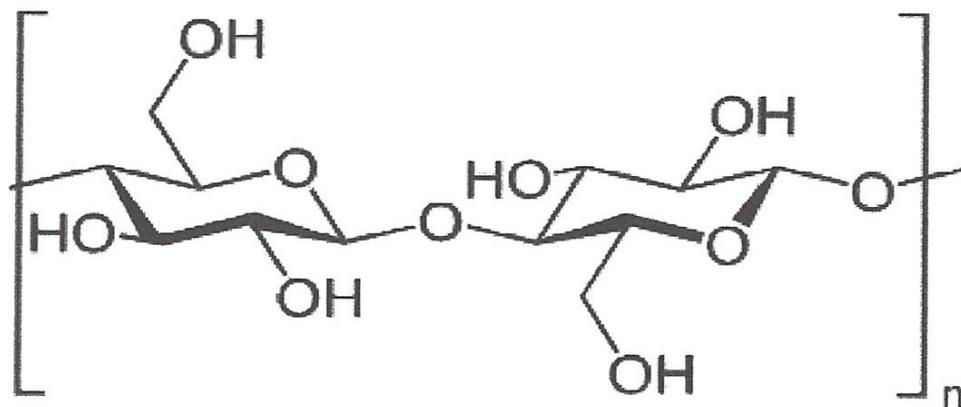


Figure 09 : Représentation de la chaîne de cellulose [24].

b. Pectine :

La structure principale des pectines est formée de chaînes linéaires faiblement polymérisées d'acides galacturonique liés en α -(1 \rightarrow 4), appelé acide polygalacturonique, sur les quelles s'insèrent des résidus de L-rhamnose [25].

Les pectines sont une classe complexe de phytopolysaccharides qui entre dans la composition des parois cellulaires végétales sont les constituants essentiels de la paroi primaire des plantes supérieures et de la lamelle moyenne à la base du « ciment » qui réunit les cellules entre elles.

La pectine a des propriétés entérosorbantes, c'est-à-dire qu'elle peut adsorber certains métaux lourds et radionucléides lors de son passage dans le tube digestif. Cette propriété pourrait être liée à sa capacité à échanger des ions [25].

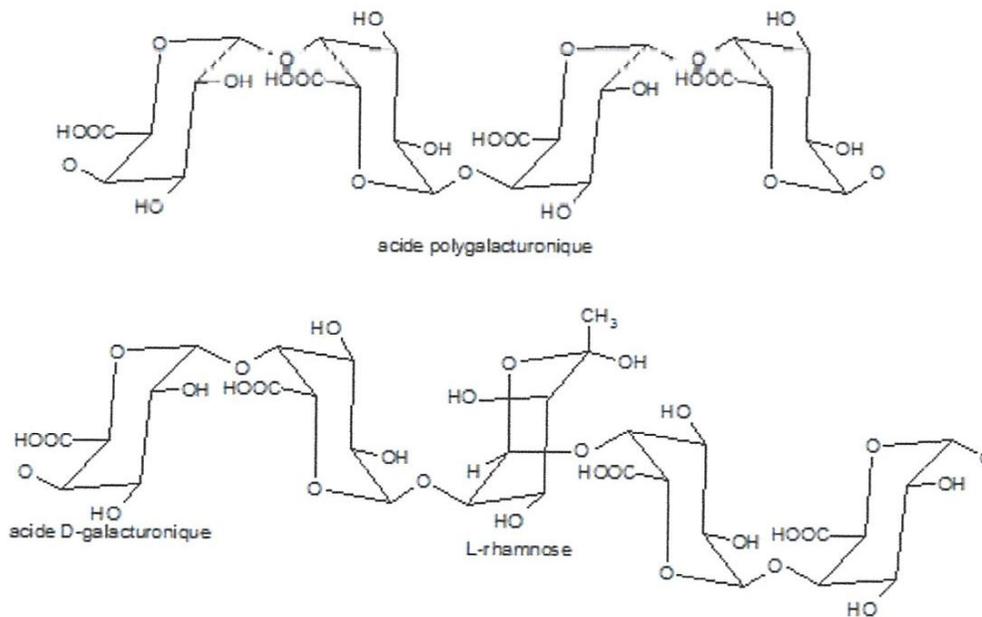


Figure 10 : Représentation de la chaîne de pectine [26].

c. Hémicellulose :

Les hémicelluloses sont présentes dans les aliments d'origine végétale, sous forme soluble ou insoluble. Dans leur état naturel, elles ont un degré de polymérisation compris entre 200 et 300 et leur structure est fonction de l'espèce végétale [27].

Les hémicelluloses comprennent une grande variété de polysaccharides avec des structures composées à la fois de chaînes linéaires et ramifiées constituées d'unités de pentose (xylose et arabinose), d'hexoses (glucose, galactose, mannose), acides hexuroniques (acides glucuroniques et galacturoniques) et déoxyhexoses (rhamnose et fucose) [27].

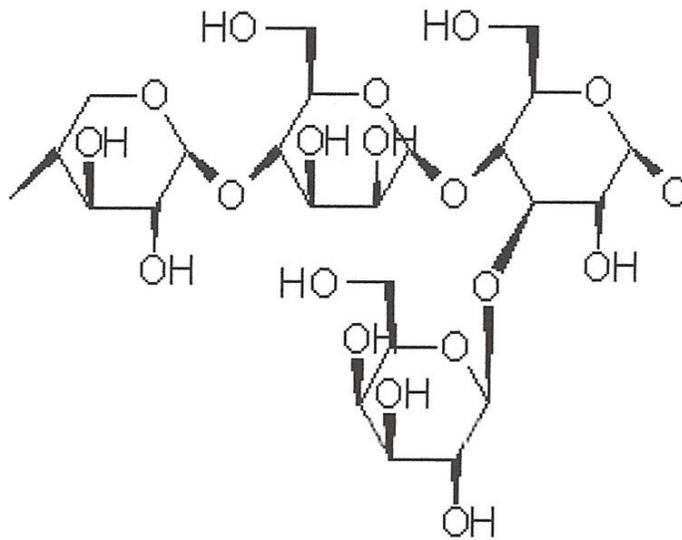


Figure 11 : Structure de hémicelluloses [28].

2.4.2. Les polysaccharides de réserve :

A. Amidon :

L'amidon est un polymère que l'on rencontre dans des végétaux. Les principales sources de production sont les pommes de terre, les céréales et le riz.

Le motif principal de répétition de l'amidon est composé de deux α -D-glucanes : l'amylose et l'amylopectine dont la proportion massique dans la plupart des amidons est de 20 à 30 % d'amylose contre 70 à 80 % d'amylopectine [29].

- L'amylose est le polymère linéaire d'un degré de polymérisation moyen en nombre supérieur à 100 dont les résidus glucosyles sont liés en α (1-4) comme présenté dans la figure (12)
- L'amylopectine est le polymère ramifié d'un degré de polymérisation moyen en nombre de 104 à 105 et donc dans ce cas, les résidus glucosyles sont liés en α (1-4) et en α (1-6) comme présenté dans la figure (13) [29].

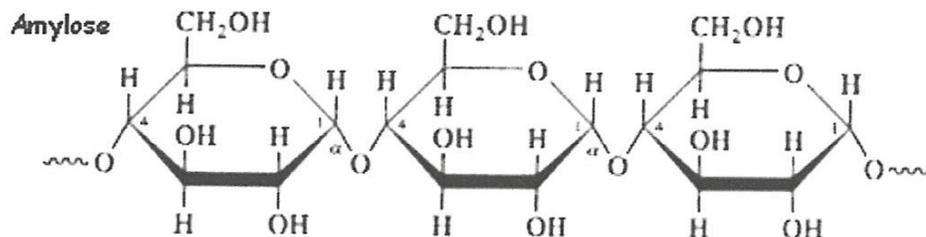


Figure 12 : Représentation de l'amylose [30].

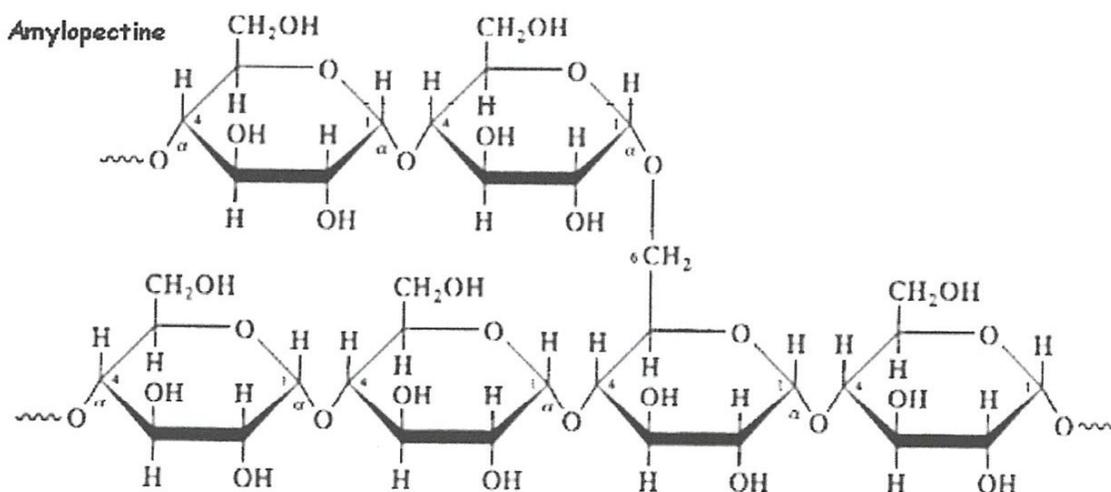


Figure 13 : Représentation de l'amylopectine [30].

L'amylose et l'amylopectine ne sont que deux des nombreux polysaccharides pouvant former des structures hélicoïdales. L'amylose est hydrosoluble dans l'eau bouillante alors que l'amylopectine ne l'est pas. La principale propriété lorsque l'amidon est conditionné sous forme de film est sa faible perméabilité et sa dégradation aisée en présence de microorganismes [29].

B. Inuline :

L'inuline n'est pas simplement une molécule. C'est un mélange d'unités de polymères linéaires de fructose et d'oligomères de fructose, dans lequel les unités de fructose sont reliées par des liaisons β (2-1). Il y a souvent une molécule de glucose à l'extrémité de chacune de ces chaînes de fructose, attaché par une liaison α (1-2).

L'inuline est utilisée dans l'industrie comme ingrédient dans différentes préparations agro-alimentaires. Le degré de polymérisation varie et conditionne la fonctionnalité. Les polymères contenant moins de dix unités de fructose, nommés fructo-oligosaccharides, sont utilisés comme agents sucrants. Les polymères comprenant plus de dix unités de fructose n'ont pas de pouvoir sucrant mais sont utilisés pour améliorer la texture des aliments ou remplacer des matières grasses [31].

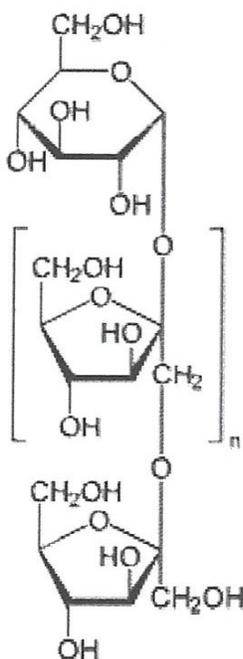


Figure 14 : Structure de l'inuline [32].

C. Gomme de Caroube :

La gomme de caroube est constituée d'un D-galacto-D-mannane presque pur (90-95%), ce polymère est formé par l'enchaînement de β -D mannose liés en 1 \rightarrow 4 avec des branchement latéraux d'une seule unité d' α -D galactose liée en α (1 \rightarrow 6).

La gomme de caroube est utilisée comme épaississant en technologie alimentaire. La poudre a une saveur douce rappelant celle du chocolat et est utilisée pour adoucir la nourriture et comme ersatz de chocolat. Elle est aussi utilisée dans les produits non comestibles comme la nourriture pour animaux, les produits miniers, la fabrication du papier ou pour épaissir les textiles. Elle est utilisée dans les cosmétiques et pour rehausser la saveur des cigarettes. Elle est aussi utilisée comme additif dans les cirages et les insecticides [4].

2.4.3. Les polysaccharides exsudats :

a. Gommés (exsudats) :

Les exsudats ou les gommés et les mucilages sont des classes de polysaccharides végétaux très proches et difficilement dissociables. Il est difficile de résoudre le problème de savoir si un exsudat de plante ou un extrait doit être nommé gomme (collante) ou mucilage (visqueux, gluant) [4].

a.1. Gomme arabique :

La gomme arabique est un polysaccharide acide qui se présente sous la forme de mélanges de sels de potassium, de magnésium et de calcium. Les éléments monomères de l'acide libre (acide arabique) sont le D-galactose, le L-arabinose, le L-rhamnose et l'acide D-glucuronique. Ses propriétés physico-chimiques font qu'elle a de nombreuses utilisations dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutiques, cosmétiques (un produit de grand commerce au niveau international) [33].



Figure 15: La gomme arabique [33].

a.2. Gomme ghatti :

C'est un polysaccharide complexe contenant du D-mannose, du D-galactose du L-arabinose, du D-xylose et de l'acide D-glucuronique. Elle se disperse dans l'eau en formant des solutions très visqueuses [4].

La gomme ghatti est l'exsudat visqueux d'un arbre des forêts de l'Inde et du Sri Lanka.

b. Mucilages :**b.1. Mucilages des malvales :**

Les espèces végétales réparties dans les différentes familles qui constituent l'ordre des malvales renferment très souvent des cellules ou des canaux mucilagineux. La pharmacie et la phytothérapie utilisent très couramment des malvaceae comme la mauve (*Malva Sylvestris* L) et la guimauve (*Althoeaofficinalis* L) ; des tiliaceae comme (tilleuls) [4].

b.2. Lin :

Le mucilage représente 10 % de la composition totale de la graine il peut être fractionné en une fraction neutre qui est un arabinoxylane ramifié composé de D-xylose, de L-arabinose, de D-glucose et de D-galactose et une fraction acide principalement composée de L-rhamnose et de D-galactose. La présence d'un mucilage justifie l'emploi de la graine de lin comme laxatif à effet de lest [22].

3. Applications industrielles des polysaccharides :

A l'heure actuelle, les polysaccharides amphiphiles trouvent des nombreuses applications dans l'industrie alimentaire, cosmétiques, mais aussi dans les peintures, le papier, le textile, le forage pétrolier, grâce à leurs propriétés gélifiantes, épaississantes, hydratantes, et émulsifiantes... en particulier, les propriétés émulsifiantes des polysaccharides amphiphiles sont intéressantes pour améliorer la stabilité des émulsions directes (huile dans l'eau) ou l'inverse (eau dans l'huile). Les applications de ces émulsions se situent dans des domaines comme la médecine (vaccins), la pharmacie (crème, pommade, dérive vitamines ou hormonaux), les cosmétiques (shampooing lotion), l'agroalimentaire (crème glacée) et l'agrochimie (herbicide, insecticides). La synthèse des biomatériaux (élaboration de nanoparticules amphiphiles a cœur hydrophobe) [17].

3.1. Applications industrielles agro-alimentaire de carraghénane :

Les carraghénanes sont extraits de certaines algues rouges et utilisés comme gélifiant dans l'industrie agroalimentaire. Cette activité permet d'aborder les aspects de l'extraction industrielle, des différences de solubilité de la molécule selon le milieu et des propriétés gélifiantes du produit obtenu. On peut ainsi fabriquer des « yaourts » [22].

3.2. Applications médicales et pharmaceutiques :

Les polysaccharides sont les principales substances nutritives de la plupart des organismes, Ils fournissent l'énergie et les carbones nécessaires pour la biosynthèse de protéines, d'acides nucléiques, de lipides et d'autres glucides [22].

Les herbes officinales, contenant des polysaccharides sont largement utilisées pour le traitement des maladies dans la médecine traditionnelle et moderne.

Les polysaccharides issus des plantes médicinales africaines ont des activités immunostimulantes et peuvent permettre de stimuler le système immunitaire dans le cas d'une fragilité de ce système par certaines maladies [22].

Les polysaccharides ont reçu, en raison de leurs propriétés immunomodulatrices, une attention particulière de la part des chercheurs œuvrant dans le domaine biomédical. Plusieurs polysaccharides fongiques ont en effet la particularité de stimuler les défenses de l'hôte en favorisant la maturation, la différenciation et la prolifération des cellules immunitaires, ce qui leur confère plusieurs propriétés thérapeutiques notamment des propriétés anticancérigènes, antibactériennes et antivirales [22].

Les poly- et oligosaccharides représentent de véritables auxiliaires indispensables au bon fonctionnement de la vie quotidienne. Un intérêt grandissant concerne leurs applications comme activateurs biologiques. Les oligosaccharides sont de véritables modulateurs biologiques qui participent à de nombreux phénomènes de signalisation dans l'organisme. Ainsi, les oligosaccharides provenant de la dégradation des polysaccharides des plantes (xyloglucane et pectine) ou de champignons (β -glucane et chitine) sont largement décrits comme des régulateurs biologiques actifs, sur des mécanismes tels que la croissance, le développement cellulaire, la symbiose et les réactions de défense [4].

3.3. Applications alimentaires et métaboliques :

Les polysaccharides sont des sources d'énergie courantes. Plusieurs organismes facilement peuvent se casser vers le bas de l'amidon en glucose, cependant, la plupart des organismes ne peut pas métaboliser cellulose ou autre polysaccharides comme la chitine et les arabinoxyanes.

Ces types d'hydrates de carbone peuvent être métabolisés par des bactéries et des protistes. Les ruminants et les termites, par exemple, utilisent micro-organismes pour traiter la cellulose.

Dans les applications alimentaires on prend par exemple les carraghénanes. Les carraghénanes sont traditionnellement utilisés dans l'industrie laitière car ils interagissent avec la K-caséine du lait pour former un gel. La K-caséine a un PH isoélectrique de 4,4. En dessous de ce PH, la protéine est chargée positivement et interagit avec les carraghénanes chargés négativement. La présence d'ions Ca^{2+} favorise la gélification par formation de ponts Ca^{2+} entre les molécules [22].

Tableau 01 : Fonctions et applications des principaux polysaccharides utilisés dans l'industrie alimentaire [21]

| Polymères | Sources principales | Fonctions | Applications |
|---|--|--|--|
| Amidon (Amylose et Amylopectine) | Graines et tiges de céréales. | Agent stabilisant, texturant et gélifiant. | |
| Carboxymethylcellulose | Cellulose de plant de coton | Agent stabilisant, texturant rétention de l'eau. | Crème glacée, pâtes à frire, sirops, mélanges à gâteaux, produits carnés. |
| Carraghénanes | Algues rouges (Gigartina, Gracilaria, Eucheuma ssp) | Agent stabilisant, texturant et gélifiant | Crème glacée, desserts, produits carnés, assaisonnements, pudding instantanés. |
| Alginates | Algues brunes (Mavrocystis, Ascophyllum, Lamincricia, Eckdonia ssp). | Agent stabilisant, texturant. | Crème glacée, pudding instantanées, boissons. |

| | | | |
|----------------------------|--|---|--|
| Agar | Algues rouges (Gelidium ssp) | Agent gélifiant | Produits laitiers, produits carnés. |
| Gomme arabique | Extrait de sève d'acacia Senegal. | Agent stabilisant, texturant et émulsifiant, encapsulation. | Confiseries, boulangeries, pâtisseries, boissons, sauces. |
| Galactomannanes | Gomme de guar et de locusie, gomme de graines de caroube | Agent stabilisant, rétention de l'eau. | Produits laitiers, crème glacés, desserts, boulangeries, pâtisseries. |
| Pectines | Pommes, citron et autres fruits. | Agent gélifiant, texturant et stabilisant. | Confitures, agents de conservation, boissons, boulangeries, pâtisseries, confiseries, produits laitiers |
| Gomme de tragacathe | Astragalus ssp. | Agent stabilisant, texturant et gélifiant | Produits laitiers, assaisonnements, sauces, confiseries. |
| Gomme de Xanthane | Xanthomonascam pestris. | Agent stabilisant et gélifiant. | Assaisonnements, boissons, produits laitiers. |

Conclusion :

Les polysaccharides simples ou complexes synthétisés par des organismes vivants entrent dans la composition de la plupart des cellules (microbiennes, animales et végétales).

Les polysaccharides végétaux sont utilisés dans de nombreux domaines industriels comme l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique grâce à leurs propriétés physiques et rhéologiques.

CHAPITRE II :

Présentation de la plante d'étude

Introduction :

La famille des cucurbitacées est l'une des groupes les plus génétiquement diverse de plantes alimentaires. Les plantes de cette famille sont généralement tolérantes à la sécheresse, intolérantes à l'humidité et sensible au froid. Certains membres bien connus de cette famille sont la pomme amère, gourde, concombre, melon, et le potiron. *Citrullus colocynthis* communément appelé coloquinte, Bitter Apple en anglais ; cette plante est largement distribuée dans les zones désertiques du monde, elle était connue pour ses propriétés thérapeutiques comme un laxatif, antirhumatisme, anti diabétique, et un remède contre les infections de la peau [34].

1. Définition de la coloquinte :

La coloquinte (*Citrullus colocynthis*, est une plante herbacée vivace de la famille des Cucurbitacées. Elle est cultivée dans les pays tropicaux comme plante médicinale pour la pulpe de ses fruits, qui est amère et toxique [35].



Figure 01: *Citrullus colcoynthis* (Cucurbitacées) [37].

2. Noms vernaculaires:

Arabe: Handal, Hadag, Handhal, Hantal, Hadjja;

Berber : Taberka, Tefersite, Tadjellet,

Français : coloquinte, chicotin

Anglais : Colocynth, bitter apple, bitter gourd

Allemand : Bitterzitrulle, Bitterapfel

Inde : Tumba ou Gartoomba

Italien : coloquintida, popone amaro coloquinte [35].

Malgré l'amertume de cette plante, les fruits sont mangés par les animaux de pâturage comme les gazelles, les ânes et les autruches ; les graines sont stockées par les rongeurs pour leur richesse nutritive. Les caprins et le gibier se nourrissent quant à eux de tiges et de feuilles de coloquinte.

Les bédouins consomment les graines après les avoir trempées dans l'eau, ce qui leur donne un apport en lipides et en protéines, et sont ainsi capables de survivre dans des conditions extrêmes. [37]

3. Position taxonomique de la coloquinte :

Citrullus colocynthis appartient à la famille des cucurbitacées qui comprend à peu près 100 genres et 750 espèces. Cette famille est connue pour sa grande diversité génétique et sa grande adaptation aux régions tropicales, subtropicales et les déserts arides.

En région tempérée, cette famille est connue particulièrement par ses fruits comestibles : les courges (*Cucurbita*), les melons (*Cucumis melo*), les concombres (*Cucumis sativus*), les pastèques (*Citrullus lanatus*)...

La coloquinte constitue la transition entre les espèces alimentaires et les espèces toxiques comme la byrone (*Byronia*) ou le concombre d'âne (*Ecballium*) puisqu'une consommation excessive de ces fruits peut entraîner la mort.

La botanique à laquelle incombe la classification des espèces végétales, différencie la famille des cucurbitacées de la façon suivante:[37]

| | |
|-----------------------|------------------------------|
| <u>Règne</u> | Végétale |
| <u>Sous règne</u> | Plantes Vasculaires |
| <u>Super division</u> | Spermaphytes |
| <u>Division</u> | Angiospermes |
| <u>Classe</u> | Dicotylédones |
| <u>Sous classe</u> | Dialypétales |
| <u>Ordre</u> | Violales |
| <u>Famille</u> | Cucurbitacées |
| <u>Genre</u> | <i>Citrullus</i> |
| <u>Espèce</u> | <i>colocynthis</i> [35] [36] |

On peut trouver la coloquinte sous d'autres noms tels que: *Cucumis colocynthis* Linn; *Colocynthis vulgaris* Schrader; *Cucumis pseudocolocynthis* Wender et *Colocynthis officinalis*, Schrader [37].

4. Description morphologique :

C'est une plante rampante herbacée, annuelle ou vivace :

- Les tiges angulaires, rugueuses, rampantes ou migrantes et rudes ;
- Les feuilles de 5 à 10 cm de longueur, ont un limbe découpé en 5 à 7 lobes ;
- Les fleurs jaune verdâtre, monoïques à sexes séparés, solitaires, apparaissent l'été entre Mai et Août à l'aisselle des feuilles. La corolle de couleur jaune comporte cinq lobes ;
- Les fruits sphériques de 7 à 10 cm de diamètre, ressemblant à une petite pastèque, de couleur verte panachée de jaune clair, devient complètement jaune à maturité. La chair légère, spongieuse, de couleur jaune orangé. Une plante produit 15 à 30 fruits ;
- Les graines de petite taille (6mm de longueur), ovoïdes et aplaties, lisse, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et ont une saveur amère [35].

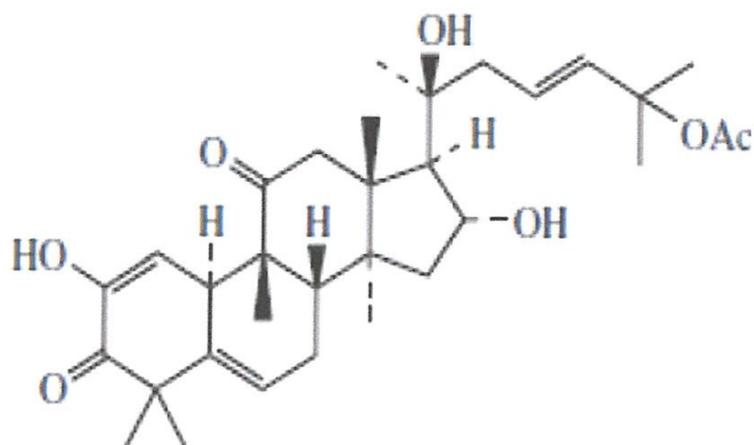


Figure 03 : Structure de la cucurbitacine E [37].

La présence des cucurbitacines responsables de l'amertume peut engendrer des propriétés purgatives de cucurbitacées (racine de byrone, fruit de coloquinte, suc d'élatrium)[37].

Le screening phytochimique de différentes parties de la coloquinte (racines, tiges, graines et feuilles) permet de caractériser les familles de composés chimiques existants dans la plantes.

Les graines de coloquinte contiennent 26,6% d'huiles, 13,5% des protéines, 2,1% des cendres, 52,9% des fibres brutes, 4,9% d'azote libre et contient 322 mg/100g de potassium, 119 mg/100g de phosphore et 3,3 mg/100 g de fer. Elles contiennent aussi la phytosteroline (ipurand), 2 phytostérols, 2 hydrocarbures, saponines, alcaloïdes, polysaccharides, glycosides, et des tanins, comme métabolites secondaires [35].

Le tableau suivant résume la composition en métabolite secondaire des différentes parties de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) : [35]

Tableau 01: Composition en métabolites secondaires des différentes parties de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) [35].

| Métabolites | Partie | Composés | Références |
|-------------|-----------------|---|---------------------------------------|
| Flavonoïdes | Fruits | isovitexine, iso-orientine 3'-methyl ether iso-orientine | Maatooq et al., 1997 |
| | Partie aérienne | 8-C- <i>p</i> -hydroxybenzoyl- iso-vitexine, 6-C- <i>p</i> -hydroxylvitexine 8-C- <i>p</i> -hydroxybenzoyl- iso-vitexine 4' -O- glucoside | |
| Saponines | Fruits | 2-O-B-D glucopyranosyl cucurbitacine I, J, K et L | Seger et al., 2005 |
| Glycosides | Fruits | 2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine E, 2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine L 2-O-β-D-glucopyranosyl-(22-27) hexano cucurbitacine I | Natiq et al., 1989 |
| | | trois flavone glycosides : isosaponarine, isovitexine et isoorientine 3'-O- méthyle éther; deux glycosides cucurbitacines : 2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine I 2-O-β- Dglucopyranosyl- cucurbitacine L | Delazar et al., 2006 |
| | | deux nouveaux glycosides triterpéniques cucurbitacines : colocynthosides A et B | Yoshikawa et al., 2007 |
| | Pulpe | α-élaterine-2-D-glycopyranoside | El Khadem et Abdel-Rahman, 1963 |
| Alcaloïdes | Fruits | - une choline - dérivés de la pyridine : C ₁₀ H ₁₅ N O ₃ et C ₂₀ H ₃₂ NO - le dérivé de la pyridine ou de la quinoline : C ₁₆ H ₂₄ NO ₇ | Darwish-Sayed et al., 1973 |

7. Actions thérapeutiques :

Les graines de la coloquinte sont largement répandus dans la médecine traditionnelle, car elles possèdent diverses propriétés thérapeutiques : purgatives, anti-tumorale, anti inflammatoire, antirhumatismal, contre les troubles urogénitaux, la leucémie, l'ictère, la fièvre, l'ascite, les désordres biliaires, les hémorroïdes et constipation, l'œdème, les infections bactériennes et le cancer.

Les racines sont employées dans les traitements de l'ictère, les maladies urinaires et le rhumatisme, les douleurs de joint, l'inflammation et extérieurement dans les maladies ophtalmiques.

Les feuilles sont employées pour le traitement de l'ictère et l'asthme. Elles sont utilisées contre l'hémorragie, prescrites pour soulager les douleurs des membres inférieurs, le dos et les articulations.

L'huile extraite à partir des graines est employée pour traiter des morsures (de serpent, de scorpion), épilepsie, pour favoriser la croissance de cheveux et pour noircir les cheveux gris [35].

Plusieurs effets thérapeutiques des différentes parties de la coloquinte ont été recherchés scientifiquement au laboratoire *in vivo* et *in vitro* [35]

Tableau 02: Quelques études sur les effets thérapeutiques de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) à travers le monde [35]

| Région | Métabolites / parties utilisées | Effets thérapeutiques | Références |
|-----------------|---|--|--------------------------------------|
| Iran | Flavonoïdes (Fruits) | Pouvoir antioxydant important | Delazar et <i>al.</i> , 2006 |
| Arabie Saoudite | Extrait éthanolique (pulpe) | Pouvoir antioxydant puissant contre le stress oxydatif chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane. | Dallak et Bin-Jaliah, 2010 |
| | Glycoside triterpène Cucurbitacines E et I (Fruits) | Pouvoir anticancéreux (Carcinome hépatocellulaire) | Ayyad et <i>al.</i> , 2012 |
| Inde | Extrait méthanolique (Fruits) | Pouvoir antioxydant | Kumar et <i>al.</i> , 2008 |
| | Extrait méthanolique (graines) | Antiulcéreux | Gill et <i>al.</i> , 2011 |
| Soudan | Graines | Activité cancérogène après administration épicutanée chronique aux Souris | Habs et <i>al.</i> , 1984 |
| Egypte | Cucurbitacine E (Fruits) | Une activité antiallergique (un effet inhibiteur sur l'oreille : réactions passifs anaphylactiques cutanées comme un modèle de type I allergique chez la souris) | Yoshikawa et <i>al.</i> , 2007 |
| Tunisie | Extrait aqueux et extrait acétone (différent parties) | Effet antibactérien (sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>) et antifongique (<i>Candida albicans</i> et <i>Candida glabrata</i>) | Marzouk et <i>al.</i> , 2009; 2010a. |
| | Extrait aqueux (différent | Propriétés analgésiques et anti-inflammatoire | Marzouk et <i>al.</i> , |

| | | | |
|-----------------|---|---|-----------------------------------|
| | parties) | | 2010b; |
| | Extrait aqueux (feuilles) | Effet anticoagulant et anti microbien | Marzouk et <i>al.</i> , 2012 |
| Inde | Extrait méthanolique (feuilles) | Activité anti-inflammatoire | Rajamanickam et <i>al.</i> , 2010 |
| Pakistan | Extrait méthanolique (fruits) | Anti hémorragique contre les morsures de serpents | Asad et <i>al.</i> , 2012 |
| Algérie | Extrait aqueux (fruits) | Activité immunostimulante. | Bendjeddou et <i>al.</i> , 2003 |
| | Huile fixe des graines | Anti- hyperlipidémique chez les rats obèses | Meziane et <i>al.</i> , 2012 |
| Inde | Extrait d'éther de pétrole (Fruits) | Effets anti diabétiques chez les rats rendus diabétiques par STZ | Jayaraman et <i>al.</i> , 2009 |
| | Extrait aqueux, éthanolique et chloroformique (racines) | Effet hypoglycémiant sur des rats normaux et rendus diabétiques par l'alloxane | Aparwal et <i>al.</i> , 2012 |
| Egypte | Extrait des graines | Effets hypoglycémiant, hypolipémiant chez les rats normaux et rendus diabétiques par STZ | Abdel- Baky et <i>al.</i> , 2009 |
| Iran | Poudre (Fruits) | Effets antidiabétique sur des patients diabétiques de type 2 | Huseini et <i>al.</i> , 2009 |
| | Extrait des graines et de Pulpe | Effets hypoglycémiant chez les lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane | Dashti et <i>al.</i> , 2012 |
| Iraq | Extrait aqueux, Saponines, alcaloïdes et glycosides | Effets hypoglycémiant et anti- hyperglycémiant chez les lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane | Abdel Hassan et <i>al.</i> , 2000 |
| Maroc | β -(Pyrazol-1-yl)-L-alanine (Graines) | Activité insulino-stimulante | Nmila et <i>al.</i> , 2000; 2002 |

8. Utilisation populaire :

Il y a plusieurs modes d'utilisation:

- Pulvérisée, la coloquinte est très utilisée contre les hémorroïdes en application locale soit seule, soit associée à des feuilles de tabac ;
- La décoction de la coloquinte serait insecticide, elle est indiquée pour la destruction des puces ;
- Bouillies et torrifiées, les graines de coloquinte sont utilisées comme aliment de bétail dans les régions Saharienne ;
- Concernant le traitement du diabète par la coloquinte, plusieurs modes d'utilisation ont été mentionnés :

- graines séchées (mettre une sous la langue 2 à 3 graines par jour).
- Décoction de 30g des graines broyées dans 1 litre d'eau et à prendre oralement 3 X50ml, par jour.
- fruits frais coupés en tranche utilisés dans le bain de pied.
- préparation d'une poudre à partir de l'épicarpe séché et mélangé avec les aliments [35].

9. Toxicité :

Depuis les périodes bibliques, les fruits de la coloquinte sont considérés comme poison mortel.

La coloquinte est une plante irritante. Elle agit même à des doses modérées, produisant abondamment des évacuations aqueuses, des inflammations de la membrane muqueuse des intestins, des vomissements et des selles sanglantes.

Les effets toxiques après utilisation chronique de cette plante, provoquent une hypokaliémie, oligurie et les œdèmes, semblable à une néphrite aiguë [35].

Conclusion :

La coloquinte « *Citrullus colocynthis* » est une plante de la famille des cucurbitacées. Elle est largement distribuée dans les zones désertiques du monde. La « *citrullus colocynthis* » est considérée comme une plante médicinale pour la pulpe de ses fruits, qui est amère et toxique et grâce à leurs propriétés thérapeutiques.

Elle est utilisée comme un médicament traditionnel pour certaines maladies comme le diabète et contre les hémorroïdes, aussi utilisée comme aliment de bétail dans les régions Saharienne.



**La partie
expérimentale**

CHAPITRE III :

Méthodologie de travail

Introduction :

Dans le présent chapitre, il est traité le principe adopté, le matériel utilisé, l'étude de la composition chimique et de la matière végétale, la caractérisation des polysaccharides isolés. Chacune des parties, est structurée selon les objectifs recherchés dans ce travail.

1. Présentation de la zone d'étude :

La région d'étude couvre une superficie de 163,230 Km², elle se trouve a une altitude moyenne de 175m, sa latitude est de 32° ,45' Nord et 31° ,45' Sud ; sa longitude est de 5° , 20' Est, et 5° 45 Ouest. C'est une région plane de faible altitude allant de 30 à 20 m. Elle est limitée par la Tunisie en Est et la wilaya de Tamanrasset et Illizi par le Sud, et la wilaya de Ghardaïa et la wilaya de Djelfa à l'Ouest et au Nord par la wilaya d'EL-Oued. [38]

Les sols sont constitués de sable quartzueux, le climat de la région présente un contraste particulier malgré la latitude relativement septentrionale.

L'aridité est importante, elle s'exprime non seulement par des températures élevées en été, par la faiblesse des précipitations, mais surtout par l'importance de l'évaporation due à la sécheresse de l'air [38].

Le climat de cette région est caractérisé par une faiblesse et des précipitations irrégulières à travers les saisons et les années, Les valeurs des précipitations enregistrées en 2013 montrent un total annuel de 41,6 mm. Le mois le plus pluvieux est décembre avec 24 ,5mm. Par contre durant une période de dix ans (2003 - 2013), le mois le plus pluvieux est le mois d'avril (30,64 mm) avec un cumul annuel moyen de 74,33 mm.

Le mois de janvier est le mois le plus froid durant l'année 2013, dans la région d'Ouargla, dont on a enregistré une température minimale de 4,9°C. Par contre, le mois le plus chaud est juillet avec une température de 35,65 °C.

La région d'Ouargla est caractérisée par des vents fréquents avec une vitesse annuelle moyenne de 17,83 m/s, une vitesse moyenne maximale de 25 m/s (janvier) et une vitesse moyenne minimale de 11 m/s (octobre).

Le taux d'humidité relative varie d'une saison à l'autre, mais il reste toujours faible. Les valeurs maximales de l'humidité relative de l'aire sont enregistrées en janvier avec respectivement 56% ; par contre la plus faible valeur est notée durant le mois de juillet (16%)[38].

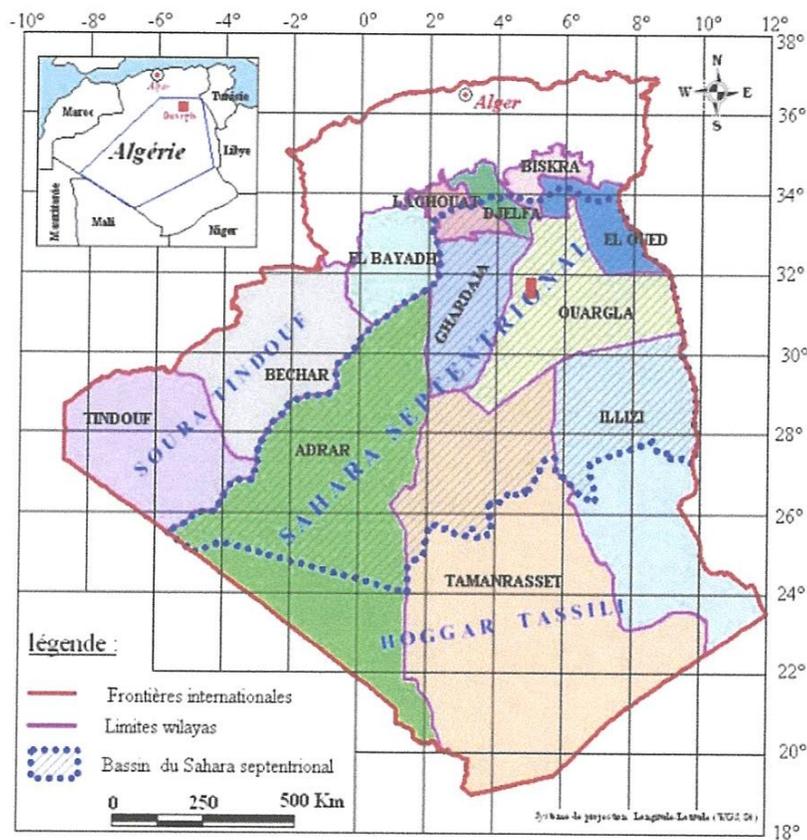
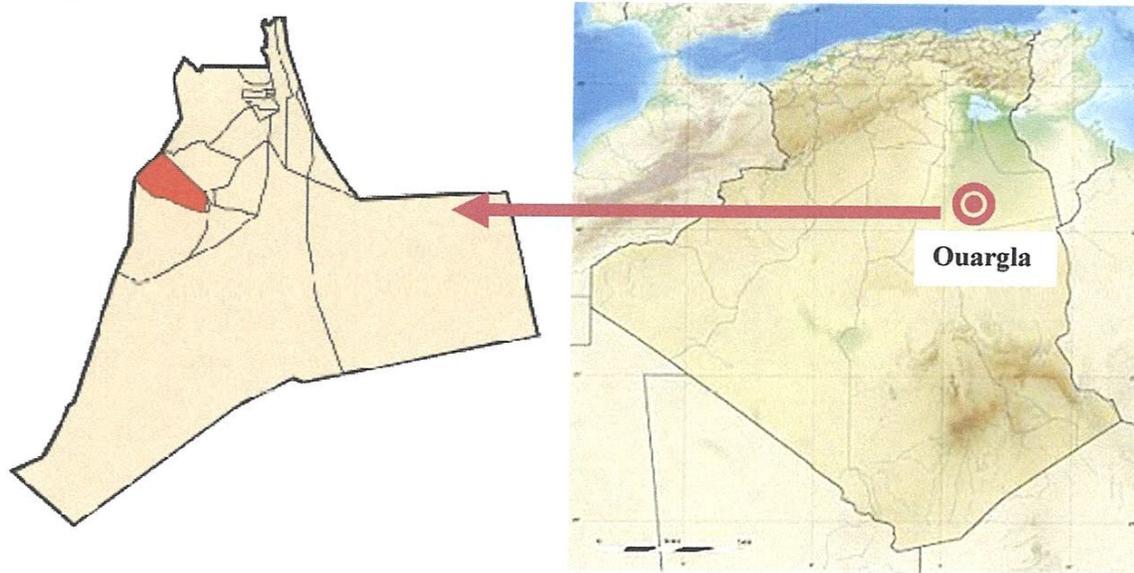


Figure 01 : Carte géographique représentative de la région d'étude [39].

2. Principe d'étude :

Le présent travail s'oriente sur l'étude des polysaccharides dans une plante spontanée médicinale de la région d'Ouargla.

L'objectif de ce travail est d'optimiser les conditions d'extraction des polysaccharides d'une plante spontanée connue sous le nom **Handal** et sous le nom scientifique la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) et l'étude de leur composition globale, par des méthodes colorimétriques. De même des analyses qualitative et quantitative des résidus glycosidiques par chromatographie sur couche mince et par infra rouge .

3. Matériels d'étude :

Le matériel d'étude regroupe les produits, l'appareillage et le matériel végétal.

3.1. le matériel végétal :

Notre étude est portée sur les fruits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*); famille des cucurbitacées ; sont récoltés à maturité durant le mois de décembre dans la région d'Ouargla, Sud-est algérien.

Au laboratoire, les graines sont récupérées à partir des fruits et mises à sécher à l'abri de la lumière. Les graines séchées sont ensuite broyées en poudre fine à l'aide d'un mortier[40].



Figure 02 : Schéma qui représente les graines de la coloquinte

3.2. Produits et appareillages utilisés :

3.2.1. Produits et réactifs :

La nature, l'origine et la pureté des solvants et des réactifs utilisés au cours de ce travail sont indiquées dans le tableau 01.

Tableau 01 : Liste des principaux réactifs utilisés

| Produits | Formule | PM (g/mol) | Pureté (%) | Densité (g/cm ³) |
|-------------------------|---|------------|------------|------------------------------|
| Ether de pétrole | CH ₃ -(CH ₂) _n -CH ₃ | / | / | 0,65 |
| Ethanol | C ₂ H ₆ O | 46,07 | 95 | 0,8051-0,8124 |
| Acétone | C ₃ H ₆ O | 58,08 | 100 | 0,792 |
| Isopropanol | C ₃ H ₈ O | 60,10 | 99,5 | 0,803-0,805 |
| Acide sulfurique | H ₂ SO ₄ | 98,08 | 95-97 | 1,83 |
| Acide chlorhydrique | HCl | 36,461 | / | 1,19 |
| Chloroforme | CHCl ₃ | 119,38 | 99-99,6 | 1,47 |
| Butanol | C ₄ H ₁₀ O | 74,1 | / | 0,8 |
| Méthanol | CH ₃ OH | 32,04 | 99,9 | 0,791-0,792 |
| Acide acétique | C ₂ H ₄ O ₂ | 60,05 | 99,5 | 1,0489-1,051 |
| Diphénylamine | C ₁₂ H ₁₁ N | 169,23 | 98 | 52,5-54,5 |
| Aniline | C ₆ H ₅ NH ₂ | 93,13 | 98 | 1,02 |
| Acide orthophosphorique | H ₃ PO ₄ | 97,9952 | / | 1,834 |

3.2.2. Matériels et équipements scientifiques :

L'appareillage utilisé dans ce travail est indiqué dans le tableau 02.

Tableau 02 : Matériels et équipements scientifiques

| Les appareils | Fournisseur |
|---|----------------------|
| Lyophilisateur | ALPHA 1-2LDPLUS |
| Centrifugeuse | -ULTRA-8TL |
| Réfrigérateur | MAXIPOWER |
| Plaque chauffante avec agitation | LABTECH |
| Evaporateur rotatif | HEIDOLPH |
| Etuve | MEMMERT |
| Four | CONTROLAB |
| Spectrophotomètre Infrarouge | SHIMADZU |
| Balance électronique | SCOUT™ PRO et NAHITA |

4. Technique de séchage, broyage et conservation du matériel végétal :

Les graines, une fois séparées, sont séchées à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre et à température ambiante durant trois semaines.

Le broyage de la matière végétales sèche a été réalisé dans un broyeur, il a permis d'obtenir des poudres utilisées pour l'extraction.

Après séchage et broyage, la poudre a été conservée dans un sachet en papier bien fermé afin de garder leur couleur, gout et principalement leur effet thérapeutique, elle a été stockée soigneusement dans un endroit sec jusqu'à leur analyse [4].



Avant



Après

Figure 03 : La coloquinte avant et après le broyage

5. Méthodes expérimentales :

5.1. Procédure d'extraction des polysaccharides hydrosolubles :

5.1.1. Optimisation de l'extraction des polysaccharides :

- Les graines sont prétraitées par 20 ml d'éther de pétrole pendant 3h pour détériorer les lipides et les chloroformes, [42-44], et après ce temps on fait la filtration avec un papier filtre,
- Puis par 20 ml de l'éthanol 95% pendant 3h [41,45], à température ambiante et sous agitation douce; puis filtrées à travers un tamis en papier filtre, afin d'éliminer les composés solubles dans l'éthanol, tels que les polyphénols, les oses simples et les acides aminés [46].
 - Le résidu des graines prétraitées, est séché à l'étuve pendant 15min [47].
 - Ce dernier subit une macération [48] par l'eau chaude à des temps différents (30 , 60 , 90 et 120 min) et à des températures différentes (40, 60 , 80 , et 100 C°) (Voir le tableau 03) sous agitation douce et avec centrifugation (2000rpm /20 min). [45]
 - Le mélange des extraits (filtrats) est associé et mis dans le congélateur et concentrés sous pression à une température de 60 C° à 72 mbar par un Rotavapor jusqu'à l'obtention du 1/3 de volume initial [41,48].

- Les polysaccharides du concentrât sont précipités à l'aide de 2 volumes de Isopropanol pendant 24 h à une température de 4°C. Après centrifugation à 2000rpm / 20 min [41,46], le culot est récupéré puis séché par lyophilisation [49].
- Le lyophilisat obtenu représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles, pour l'étude de la composition qualitative et quantitative des polysaccharides bruts.

Tableau 03 : variation des facteurs d'extraction des polysaccharides bruts

| N° Expérience | Température (°C) | Temps (min) |
|---------------|------------------|-------------|
| Essai 01 | 40 | 30 |
| Essai 02 | 40 | 60 |
| Essai 03 | 40 | 90 |
| Essai 04 | 40 | 120 |
| Essai 05 | 60 | 30 |
| Essai 06 | 60 | 60 |
| Essai 07 | 60 | 90 |
| Essai 08 | 60 | 120 |
| Essai 09 | 80 | 30 |
| Essai 10 | 80 | 60 |
| Essai 11 | 80 | 90 |
| Essai 12 | 80 | 120 |
| Essai 13 | 100 | 30 |
| Essai 14 | 100 | 60 |
| Essai 15 | 100 | 90 |
| Essai 16 | 100 | 120 |

5.1.2. Le protocole d'extraction :

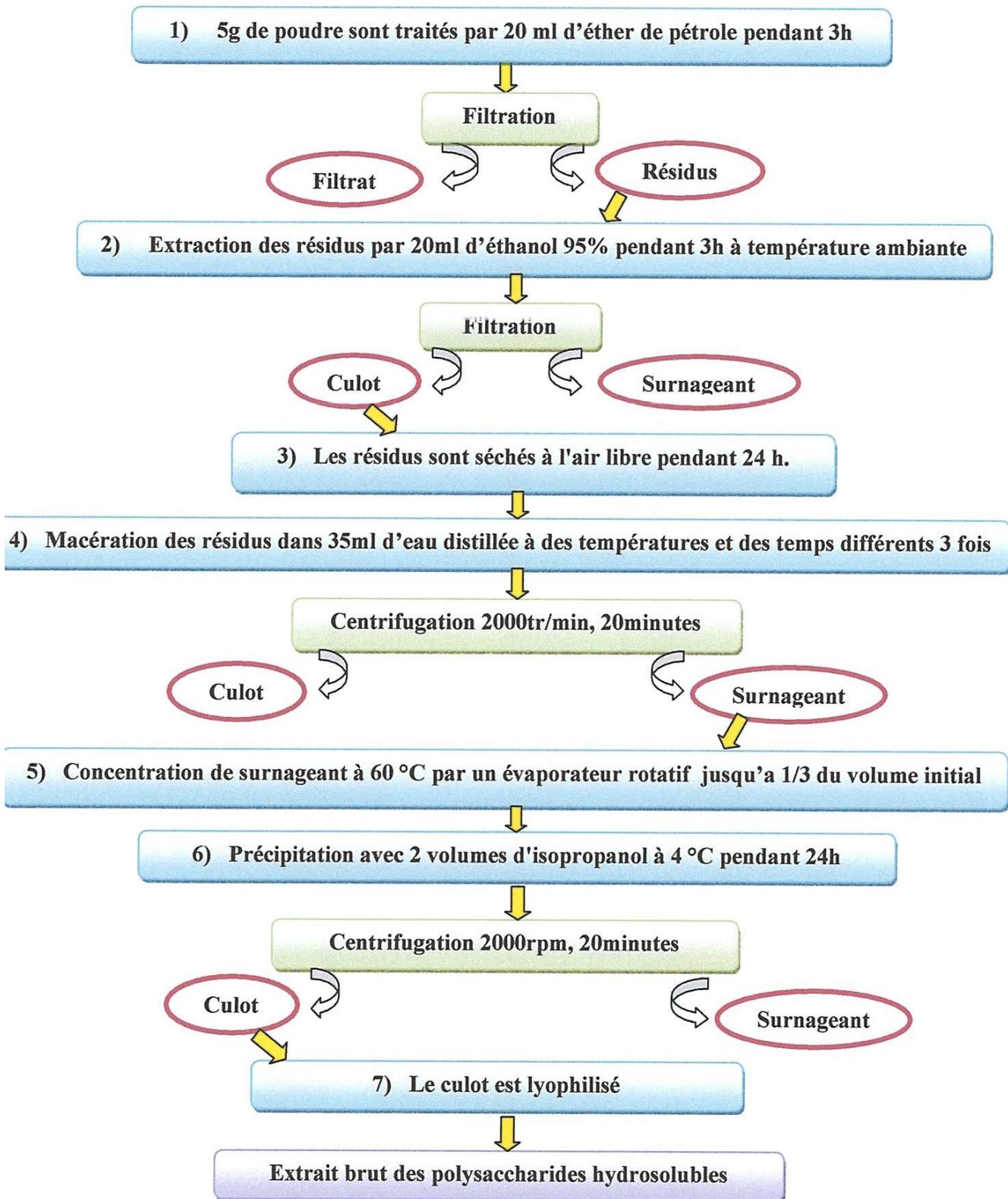


Figure 04 : Etapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles

5.1.3. Calcul des rendements :

Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = [P_{EB} (g) / P_{MS}(g)] \times 100\%$$

R : rendement en polysaccharides bruts

P_{EB} : poids de l'extrait brut de polysaccharides en gramme.

P_{MS} : poids de la matière sèche en gramme. [4]

5.2. Analyses statistiques :

5.2.1. Modélisation des essais d'extraction par la méthode du plan d'expérience :

Les méthodes des plans d'expériences servent à optimiser l'organisation des essais expérimentaux pour obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences tout en conservant la meilleure précision possible sur les réponses calculées via le modèle choisi. Les plans d'expériences sont applicables à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une réponse « Y » et des variables « Xi », qui peuvent modifier la valeur de la réponse. Ajoutons que ces méthodes apportent à l'expérimentateur un puissant outil de réflexion et d'analyse qui lui permettra de conduire son expérimentation avec sûreté et précision. Cet objectif est atteint si l'on suit des règles établies mathématiquement et si on adopte une démarche logique et rigoureuse.

Il faut noter que l'analyse des résultats expérimentaux est facilitée par le choix initial des expériences. Les résultats seront faciles à interpréter et riches de renseignements. [50]

5.2.2. Définition de logiciel d'étude :

La normalité des données a été testé par un logiciel de traitement de données nommé DESIGN-EXPERT.

Vérification des résultats :

Les conditions optimales et le rendement d'extraction maximale prédite ont été obtenus en utilisant le modèle polynomial du second ordre de RSM (Méthode de Surface de Réponse). Le rendement pratique d'extraction acquis a été obtenu dans les conditions optimales.

6. Etude de la composition d'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble :

Les principaux constituants chimiques d'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble des graines de plante, sont caractérisés par des techniques physico-chimiques. Il s'agit de déterminer la teneur en cendres totales, l'humidité, la teneur en matière sèche de plante, dosage des lipides.

6.1. Teneur en cendres totales :

La teneur en cendres est déterminée par séchage de la matière végétale (2,5mg de l'échantillon homogène) dans l'étuve à 105°C à sec, suivi par une calcination au four à moufle à une température de 525°C±25°C, jusqu'à l'apparition d'une coloration blanche ou grise [40].

6.1.1. Calcul :

La teneur en cendres totales est calculée selon la formule: [40]

$$\text{Cendres (\%)} = [(M_2 - M_0) / (M_1 - M_0)] \times 100$$

M_0 : poids de creuset vide (g),

M_1 : poids (creuset+échantillon) avant incinération (g),

M_2 : poids (creuset+cendres) après incinération (g). [40]

6.1.2. Méthodes de détermination de la teneur en cendres totales :

- Mettre la prise d'essai (g) de 100 mg d'extrait brut dans un creuset en porcelaine préalablement séché, soit G_1 le poids du creuset en porcelaine sec.
- Déterminer tous les poids à l'aide d'une même balance.
- Placer le creuset dans le four à moufle.
- Augmenter la température jusqu'à 600°C.
- Calciner à cette température jusqu'à l'apparition d'une coloration blanche ou grise.
- Refroidir le creuset en porcelaine avec la cendre dans un dessiccateur pendant 35 min.
- Peser rapidement ce creuset en porcelaine sur la même balance, soit G le poids du creuset en porcelaine avec la cendre. [4]

6.2. Teneur en humidité :

6.2.1. Principe :

La teneur en humidité des aliments est déterminée par la perte de poids subie après séchage à une température de 103°C pendant 4 heures. Toutefois ce protocole doit être adapté suivant la nature de l'échantillon. [21]

6.2.2. Calcul :

Les résultats sont exprimés en pourcentage en masse du produit brut.

$$\text{Humidité (\%)} = \frac{P_E - (P_1 - P_0)}{P_E} \times 100$$

P_E : poids d'échantillons,

P_1 : poids de capsule + poids d'échantillon,

P_0 : poids de capsule vide

Quatre répétition (A, B, C, D) ont été pris pour déterminer la teneur en humidité. [21]

$$\text{Moyenne d'humidité (\%)} = \frac{(H_A \% + H_B \% + H_C \% + H_D \%)}{4}$$

6.3. Teneur en matière sèche :

$$\text{Matière sèche (\%)} = (100 - \text{Humidité})\%. \quad [21]$$

6.4. Dosage des lipides (ou matières grasses):

Les lipides sont des substances naturelles constituant des structures cellulaires tels que les phospholipides membranaires, les éléments de revêtement (cires, etc.), les substances de réserve et les sources d'énergie cellulaire.

Afin d'extraire et de déterminer la teneur en matières grasses des échantillons (5g d'échantillon), il est utilisé la méthode AFNOR. Elle est basée sur l'extraction solide-liquide, en utilisant l'éther de pétrole comme phase liquide.

Principe : le dosage basé sur la définition des lipides : insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. La quantité de lipides totaux trouvée diffère selon le procédé utilisé. Ce dosage est le plus généralement effectué:

- par extraction directe à l'éther (ou éther de pétrole) par malaxage (produits solides), en ampoule à décanter (liquides) ou en continu (soxhlet); après évaporation du solvant d'extraction, le résidu est séché et pesé.

D'autres solvants d'extraction peuvent être utilisés directement ou après séchage de l'échantillon à l'étuve ou sur sulfate de sodium (par exemple hexane ou mélanges alcool-benzène, dioxane-éther de pétrole..). [40]

7. Caractérisation structurale de polysaccharide hydrosoluble:

L'analyse structurale de polysaccharide, est un exercice souvent difficile. Elle nécessite la mise en œuvre de méthodes complémentaires qui peuvent être chimiques, enzymatiques ou physiques. [40]

7.1. Identification et dosage des résidus glycosidiques :

Pour déterminer la composition osidique d'un polysaccharide, il est procédé à son hydrolyse. Les monosaccharides libérés sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) puis par Infrarouge (IR) [40].

7.1.1. Hydrolyse chimique des liaisons glycosidiques :

25 mg de l'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble de la plante est hydrolysé, à 100°C pendant 5 heures, par 2 ml d'acide chlorhydrique (HCl) 2M dans un tube fermé à l'aide d'un bouchon à vis. Après refroidissement, l'hydrolysate est centrifugé à 2000 tour / 5min. Le surnageant est récupéré, puis l'acide est évaporé à l'aide d'un dessiccateur sous vide [4].

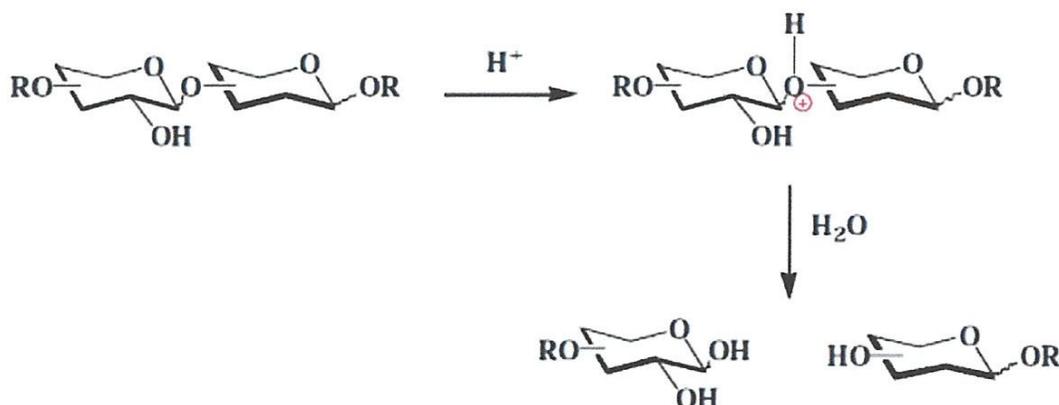


Figure 05 : Mécanisme de dégradation acide de polysaccharide. [51]

Une fois que l'hydrolyse est effectuée, les monosaccharides libérés sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) [4].

7.1.2. Chromatographie sur couche mince des résidus glycosidiques :

7.1.2.1. Définition :

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. [22]

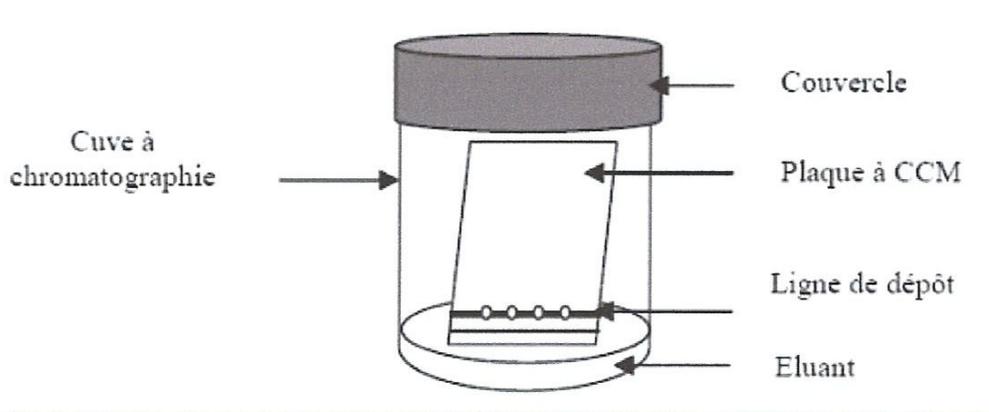


Figure 06 : Représentation de la chromatographie sur couche mince CCM [52].

7.1.2.3. Préparation des solutions étalons :

25 mg de chaque ose; galactose, arabinose, glucose, xylose, mannose, fructose et acide glucuronique est dissous dans 2,5 ml d'eau distillée. [52]

7.1.2.4. Types des plaques :

On utilise des Plaques prêtes à l'emploi, de gel de silice (Silica gel 60 F254) de 0,25 mm d'épaisseur sur feuille d'aluminium ou de verre. [52]

7.1.2.5. Préparation des phases mobiles :

Chloroforme- Butanol- Méthanol- Eau-Acide acétique dans les proportions de 4,5-12,5-5-1,5-1,5 ml.

7.1.2.6. Préparation de révélateur (Réactif de NIGRUM) :

- Préparer deux solutions A et B:

A : 4g de diphenylamine dans 100 ml d'acétone.

B : 96 ml d'acétone complété jusqu'à 100 ml par l'aniline.

- Après mélangé les deux solutions A et B, on ajoute 20 ml d'acide orthophosphorique à 85%. [52]

7.1.2.7. Méthode opératoire de CCM:

Dans un premier stade, on vérifie qualitativement la composition en oses des hydrolysats en déposant en parallèle, sur une même plaque, une série des étalons: arabinose, galactose, glucose, mannose, xylose, fructose et d'acide glucuronique ainsi que des solutions des hydrolysats. A 1,5 cm du bas de la plaque, on dépose à intervalles réguliers 10 µl de chaque solution correspondant à un poids de 100 µg d'ose, on introduit la plaque dans une cuve étanche dont l'atmosphère est saturée par le mélange de la phase mobile. Le développement du chromatogramme est effectué de façon ascendante jusqu'à le front. Après séchage, la révélation du chromatogramme est faite en pulvérisant sur la plaque le Réactif de NIGRUM, et en séchant à l'étuve à 105°C pendant 10 à 15 mn. [52]

7.1.3. La spectroscopie infrarouge :

La spectroscopie infrarouge est une classe de spectroscopie qui traite de la région infrarouge du spectre électromagnétique. Elle recouvre une large gamme de techniques, la plus commune étant un type de spectroscopie d'absorption. Comme pour toutes les techniques de spectroscopie, elle peut être employée pour l'identification de composés ou pour déterminer la composition d'un échantillon [53].

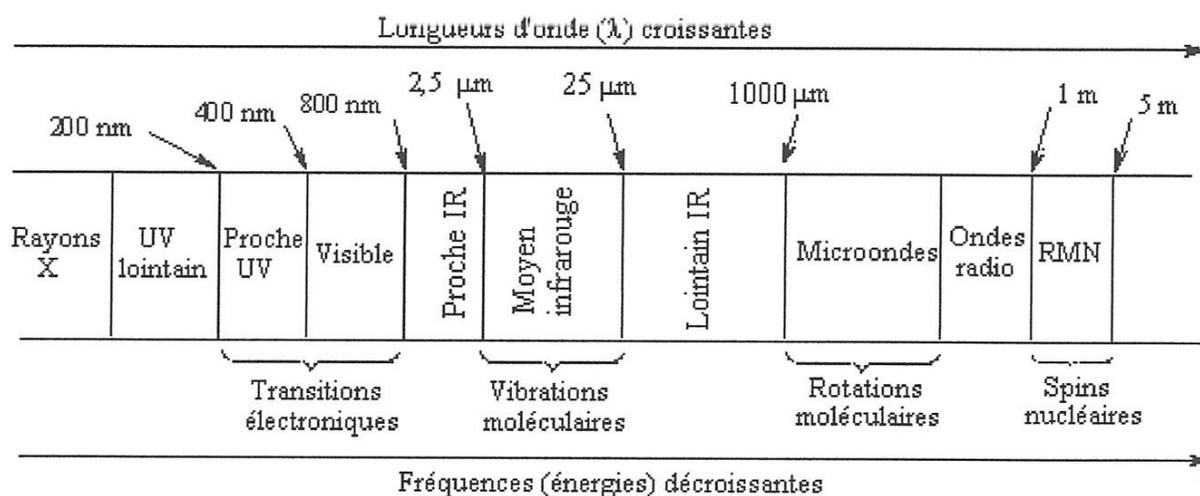


Figure 08 : Domaines de l'IR dans le spectre électromagnétique [54].

7.1.3.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ou FTIR)

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau[53].

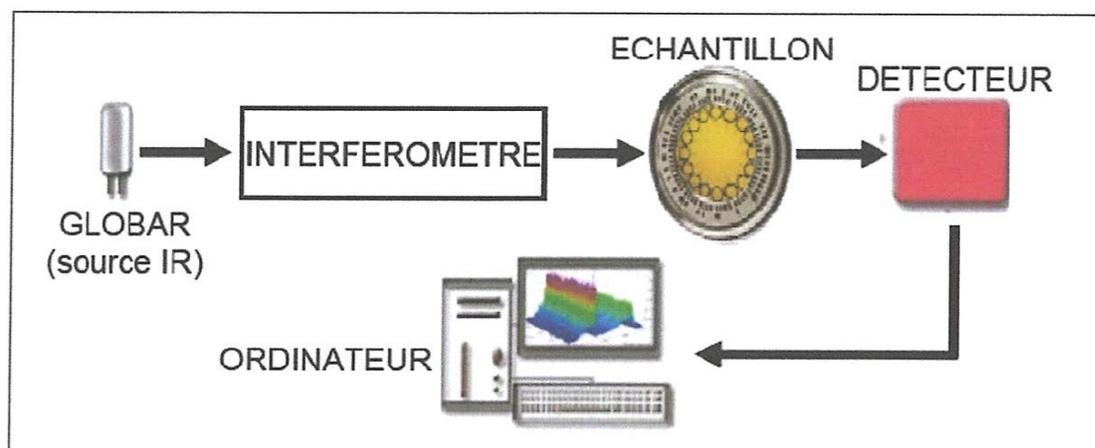


Figure 09 : Schéma de principe d'un spectromètre FTIR [54].

7.1.3.2. Principes de la spectroscopie infrarouge :

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. Le domaine infrarouge entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules.

Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifs en infrarouge grâce à la Théorie des Groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse [54].

Par conséquent à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau.

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe et les intensités de l'absorption. La figure 10 décrit le schéma d'un spectromètre à transformée de Fourier. [54].

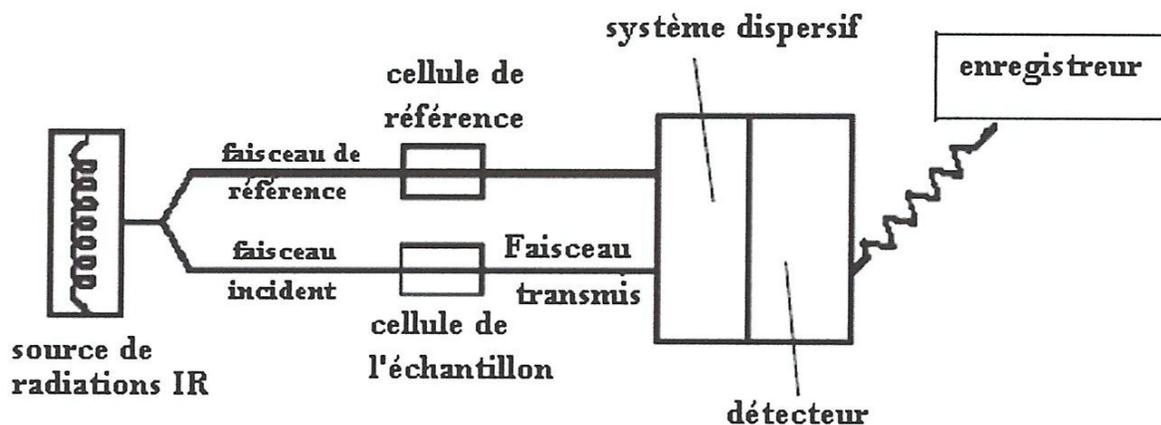


Figure 10 : Schéma de principe d'un spectromètre IR [54].

7.1.3.3. Le mode opératoire de l'utilisation de l'infrarouge :

Les spectres Infrarouges des extraits bruts de polysaccharides sont obtenu par un spectrophotomètre à transformé de Fourier selon le protocole décrit.

- **Méthode de Spectrométrie Infrarouge**

Les spectres Infrarouges à transformé de Fourier (FTIR) de lyophilisat de extrait brut de polysaccharide sont réalisés en pastilles de KBr. Une quantité de 0,5-1,0 mg d'échantillon est broyé avec 100 mg de KBr sec et compressé à 8000-9000 pps en pastilles de KBr. Tous les spectres Infrarouges ont été enregistrés entre 4000 et 400 cm^{-1} , sur un spectrophotomètre de type Testcan Shimadzu FTIR 8400 séries, possédant une résolution de 2 cm^{-1} .



Figure 11 : Schéma d'un spectrophotomètre de type Testcan Shimadzu FTIR 8400 séries.

CHAPITRE IV :

Résultats et discussions

1. Les résultats de rendement massique de polysaccharide après l'extraction :

Le tableau suivant représente les poids de notre échantillon avant et après l'extraction de polysaccharide et leurs rendements massiques dans des différents temps et différentes températures .

| Les essais | Le poids avant l'extraction (g) | Le poids après l'extraction (g) | Le rendement massique (%) |
|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| <u>Essai 1</u> : T = 40 C° ; t = 30 min | 5 | 0,033 | 0,66 |
| <u>Essai 2</u> : T = 40 C° ; t = 60 min | 5 | 0,061 | 1,22 |
| <u>Essai 3</u> : T = 40 C° ; t = 90 min | 5 | 0,052 | 1,04 |
| <u>Essai 4</u> : T = 40 C° ; t = 120 min | 5 | 0,059 | 1,18 |
| <u>Essai 5</u> : T = 60 C° ; t = 30 min | 5 | 0,048 | 0,96 |
| <u>Essai 6</u> : T = 60 C° ; t = 60 min | 5 | 0,067 | 1,34 |
| <u>Essai 7</u> : T = 60 C° ; t = 90 min | 5 | 0,055 | 1,1 |
| <u>Essai 8</u> : T = 60 C° ; t = 120 min | 5 | 0,064 | 1,28 |
| <u>Essai 9</u> : T = 80 C° ; t = 30 min | 5 | 0,0503 | 1,006 |
| <u>Essai 10</u> : T = 80 C° ; t = 60 min | 5 | 0,0639 | 1,278 |
| <u>Essai 11</u> : T = 80 C° ; t = 90 min | 5 | 0,0849 | 1,698 |
| <u>Essai 12</u> : T = 80 C° ; t = 120 min | 5 | 0,0684 | 1,368 |
| <u>Essai 13</u> : T = 100 C° ; t = 30 min | 5 | 0,059 | 1,18 |
| <u>Essai 14</u> : T = 100 C° ; t = 60 min | 5 | 0,055 | 1,1 |
| <u>Essai 15</u> : T = 100 C° ; t = 90 min | 5 | 0,073 | 1,46 |
| <u>Essai 16</u> : T = 100 C° ; t = 120 min | 5 | 0,074 | 1,48 |

Tableau 01: Les résultats de rendement massique de polysaccharide

D'après YE ET JIANG, 2011 ; La température est un facteur efficace qui pourrait influencer le rendement d'extraction de polysaccharide.

On a étudié l'effet de différentes températures (40, 60, 80 et 100 °C) sur l'efficacité d'extraction de polysaccharide de *Citrullus colocynthis*, et l'autre variable expérimentale ont été fixé comme le temps d'extraction.

Comme le montre la figure 02, le rendement a augmenté de manière significative avec l'augmentation de température de 40 à 80 °C, puis les rendements étaient changés de 80 à 100°C. Le taux d'extraction augmente jusqu'au niveau maximum de 1,698% à 80°C, puis diminue avec l'augmentation supplémentaire de la température. Par conséquent, 80 °C à été sélectionné comme la température d'extraction optimum.

Le bon effet de la température d'extraction peut s'expliquer par la solubilité accrue de polysaccharides dans le solvant, le coefficient de diffusion supérieur à extraire des molécules extraites et le transfert de masse améliorée à température plus élevée.

3. L'effet des différents temps d'extraction sur le rendement massique de polysaccharide :

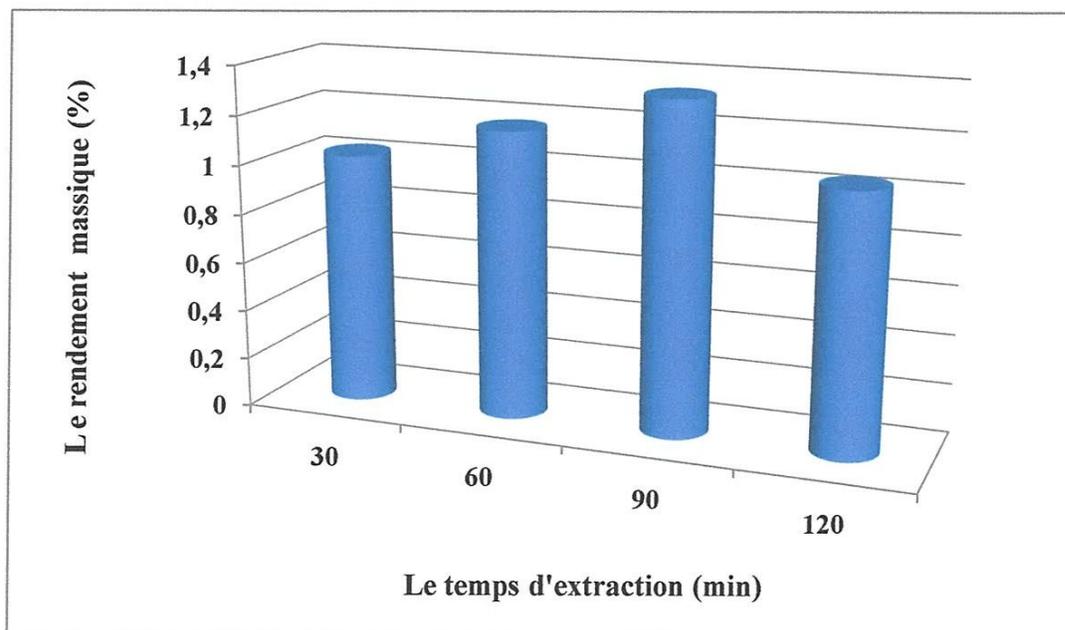


Figure 03 : Effets de temps d'extraction sur le rendement d'extraction (%).

D'après YIN, VOUS, ET JIANG, 2011 ; le temps d'extraction est l'une des variables importantes qui affectent l'efficacité des polysaccharides.

Dans ce travail, le temps d'extraction a été fixé à 30, 60, 90, et 120 min pour enquêter sur son influence sur le rendement d'extraction de *Citrullus colocynthis* ; lorsque d'autre facteur ont été fixé comme la température d'extraction.

Comme le montre la figure 03, le rendement d'extraction augmente de façon significative lorsque la durée à varier de 30 à 90 min. Le rendement maximal 1,698 % à été obtenu au moment de 90 min.

Lorsque le temps d'extraction est supérieur à 90 min, le rendement diminuait avec l'autre augmentation du temps.

D'après SUN, LIU, ET KENNEDY, 2010, ces résultats suggèrent que l'utilisation d'un temps d'extraction plus élevé peut conduire à une dégradation, l'agrégation et l'hydrolyse de polysaccharide de *Citrullus colocynthis*.

Par conséquent, 90 min à été sélectionné comme le temps d'extraction optimum.

4. L'analyse statistique :

La méthode de surface de réponse (RSM) est plus efficace que l'optimisation de paramètre unique traditionnelle en ce qu'elle réduit le nombre d'expériences et de gagner du temps. Il y avait un total de 16 pistes pour optimiser les deux variables individuelles (X_1 : température d'extraction et X_2 : temps d'extraction) comme indiqué dans le tableau 02.

L'équation de polynomiale a été utilisée pour corréler les paramètres indépendants avec le rendement de polysaccharide de *Citrullus colocynthis*. Le modèle adapté pour le rendement (Y) de prédire les relations entre les variables indépendantes et la variable dépendante peut être exprimé par:

a- modèle complet

$$Y_1 = +1,32 + 0,14 * A + 0,035 * B + 6,030E-003 * A * B - 0,078 * A^2 - 0,14 * B^2 + 0,048 * A^2 * B + 0,11 * A * B^2 - 0,058 * A^3 + 0,13 * B^3$$

b- modèle modifié

$$Y_2 = -5,02 + 0,077 * X_1 + 0,284099 * X_2 - 0,00369383 * X_1 X_2 - 0,00396244 * X_2^2 + 5,34E-005 * X_1 X_2^2 + 1,67642E-005 * X_2^3 - 2,30185E-007 * X_1 X_2^3.$$

Les variables de processus et les données expérimentales pour le rendement de polysaccharide de *Citrullus colocynthis* dans diverses conditions sont représentés dans le tableau 02.

Tableau 02 : Les résultats de rendement massique de polysaccharide par le logiciel

| Les essais | X ₁ (°C) | X ₂ (min) | Le rendement d'extraction (%) | | |
|------------|---------------------|----------------------|-------------------------------|----------|-------------|
| | | | expérimental | Logiciel | Les erreurs |
| 1 | 40 | 30 | 0,66 | 0,71 | -0,05 |
| 2 | 40 | 60 | 1,22 | 1,30 | -0,08 |
| 3 | 40 | 90 | 1,04 | 1,05 | -0,01 |
| 4 | 40 | 120 | 1,18 | 1,17 | +0,01 |
| 5 | 60 | 30 | 0,96 | 0,87 | +0,09 |
| 6 | 60 | 60 | 1,34 | 1,25 | +0,09 |
| 7 | 60 | 90 | 1,10 | 1,23 | -0,13 |
| 8 | 60 | 120 | 1,28 | 1,27 | +0,01 |
| 9 | 80 | 30 | 1,00 | 1,03 | -0,03 |
| 10 | 80 | 60 | 1,27 | 1,21 | +0,06 |
| 11 | 80 | 90 | 1,69 | 1,41 | +0,28 |
| 12 | 80 | 120 | 1,36 | 1,37 | -0,01 |
| 13 | 100 | 30 | 1,18 | 1,19 | -0,01 |
| 14 | 100 | 60 | 1,10 | 1,17 | -0,07 |

| | | | | | |
|----|-----|-----|------|------|-------|
| 15 | 100 | 90 | 1,46 | 1,60 | -0,14 |
| 16 | 100 | 120 | 1,48 | 1,47 | +0,01 |

L'analyse de la variance pour les résultats expérimentaux est présentée dans le tableau 03 :

Tableau 03 : Analyse de variance

| Source | SS | DF | MS | f-Value | p-Value | |
|-----------------------|---------------|----|----------|---------|------------|------------|
| Model | 0,736162 | 7 | 0,105166 | 5,59470 | 0,01355147 | signifiant |
| A-Temperature | 0,203011 | 1 | 0,171855 | 9,14247 | 0,0164677 | signifiant |
| B-temps | 0,295974 | 1 | 0,166703 | 8,86840 | 0,0176546 | signifiant |
| AB | 0,000454 | 1 | 0,152179 | 8,09570 | 0,0216350 | |
| B² | 0,078680 | 1 | 0,149533 | 7,95496 | 0,0224781 | |
| AB² | 0,016762 | 1 | 0,146652 | 7,80168 | 0,0234442 | |
| B³ | 0,002226 | 1 | 0,136585 | 7,26613 | 0,0272602 | |
| AB³ | 0,139054 | 1 | 0,139054 | 7,39751 | 0,0262553 | |
| Residual | 0,150380 | 8 | 0,018797 | | | |
| Cor Total | 0,886542 | 15 | | | | |
| R-Squared | 0,8304 | | | | | |

Les données ont révélé que le modèle de régression proposé pour le rendement de polysaccharide était convenable avec R^2 value satisfaisant. Le R^2 de rendement était 0,8304, qui a confirmé un meilleur degré de corrélation entre l'expérimental et les valeurs théoriques prédites par le modèle .

Les coefficients A, B, AB, B², AB², B³ et AB³ étaient significatives ($p < 0,05$) pour le rendement de polysaccharide de *Citrullus colocynthis*.

Le modèle F-value de 5,594 impliquait que le modèle était significatif. Il implique que l'équation du modèle est adéquate pour prédire le rendement de polysaccharide de *Citrullus colocynthis* sous une combinaison de température d'extraction et le temps d'extraction.

5. Optimisation pour l'extraction de polysaccharide :

Les surfaces de réponse ont été obtenues en utilisant Design-Expert (version 8.0) pour évaluer les effets de variables et leurs interactions sur le rendement des polysaccharides de *Citrullus colocynthis*.

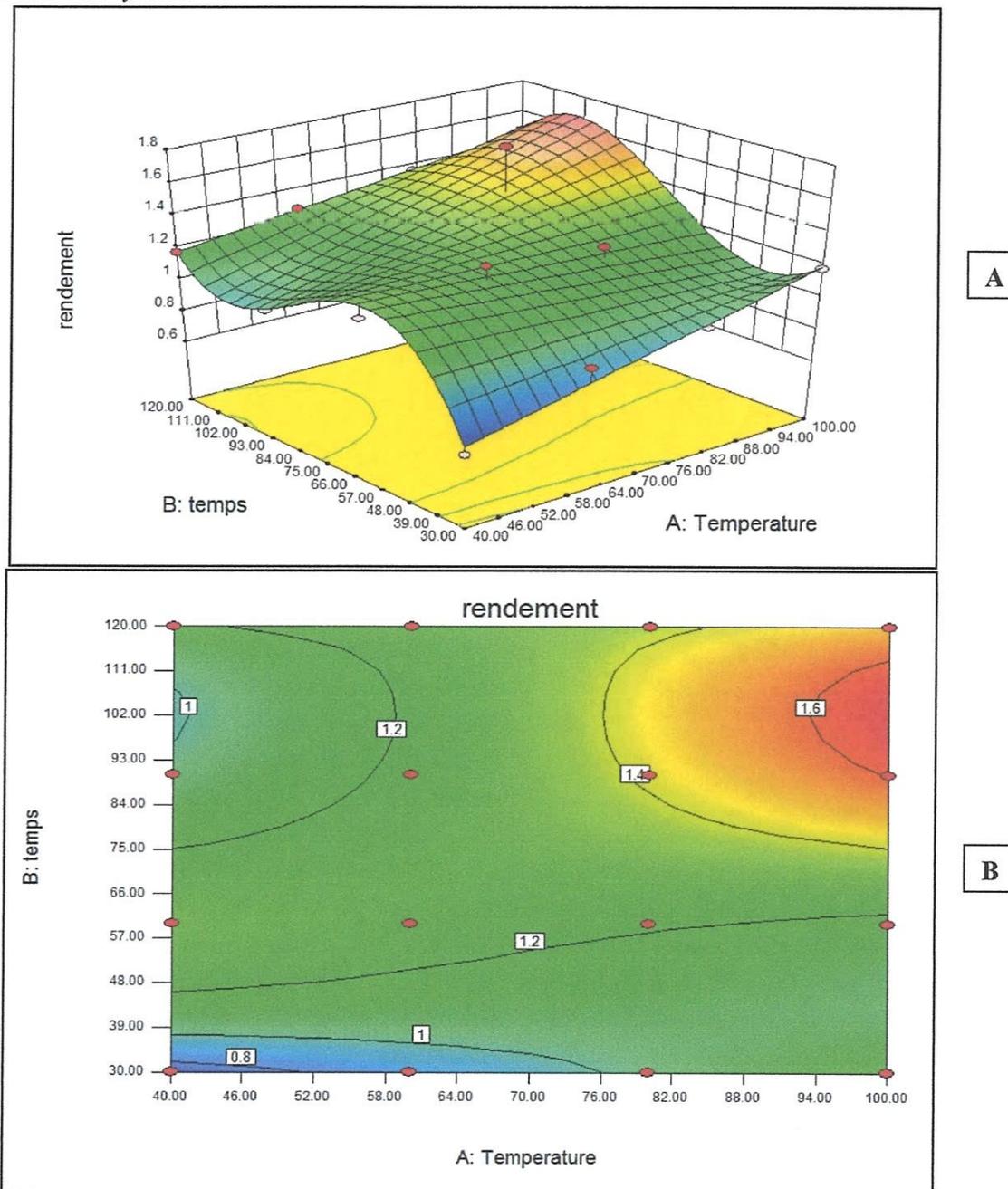


Figure 04: surface de réponse (3D) et contour parcelles montrant les effets du temps d'extraction et de la température d'extraction sur le rendement d'extraction de polysaccharide de *Citrullus colocynthis*.

Les parcelles dans la figure 04, montre que le rendement d'extraction de polysaccharide de *Citrullus colocynthis* augmenté avec l'augmentation de temps d'extraction et la température de l'extraction de 30 à 90 min et 40 à 80°C respectivement.

Il était évident que le rendement de polysaccharide de *Citrullus colocynthis* a été refusé avec le temps d'extraction croissante, ce qui signifie que de nouvelles augmentations de temps ne seraient pas améliorer le rendement de polysaccharides plus longtemps.

D'après SUN ET AL, 2010 ; Il est suggéré que l'augmentation du temps pourrait déformer les pores sur les membranes cellulaires de la plante.

6. Validation de condition optimale :

D'après la figure 05 et le tableau 04, on peut conclure que les variables d'extraction optimisées sont les suivantes: 100°C de la température d'extraction, le temps d'extraction 102.5 min. Dans ces conditions, le modèle prédit une réponse maximum de 1,67 % (ce qui indique que le modèle de régression était précis et exact pour l'extraction de polysaccharides).

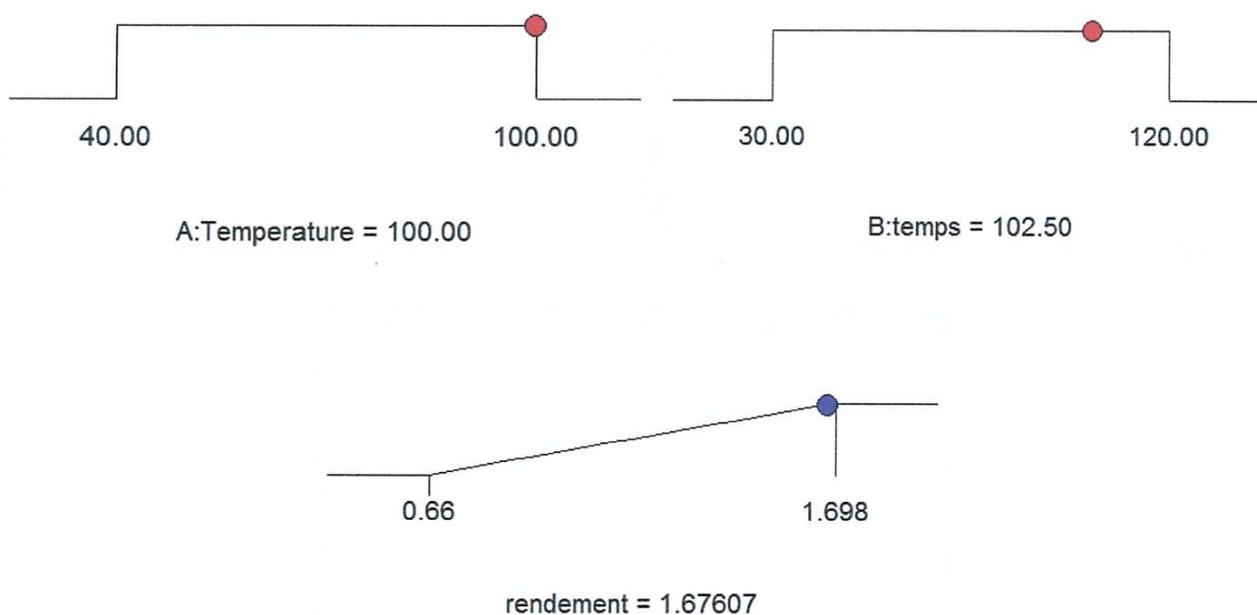


Figure 05: Les variables d'extraction optimisées.

Tableau 04: Test de validation pour connaître l'état d'extraction optimale.

| Condition optimale | | | | Rendement de polysaccharide (%) | |
|---------------------|-------|---------------------|------------|---------------------------------|---------|
| Température (°C) | | Temps (min) | | | |
| <u>expérimental</u> | 80°C | <u>expérimental</u> | 90 min | <u>expérimental</u> | 1,698 % |
| <u>logiciel</u> | 100°C | <u>logiciel</u> | 102,50 min | <u>logiciel</u> | 1,676 % |

Le rendement d'extraction de polysaccharide hydrosoluble, à partir des graines de *Citrullus colocynthis* est de 1,676 %. Il est faible à cause des conditions d'extraction.

D'après BUCKERIDGE *et al*, 2000 ; le rendement massique de polysaccharide hydrosoluble d'extraits dépend de l'état éco-physiologique de la plante. En outre, ce polymère est dégradé au cours de refleurissement de la plante au printemps.

D'après EBRINGEROVA *et al*, 2003 ; le type de polysaccharide et la procédure d'extraction comme la décoction, la macération, le type et la quantité de solvant, etc., agissent aussi sur le rendement massique de polysaccharide hydrosoluble d'extraits.

7. Les résultats de la composition de l'extrait brut de polysaccharide :

Les résultats de la composition totale de l'extrait brut lyophilisé de polysaccharide hydrosoluble de *Citrullus colocynthis* sont regroupés dans le tableau 05 et la figure 07.

Tableau 05 : Composition totale des lyophilisats bruts.

| l'extrait brut de polysaccharide | humidité | matière sèche | La cendre | Les lipides |
|----------------------------------|----------|---------------|-----------|-------------|
| Les pourcentages (%) | 8,33 % | 91,67 % | 25 % | 99,72% |

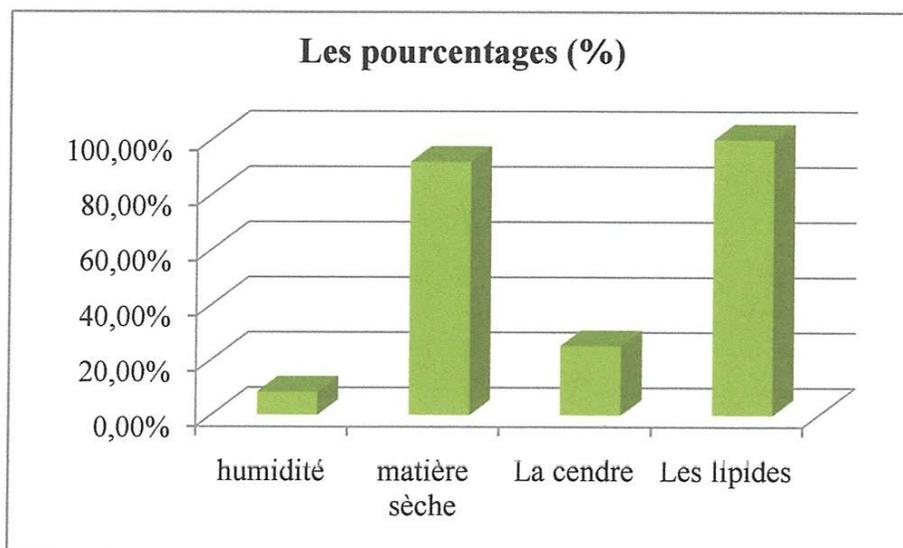


Figure 06 : Composition totale de l'extrait brut

D'après le tableau 05 et la figure 06 : On observe que dans cette plante spontanée à caractère médicinale les pourcentages sont variés d'un paramètre à l'autre tel que :

- **Pour l'humidité et la matière sèche**

L'humidité a été la première analyse effectuée, et pour assurer une communication correcte, et de fournir une base de comparaison pour tous les autres analyses, tous les résultats ont été comparés sur la base des matières sèches.

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 %. Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans la poudre de nos plantes.

On remarque 8,33 % d'humidité dans l'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble de *Citrullus colocynthis* est faible par rapport à la matière sèche qui est 91,97%.

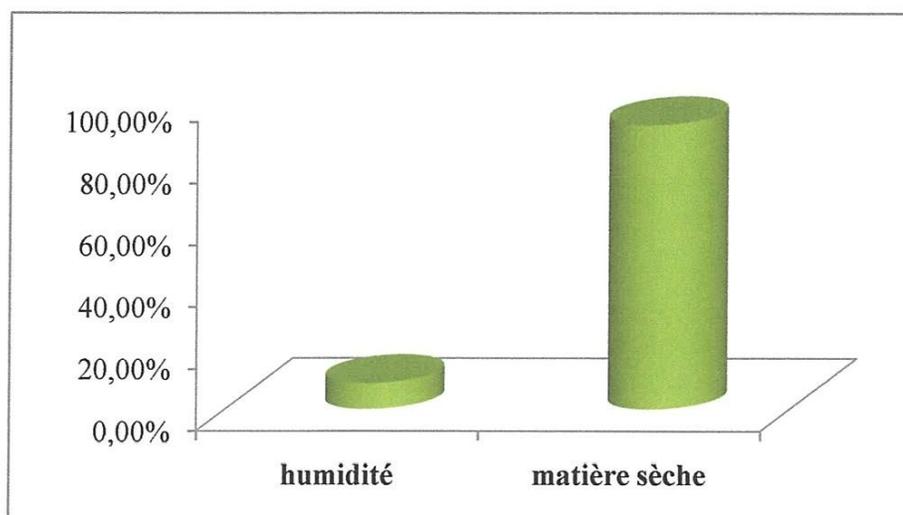


Figure 07: Teneur en humidité et la matière sèche de *Citrullus colocynthis*

Les résultats de cette analyse ont révélé un taux d'humidité inférieure à 10% avec de proportion de 8,33 %.

La teneur en eau inférieure à 10% confère à notre poudre une meilleure conservation à long terme.

- **Pour la cendre totale**

La teneur en cendres totales permet de donner une information sur la teneur en minéraux, ces derniers n'étant pas transformés en substances volatiles à haute température, contrairement aux matières organiques.

Le teneur en cendres dans l'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble des grains de plante échantillonnée, est 25 %.

D'après GUO et *al.* 2007, Les techniques de purification au cours de l'extraction ont une action sur la teneur en cendres, notamment la dialyse pendant 48 heures de l'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble de grains de *Citrullus colocynthis*.

Donc le pourcentage 25% est élevé parce que dans les étapes d'extraction on ne fait pas la dialyse

- Pour les lipides

La fraction de lipides obtenue à partir de *Citrullus colocynthis* est relativement élevée et, avec un pourcentage de 99,72 % de lipides.

8. Caractérisations des polysaccharides d'extrait brut de *Citrullus colocynthis* :

8.1. Caractérisation qualitative des résidus glycosidiques (Chromatographie sur couche mince) :

Les résultats de la plaque chromatographique sont mentionnés dans la figure 08 :

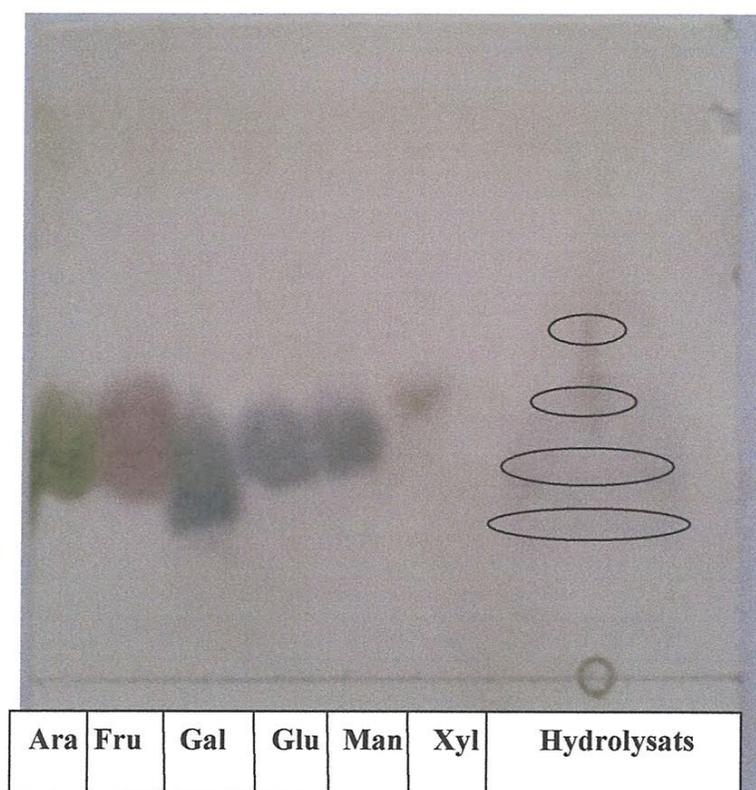


Figure 08: Chromatogramme d'extrait de *Citrullus colocynthis*.

Les tableaux suivants 06 ; 07 déterminent les rapports frontaux des étalons et des taches sur la plaque CCM.

Tableau 06 : les rapports frontaux (R_f) des taches des étalons sur la plaque CCM.

Front=8,5cm

| Composés | le rapport frontal (R_f) |
|-----------------|------------------------------|
| Arabinose (Ara) | 0,41 |
| Fructose (Fru) | 0,44 |
| Galactose (Gal) | 0,41 |
| Glucose (Glc) | 0,48 |
| Mannose (Man) | 0,53 |
| Xylose (Xyl) | 0,54 |

Tableau 07 : les rapports frontaux (R_f) des taches sur la plaque CCM

| Les Taches | R_f des taches |
|------------|------------------|
| Tache 1 | 0,33 |
| Tache 2 | 0,41 |
| Tache 3 | 0,55 |
| Tache 4 | 0,64 |

L'étude des hydrolysats sur la plaque de CCM laisse apparaître différentes taches à degré de coloration différente.

Après 5 heures d'hydrolyse, le profil chromatographique montre 4 bandes de R_f : 0,33 , 0,41 , 0,55, 0,64 , qui semblent montrer la fragilité des polysaccharides hydrosolubles des grains de *Citrullus colocynthis*.

Après comparaison avec l'hydrolysat de la plante *Citrullus colocynthis*, il semble que cette plante renferme surtout du arabinose et galactose.

8.2. Groupements fonctionnels caractéristiques des polysaccharides

Les figures 09, 10, 11, et 12 représentent l'empreinte de la spectrométrie à Infrarouge des extraits de polysaccharides hydrosolubles de *Citrullus colocynthis*.

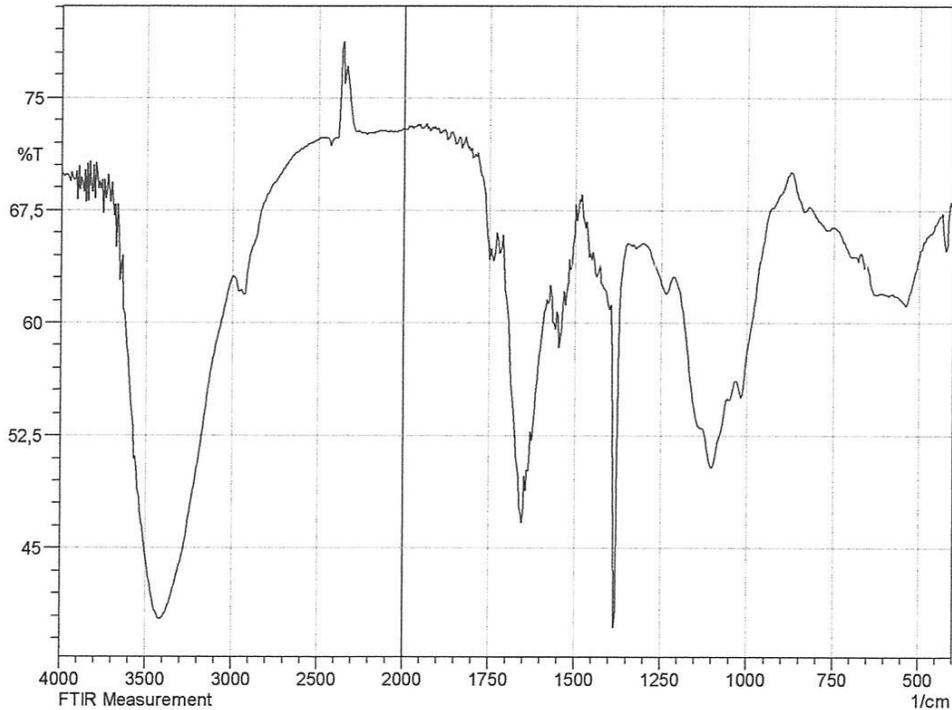


Figure 09: Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 100 °C et de t = 120min

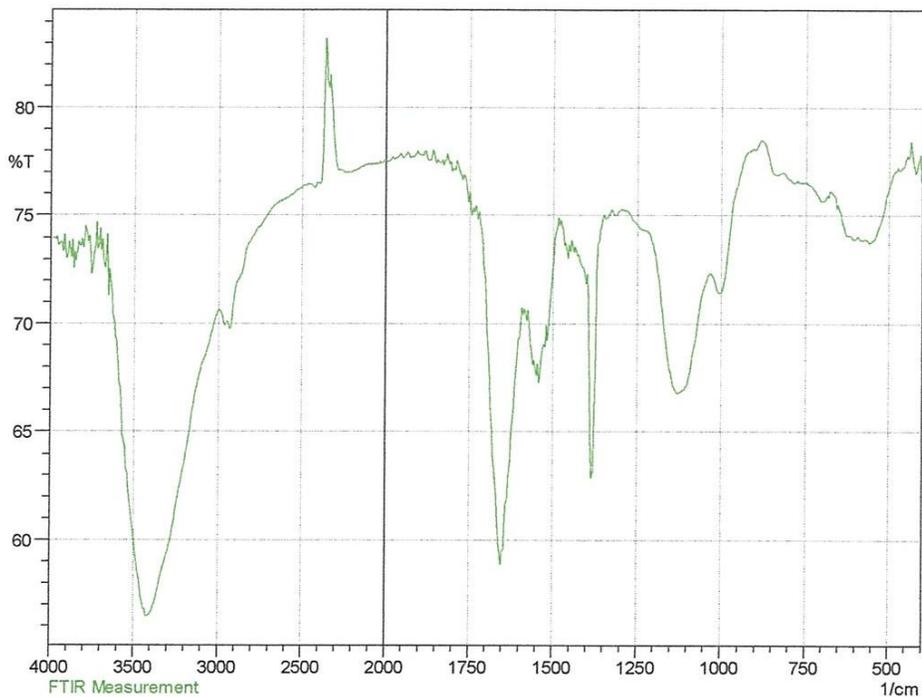


Figure 10 : Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 40 °C et de t = 60 min

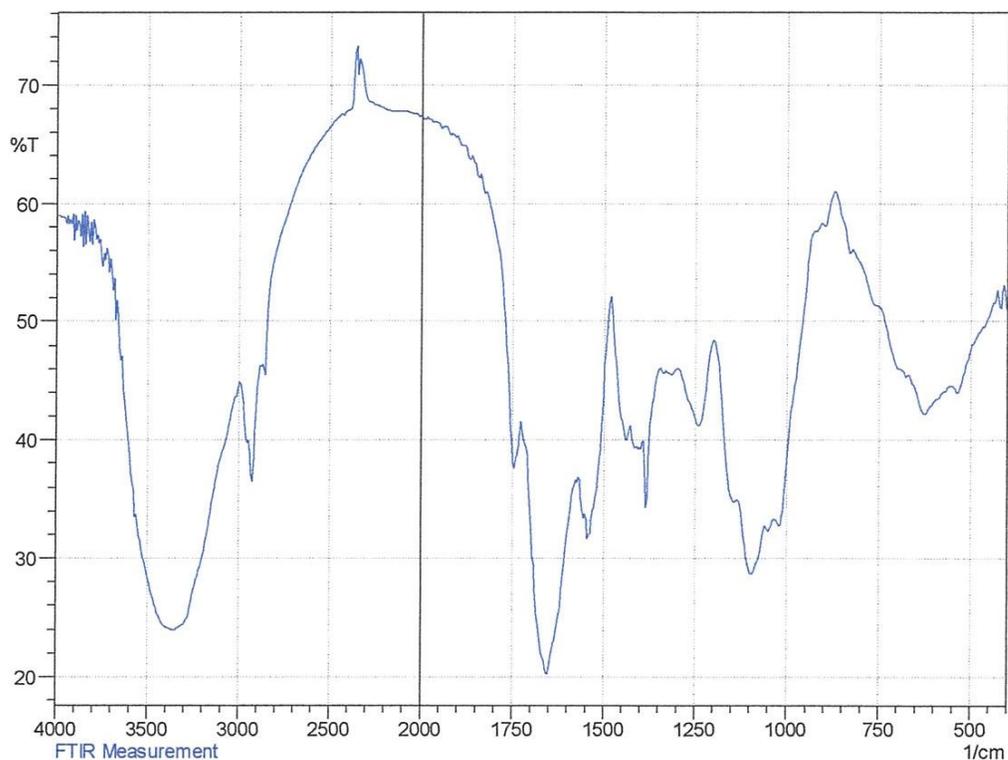


Figure 11 : Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 80 °C et de t = 90 min

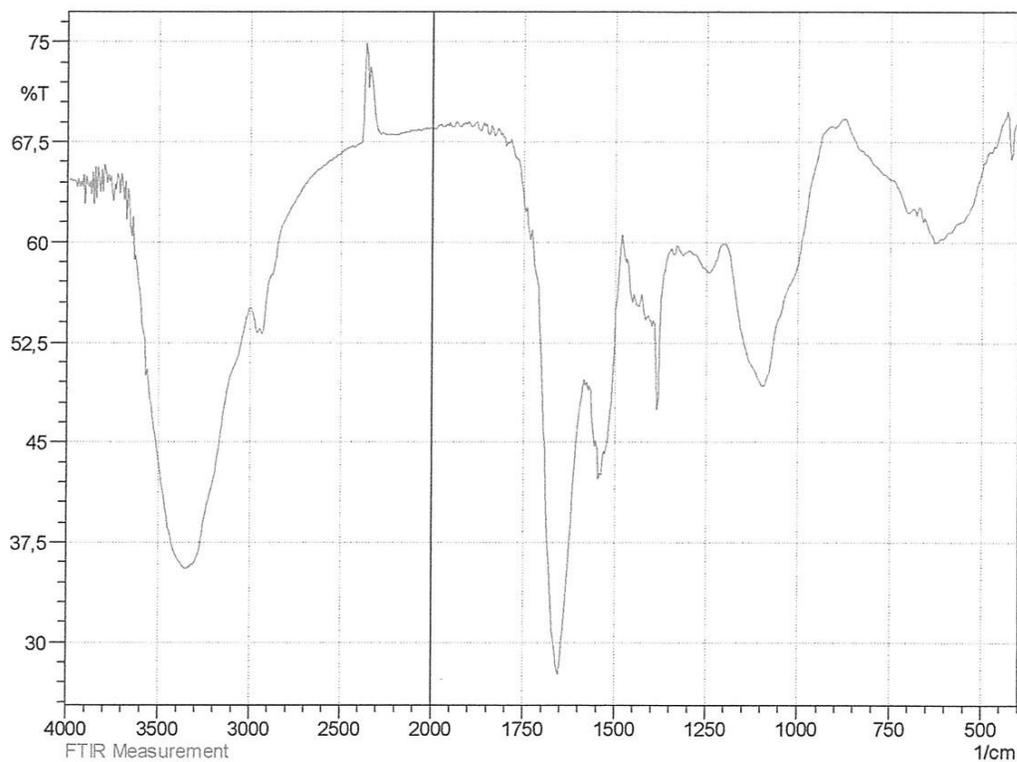


Figure 12 : Le spectre Infrarouge de l'extrait à T = 60 °C et de t = 60 min

Les spectres Infrarouges des extraits de polysaccharides hydrosolubles, laissent apparaître une bande d'absorption large à 3341 cm^{-1} et 3419 cm^{-1} qui correspond à la vibration de type élongation du groupement hydroxyle.

Les nombres d'ondes entre 2920 cm^{-1} et 2946 cm^{-1} correspondent à la vibration de type élongation du groupement C-H.

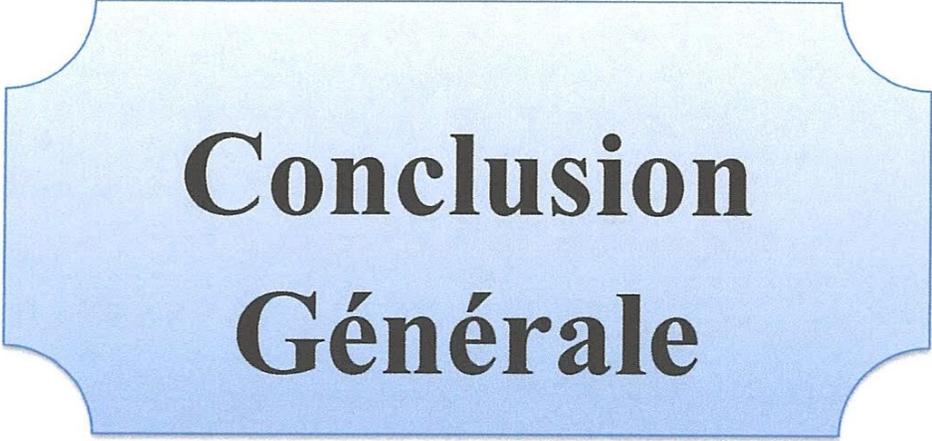
La présence de pic à 1733 cm^{-1} dans l'extrait C correspond au groupement carboxyle estérifié (-COOR) (C=O).

Parallèlement, on observe des pics entre 1643 cm^{-1} et 1553 cm^{-1} qui correspondent au groupement amide (N-H) élongation et déformation, ce qui confirme la présence de protéines.

Les nombres d'ondes à 1382 cm^{-1} et 1386 cm^{-1} correspondent à la vibration de type déformation du groupement C-H.

Les pics entre 1000 cm^{-1} et 1096 cm^{-1} correspondent à la vibration de type déformation du groupement hydroxyle -OH.

Chaque extrait de polysaccharides a des bandes spécifiques dans la région 1200 cm^{-1} - 800 cm^{-1} . Cette région est caractérisée par le chevauchement des pics de vibration et de rotation du groupement (C-OH) des oses et de vibration de la liaison osidique (C-O-C).



**Conclusion
Générale**

Ce travail de Master sur les polysaccharides issus de la biomasse végétale permet de faire les conclusions suivantes :

Cette étude nous a permis de déterminer les conditions optimales d'extraction des polysaccharides par l'eau chaude, une température de 100 °C pendant un temps d'extraction de 102,50 min à donner le meilleur rendement soit 1,67%.

L'analyse de la variance a montré un effet hautement significatif de la température et de temps sur le rendement d'extraction.

Le rendement massique d'extrait polysaccharidique de cette plante la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) par l'expérience est de 1,698%.

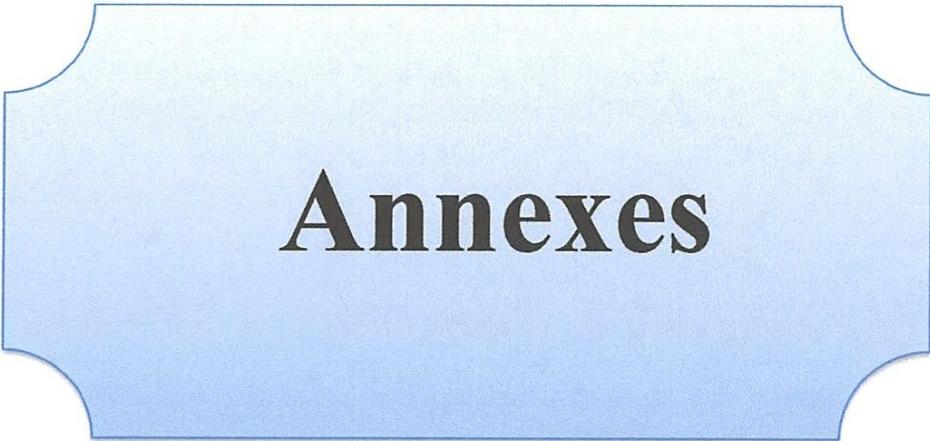
L'étude de la composition d'extrait brut de polysaccharide hydrosoluble après lyophilisation, donne des valeurs de 25 % de cendres totales ; 8,33 % d'humidité ; 91,67 % de matière sèche et de 99,72% des lipides.

L'analyse chromatographiques indique que les polysaccharides de la plante coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sont constitués de Galactose et Arabinose ; ce qui explique que les polysaccharides des grains de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) est un Arabino-galactane, c'est à dire un polymère constitué d'Arabinose et galactose.

En perspectives :

L'extraction des polysaccharides peut être gérée par d'autres paramètres qu'on n'a pas pris en considération dans ce travail tel que : la granulométrie des particules, la nature du milieu d'extraction (neutre, acide, ou alcalin), nombre de répétition de l'extraction, et le rapport solide / solvant.

Dans les travaux futurs on suggère que les effets des paramètres cités ci-dessus seront pris en considération pour bien maîtriser l'extraction des polysaccharides.



Annexes

Dans cette partie annexes on va donner et présenter les matériels qui nous avons utilisé dans le laboratoire LSPN de Guelma.

Annexe 01

Lyophilisation

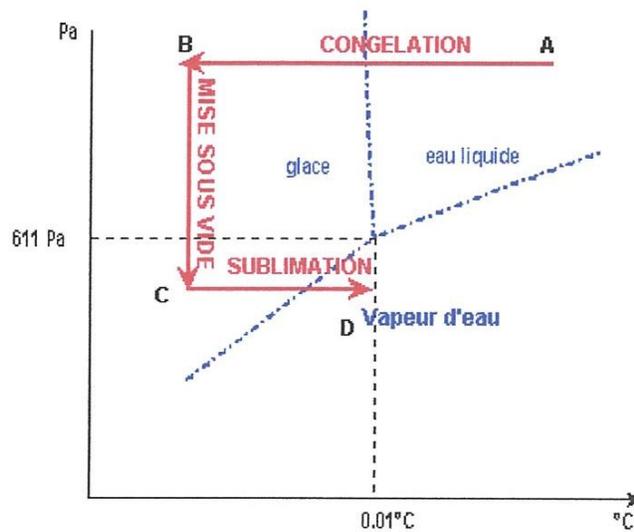
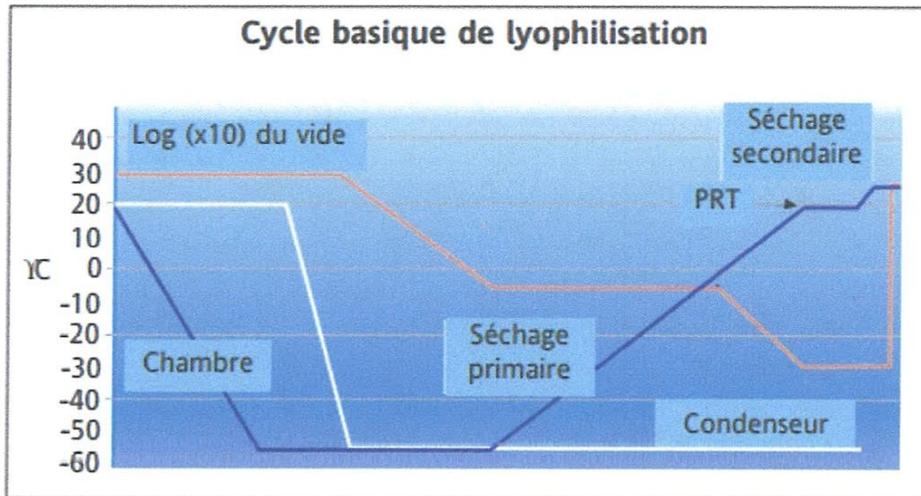
1. Définition :

Le lyophilisateur est une machine permettant de dérouler un processus de lyophilisation. Elle est composée au minimum d'une enceinte frigorifique pouvant être tirée au vide et d'une surface plus froide faisant office de piège frigorifique.



Figure : Lyophilisateur ALPHA 1-2 LD plus

La lyophilisation signifie l'extraction de l'eau d'un produit congelé. Le séchage est réalisé en évitant de passer par l'état liquide, par sublimation, c'est-à-dire par passage direct de l'état de glace à l'état de vapeur d'eau ceci est réalisé sous vide avec une température du produit normalement inférieure à -10°C .



CYCLE DE LYOPHILISATION

Figure : le cycle basique de Lyophilisation

2. Les composants de base du lyophilisateur :

Les composants de base du lyophilisateur sont :

- chambre de dessiccation à vide avec dispositif de chauffage
 - a. plateaux chauffants ou non pour lyophilisation en coupelles
 - b. plateaux avec système de bouchage pour lyophilisation en flacon à sérum.
 - c. Robinets en caoutchouc pour raccorder des ballons ; flacons à col large, etc.
 - d. Manifold pour raccorder des flacons à fond rond, flacons à col large, etc.

- Pompes à air et vapeur d'eau
 - a. Pompe à vide pour évacuer la chambre de dessiccation (pompe à gaz).
 - b. Condenseur avec températures de -50°C à -105°C (suivant le type de l'appareil) pour condenser la vapeur d'eau (pompe à vapeur).



Chambre de dessiccation à vide



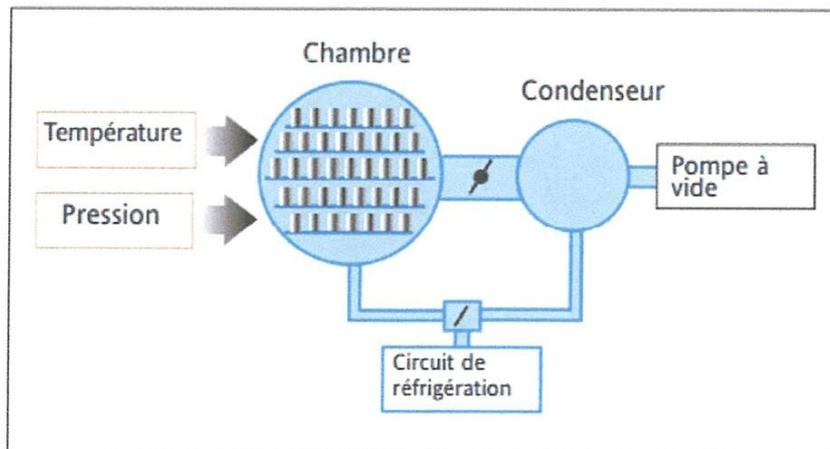
Pompes à air et vapeur d'eau

Figure : Les composants de base du lyophilisateur

3. Le but

Le but de la lyophilisation est d'obtenir un produit facilement soluble dans l'eau et qui après d'addition d'eau, présente les mêmes caractéristiques que le produit d'origine.

Le fait que le séchage soit effectué à l'état congelé sous des températures très basses rend possible le séchage, par exemple, de l'albumine sans la dénaturer. De même, la plupart des autres composants chimiques ne subiront aucune modification qualitative ou quantitative.



4. Les différentes étapes du processus de lyophilisation

La lyophilisation se décompose en trois étapes principales :

- **Congélation**

La première étape consiste à congeler les aliments pour que l'eau qu'ils contiennent soit transformée en glace. La température doit rester plus basse que -20 °C tout au long du processus de lyophilisation.

- **Dessiccation primaire ou sublimation**

Cette étape permet la sublimation de la glace. La sublimation est un principe physique simple. C'est le passage d'une substance de l'état solide à l'état gazeux directement. L'aliment ou le produit se dessèche en le mettant sous vide : la glace devient de la vapeur et elle est récupérée.

- **Dessiccation secondaire ou séchage final**

Cette dernière étape débute lorsque toute la glace est sublimée. Les aliments sont alors séchés. La température s'élève spontanément une fois que toute l'eau a été sublimée. Une température variant entre 20 et 70 °C pendant deux à six heures permet d'amener une humidité résiduelle entre 2 et 8 %.

5. Caractéristique techniques du lyophilisateur ALPHA 1-2 LD plus [2]

| Les données | Les Caractéristiques |
|---------------------------------------|--|
| Capacité du condenseur | Max 2,5 kg |
| Performance du condenseur | Max 2kg /24h |
| Température du condenseur | Environ -55°C° |
| Dimension de l'appareil | Largeur : 315mm Hauteur : 345mm Profondeur : 460mm |
| Poids | Environ 28kg |
| Comptabilité électromagnétique | Classe B |
| Connexion électrique | 230V/50Hz |
| Consommation de puissance max | 1.2kVA |
| Courant max | 5A |
| Protection par fusibles | 6.3A |
| Température ambiante | +10°C à +25°C |

6. Applications

- Concentration des échantillons déshydratation du matériel biologique
- Sublimation des solvants corrosifs ou agressifs.
- Dans le domaine agroalimentaire (alimentation des astronautes), la lyophilisation permet une bonne conservation (café soluble lyophilisé).
- Dans le domaine pharmaceutique, c'est une méthode de fabrication des lyophilisats oraux, des vaccins, des formes phytogaléniques (extraits sec).

- Dans le domaine médical, c'est une méthode de conservation des greffons : cornée, cartilage d'os, des nerfs ... et conservation des microorganismes.

7. Avantages

- Le principal avantage de la lyophilisation est que l'aliment garde sa structure et ses saveurs comparativement au séchoir commercial.
- La qualité des aliments est conservée en grande partie puisque ceux-ci demeurent à une température inférieure au point de congélation durant la sublimation.
- La réfrigération n'est pas nécessaire pour conserver les aliments lyophilisés. *Le poids des aliments est aussi diminué par la lyophilisation. C'est un avantage pour le transport.
- La réhydratation des aliments lyophilisés se fait très rapidement car ils ont une texture très poreuse. En effet, le volume de l'aliment change très peu et l'eau peut rapidement reprendre sa place dans la structure moléculaire.

8. Inconvénients

- C'est une méthode très coûteuse. Il faut environ 1500 kWh d'énergie pour éliminer une tonne d'eau. De plus, les installations (dont le lyophilisateur) sont très dispendieuses.
- À cause des coûts, la généralisation aux produits courants est impossible. Cependant, la lyophilisation est utile pour les aliments qui composent les repas pour les randonnées pédestres ainsi que pour la nourriture des astronautes.
- Il faut faire attention à la conservation de ces aliments lyophilisés, car ils captent facilement l'humidité de l'air. Il faut souvent utiliser des emballages à atmosphère contrôlée (sous vide).
- On peut traiter les aliments qui sont en gros morceaux, mais ils nécessitent trop d'énergie à produire, donc leur vente est très coûteuse. La lyophilisation est donc limitée aux aliments en poudre ou en très petits morceaux.

Annexe 02

Évaporateur rotatif

1. Définition

Un évaporateur rotatif est un appareil de laboratoire utilisé généralement en chimie organique pour évaporer rapidement des solvants après avoir été utilisés dans une extraction ou dans un milieu réactionnel.



Figure : Évaporateur rotatif HEIDOLPH

2. Le principe

Le principe de cet appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement. La solution est mise en rotation dans un ballon adapté pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, pour augmenter la surface en contact avec l'air ainsi que pour éviter l'aspiration de la solution lors de la baisse de pression (grâce à la force centrifuge qui la plaque contre les parois du ballon). Ensuite, la pression est diminuée grâce, généralement, à une trompe à eau et la solution est chauffée pour compenser le caractère endothermique de la réaction.

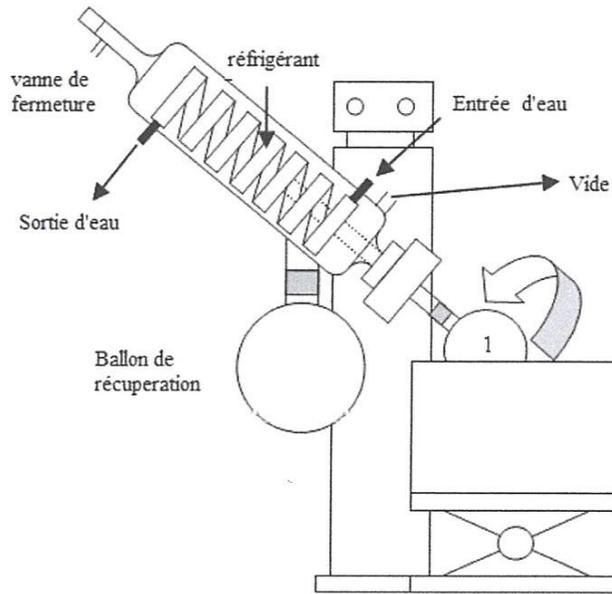


Figure : Les composants de base d'Evaporateur rotatif

3. Caractéristiques techniques

| | |
|--|---|
| Entraînement | Moteur du condensateur avec réglage électronique de la vitesse |
| Plage de vitesse | 20-270/min |
| Contrôle de la vitesse | Echelle |
| Puissance de chauffage | 1300 W |
| Plage de température bain chauffant | 20-100°C |
| Précision de réglage bain chauffant | ±2.5 K |
| Réglage température du bain chauffant | analogique |
| Conditions environnementales autorisées | 0-40°C à une humidité relative de 80% humidité |
| Capacité d'évaporation | environ. 1000 ml H ₂ O/h |
| Surface de refroidissement | 1200 cm ² |

4. Utilisation

- Biologie
- Chimie
- Industries pharmaceutiques

Annexe 03

La centrifugeuse

1. Définition :

Une centrifugeuse est un appareil destiné à imprimer une accélération, grâce à un mouvement de rotation, à un mélange liquide-solide.



Figure : La centrifugeuse -ULTRA-8TL

2. Caractéristique :

| | |
|----------------------------------|------------------------|
| La vitesse | 3300RPM±100RPM |
| Support pour tube d'essai | 15 mlX8 |
| Dimensions | 390×320×210 mm (L×W×H) |
| Puissance | 110 V 60MH/220V 50 HZ |

3. Utilisation :

- Analyses médicales et pharmaceutiques.
- Recherches agricoles et biologiques.

Annexe 04

Plaque chauffante avec agitation

1. Définition :

Une plaque chauffante est un appareil de laboratoire portable qui sert de source de chaleur pour chauffer divers objets. Couplée avec un système d'agitation magnétique afin d'assurer une homogénéisation efficace du contenu d'un récipient (il s'agit en général d'une solution). Un chauffage sous agitation peut favoriser la dissolution de certains sels ou accélérer une réaction endothermique.



Figure : Plaque chauffante avec agitation LABTECH

2. Utilisation : Dans différents domaines comme la biologie ; chimie etc.

Annexe 05

Balance électronique

1. Définition :

C'est une balance qui permet d'effectuer des pesées de masses avec une précision allant jusqu'à 0,0001g.

Annexe 09

La figure suivant représente les erreurs de rendement :

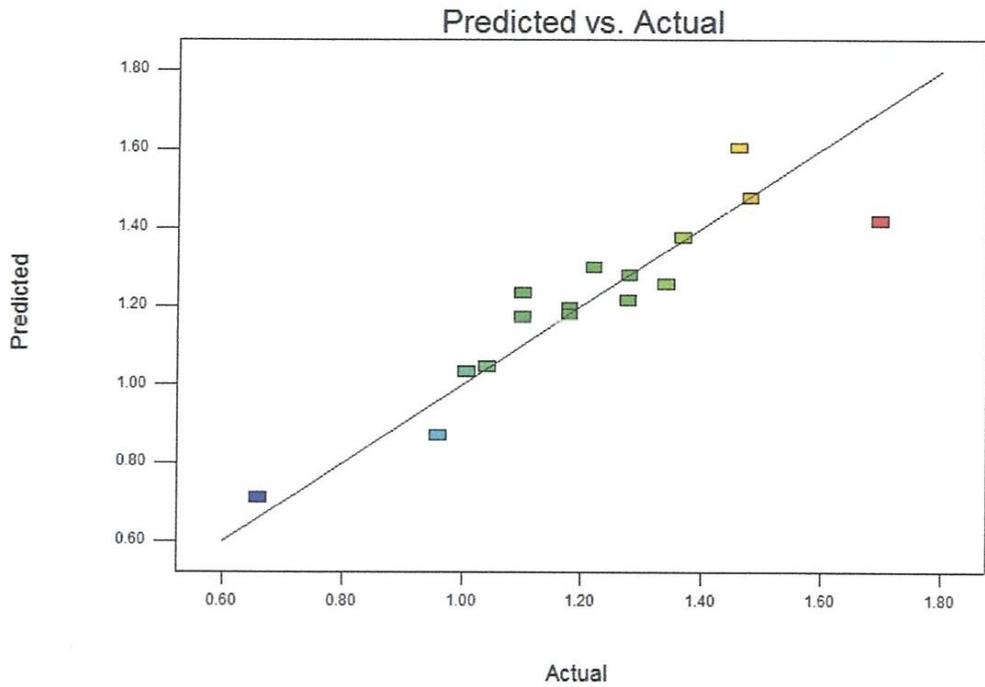


Figure : Les erreurs de rendement

Annexe 10

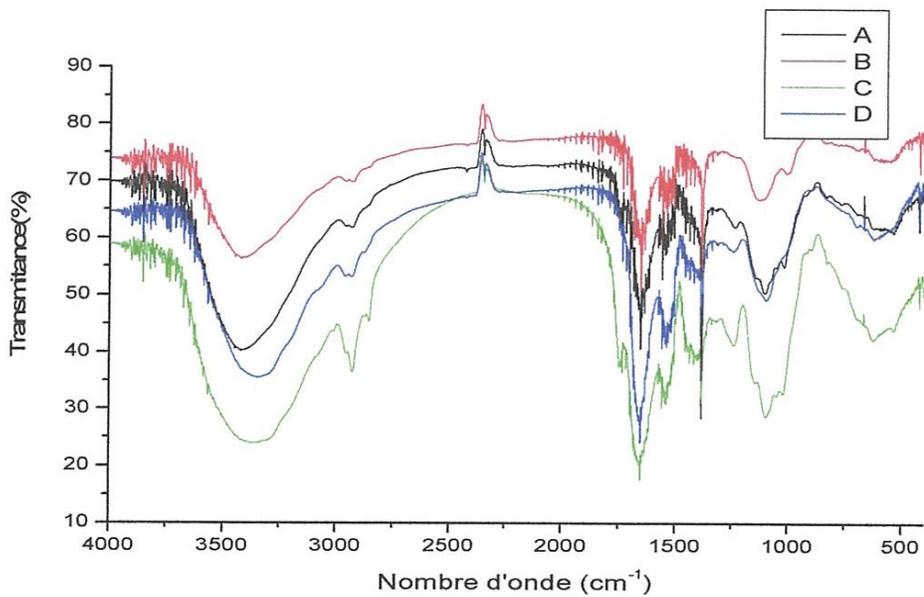


Figure : Les spectres infrarouge à différentes températures et temps.

Annexe 11

Les calculs des cendres totales

La teneur en cendres totales est calculée selon la formule:

$$\text{Cendres (\%)} = [(M_2 - M_0) / (M_1 - M_0)] \times 100$$

M₀: poids de creuset vide (g),

M₁: poids (creuset+échantillon) avant incinération (g),

M₂: poids (creuset+cendres) après incinération (g).

Par applications numériques : **M₀** = 1.81g, **M₁** = 1.83g, **M₂** = 1.815g

$$\text{Cendres (\%)} = [(1.815 - 1.81) / (1.83 - 1.81)] \times 100$$

$$\text{Cendres (\%)} = 25\%$$

Annexe 12

Les calculs de l'humidité et la matière sèche

Les résultats sont exprimés en pourcentage en masse du produit brut.

$$\text{Humidité (\%)} = (P_E - (P_1 - P_0)) / P_E \times 100$$

P_E : poids d'échantillons,

P₁ : poids de capsule + poids d'échantillon,

P₀ : poids de capsule vide

Par applications numériques : **P_E** = 0,024g, **P₁** = 27,12g, **P₀** = 27,098g

$$\text{Humidité (\%)} = 0,024 - (27,12 - 27,098) / 0,024 \times 100$$

$$\text{Humidité (\%)} = 8,33 \%$$

Teneur en matière sèche :

$$\text{Matière sèche (\%)} = (100 - 8,33)\%$$

$$\text{Matière sèche (\%)} = 91,67\%$$

Annexe 13

Teneur de lipide :

P₁ : creuset avec l'échantillon.

P₂ : creuset vide

Par applications numériques : **P₁** = 98,91g, **P₂** = 98,64g

$$\text{Lipide (\%)} : 98,91\text{g} \longrightarrow 100\%$$

$$98,64\text{g} \longrightarrow X\% \quad \text{donc ;}$$

$$\text{Lipide (\%)} = (98,64\text{g} * 100\%) / 98,91\text{g}$$

$$\text{Lipide (\%)} = 99,72 \%$$

[28] <http://en.wikipedia.org/wiki/Hemicellulose>

[29] **JARROUX. N**, Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications , Techniques de l'Ingénieur , 2008.

[30] <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/Zsuite/1Respiration/6Mobilisation/1Mobilisation.htm>

[31] **TOURNIE J.** Méta-analyse des effets de l'oligofructose et de l'inuline sur le risque de cancer colorectal dans deux modèles murins : rats traités par un carcinogène et souris Min, thèse de doctorat de l'Université Paul-Sabatier de Toulouse, 2006.

[32] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Inuline>

[33] http://fr.wikipedia.org/wiki/Gomme_arabique.

[34] **HUSSAIN A et al.** Citrullus colocynthis (L.) Schrad (bitter apple fruit): A review of its phytochemistry, pharmacology, traditional uses and nutritional potential. Journal of ethnopharmacology, 2014.

[35] **GACEM M.** Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de Citrullus colocynthis sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké, Mémoire de Magister en biologie de l'Université de Kasdi Merbah-Ouargla, 2011 .

[36] **AZZI R.** Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique , Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar, Thèse Doctorat en biologie de l'Université de Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 2013.

[37] **MOSTEFA, KARA I.** Contribution à l'étude de l'analyse de l'huile de Citrullus colocynthis (Coloquinte) et de son pouvoir antimicrobien, mémoire de magister de biologie de l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 2011.

Résumé

Les polysaccharides présentent un intérêt important pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et chimique. L'objectif de ce travail est l'optimisation des procédés d'extraction de polysaccharides hydrosolubles à partir d'une biomasse végétale « *Citrulluscolocynthis* » par variation du temps et de températures d'extraction.

L'analyse de la variance a montré un effet hautement significatif de la température et de temps sur le rendement d'extraction. Les résultats ont montré que le meilleur rendement massique qui est 1,67 % a été obtenue à une température de 100 C° pendant 102,5min .

La composition de l'extrait donne une teneur en cendre totales de 25 %, humidité 8,33%, matières sèches 91,67% et en lipides 99,72%.

Le polysaccharide obtenu a été caractérisé par infrarouge (IR) et par chromatographie sur couche mince (CCM), les résultats de cette dernière montre qu'il est composé principalement par des oses qui sont l'arabinose et le galactose.

Mots clé : biopolymères, polysaccharides, optimisation, extraction, caractérisation

Abstract

Polysaccharides present an interest for the food industry, pharmaceutical and chemical. The objective of this work was the optimization of processes for extracting water-soluble polysaccharides from plant biomass "*Citrulluscolocynthis*" by varying the time and temperature of extraction.

The analysis of variance showed a highly significant effect of time and temperature on the extraction efficiency. results showed that the greater mass yield was equal to 1.67%, obtained at a temperature of 100 ° C for 102.5 min.

The extract composition gives a total ash content of 25%, 8.33% moisture, 91.67% dry material and 99.72% fat.

The polysaccharide obtained was characterized by infrared (IR) and by thin layer chromatography (CCM), the results of this latter shows that it is composed mainly of monosaccharides which are arabinose and galactose.

Keywords: biopolymers, polysaccharides, optimization, extraction, characterization

المخلص

لعديدات السكريات أهمية كبيرة في الصناعة الغذائية، الصيدلانية و الكيميائية.

الهدف من هذا العمل هو تحسين ظروف استخلاص متعدد السكريات القابل للذوبان في الماء من الكتلة الحيوية النباتية لـ « *Citrulluscolocynthis* » و ذلك بتغيير وقت و درجة حرارة الإستخلاص .

أظهر تحليل التباين تأثير كبير للغاية من الوقت ودرجة الحرارة على كفاءة الاستخراج. أظهرت هذه الدراسة أن أفضل مردود تم الحصول عليه هو 1.67 % في درجة حرارة 100 درجة مئوية و 102.5 دقيقة .

كشفت دراسة مكونات المستخلص انه يتكون من 25% من الرماد، 8.33% من الرطوبة، 91,67% من المادة الجافة و 99,72% من الليبيدات.

يتم تحديد متعدد السكريات المتحصل عليه، بالأشعة تحت الحمراء (IR) و الكروماتوغرافيا بالطبقة الرقيقة (CCM)، و قد بينت نتائج هذا الأخير انه متكون أساسا من Galactose و Arabinose .

الكلمات المفتاحية: البوليمرات الحيوية، السكريات المعقدة، التحسين، الاستخلاص،