



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Extraction, caractérisation physicochimiques des polysaccharides de déchet d'olive sigoise

Présenté Par:

M^{elle}: HALILAT Zineb

M^{elle}: LARGOT Djihad

M^{elle}: OUBIRI Khaoula

Devant le jury composé de:

Présidente: M.C.B YOUMBAI Asma Université d'El Oued.

Examinatrice: M.C.A MAHBOUB Nasma Université d'El Oued.

Promoteur: M.A.A GHANIA Ahmed Université d'El Oued.

Année universitaire :2021/2022

Remerciement

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*On adresse nos plus vifs remerciements à notre promoteur Mr. **GHANIA Ahmed** pour nous avoir proposé ce sujet, pour ses conseils scientifiques judicieux et son suivi durant la période de la réalisation de ce travail.*

Mes remerciements sont également adressés à l'ensemble des membres du jury, pour leur Disponibilité et l'intérêt qu'ils ont accordé au présent travail :

*Nous exprimons nos vifs remerciements à Mme **YOUMBAI Asma** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à Mme **MAHBOUB Nasma** D'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous tenons également à remercier tous les membres du Laboratoire pédagogique de Biochimie.

Nous tenons également à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

La plus belle maman de l'univers

Ma chère mère, mon amour, mon amie et mon soutien dans ce monde

A mon cher père

A mes chers frères

A toute ma famille et mes proches

A mes chers amis

A tous chers à mon cœur

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mon précieux

Ma chère mère est mon modèle et mon soutien dans le monde

A mon cher père, que Dieu lui fasse miséricorde

A mes chers frères

A mes chères soeurs

Toute ma famille et mes proches

A mes chers amis

A tous mes êtres chers

Dédicace

Je dédie ce travail:

À mes chers parents

Mon cher Papa

Ma chère Maman

À mes chers frère

À mes chers sœurs

À toute la famille et mes amis.

Résumé

L'objectif de notre étude est d'extraire et évaluer les activités biologiques des polysaccharides des noyaux d'olive variété *sigoise*, après avoir effectué l'analyse des fractions polysaccharidiques alcalisolubles à 0.5M (PNOA 0.5) et à 4M (PNOA 4). Les rendements massiques des extraits des polysaccharides sont de 7.34% pour PNOA 0.5 et 6.24% pour PNOA 4. Les teneurs en oses totaux sont des 1.36% pour PNOA 0.5, et 1.42% pour PNOA 4. Les oses neutres représentent pour PNOA 0.5 0.96% et pour PNOA 4: 1.11%. Les oses acides 0.40% pour PNOA 0.5 et 0.31% pour PNOA 4. Les protéines représentent faible teneurs se situant entre 2.88% et 3.09%. . L'activité anticoagulante de fraction testées le temps de TCK sont de 32.15s pour le PNOA 0.5, 31.51s pour PNOA 4. le suivie des tests d'activité antioxydante pour les deux extraits sont 55.8% (PNOA 0.5), 34.3% (PNOA 4) pour teste DPPH, et 90.5 % (PNOA 0.5) et 92.09% (PNOA 4) , pour teste FRAPP et 71.57% (PNOA 0.5) 59.35% (PNOA 4) pour teste B-carotène. Tous les extraits (PNOA 0.5) et (PNOA 4) possèdent un fort activité anti-inflammatoire, et faible pour activité anti-hémolytique . Mais dernier activité anti-bactéries ne pas présenter dans les extraites.

Mots clés : Noyau d'olive, polysaccharides solubles dans les alcalis, activités biologique.

الملخص

الهدف من دراستنا هو استخراج وتقييم الأنشطة البيولوجية لعديد السكاريد في نواة الزيتون من صنف سيقواز ، بعد إجراء تحليل مختلف أجزاء السكاريد القابلة للذوبان في القلويات عند 0.5 وعند 4 مول. العائد الكتلي لمستخلصات السكاريد هو 7.34% لـ PNOA 0.5 و 6.24% لـ PNOA 4. إجمالي محتويات السكاريد هو 1.36% لـ PNOA 0.5 ، و 1.42% لـ PNOA 4. تمثل السكريات الأحادية المحايدة لـ 0.96% PNOA 0.5 و 1.11% PNOA 4. وتمثل السكريات الأحادية الحمضية 0.40% لـ PNOA 0.5 و 0.31% لـ PNOA 4. البروتينات تمثل مستويات منخفضة تتراوح بين 2.88% و 3.09%. النشاط المضاد للتخثر للجزء الذي تم اختباره في وقت TCK هو 32.15 ثانية لـ PNOA 0.5 و 31.15 ثانية لـ PNOA 4. متبوعا باختبارات نشاط الاكسدة للمستخلصات حيث مثلت 55.8% لـ PNOA 0.5 و 34.3% لـ PNOA 4 في اختبار DPPH، 90.5% لـ PNOA 0.5 و 92.09% لـ PNOA 4 في اختبار FRAPP ، و 59.35% لـ PNOA 0.5 و 71.57% لـ PNOA 4 في اختبار بينا-كاروتين. جميع المستخلصات (PNOA 0.5) ، (PNOA 4) لها نشاط قوي مضاد للالتهابات ، وضعيفة في النشاط المضاد لانحلال الدم. لكن آخر نشاط مضاد للبكتيريا غير موجود في المستخلص.

الكلمات المفتاحية: نواة الزيتون، سيقواز ، السكاريد القابلة للذوبان في القلويات، الأنشطة البيولوجية.

Abstract

This study aims to extract and evaluate the biological activities of the polysaccharides of the olive pits of the *Sigoise* variety, after having carried out the analysis of the alkali-soluble polysaccharide fractions at 0.5M (PNOA 0.5) and at 4M (PNOA 4). The mass yields of the polysaccharide extracts are 7.34% for PNOA 0.5 and 6.24% for PNOA 4. The total sugar contents are 1.36% for PNOA 0.5, and 1.42% for PNOA 4. The neutral sugars represent for PNOA 0.5 0.96% and for PNOA 4: 1.11%. Acid monosaccharides 0.40% for PNOA 0.5 and 0.31% for PNOA 4. Proteins represent low levels ranging between 2.88% and 3.09%. . The anticoagulant activity of fraction tested the time of TCK are 32.15s for PNOA 0.5, 31.51s for PNOA 4. the followed by antioxidant activity tests for the two extracts are 55.8% (PNOA 0.5), 34.3% (PNOA 4) for DPPH test, and 90.5% (PNOA0.5) and 92.09% (PNOA4) for FRAPP test and 71.57% (PNOA0.5) 59.35% (PNOA 4) for B-carotene test . All the extracts (PNOA 0.5) and (PNOA 4) have strong anti-inflammatory activity, and weak anti-hemolytic activity. But last anti-bacteria activity does not exhibit in extracted.

Key words: Olive pit, alkali-soluble polysaccharides, biological activities.

Liste des Figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Feuilles de l'olivier cultivé	7
Figure 02	fleurs d'olivier	8
Figure 03	fruits d'olivier	8
Figure 04	Carte représentant les principales régions de production d'olivier <i>Olea europaea</i> dans le monde	10
Figure 05	Répartition de la culture de l'olivier en Algérie	11
Figure 06	coupes schématiques d'un fruit d'olive (drupe)	12
Figure 07	Variété <i>Ségoise</i>	14
Figure 08	Description morphologique de la variété <i>Sigoise</i>	15
Figure 09	structure du glycogène	23
Figure 10	Structure de l'héparine	23
Figure 11	Structure du Kératane sulfate	24
Figure12	Structure de la cellulose	25
Figure 13	Structures des hémicelluloses et des pectines	26
Figure 14	Structures de l'amylose et de l'amylopectine	27
Figure 15	structure de galactomannane	28
Figure 16	structure d'un fructane	29
Figure 17	Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de noyaux des olives	37
Figure 18	Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides alcalisolubles (0.5 et 4 M) à partir de noyaux des olives	38
Figure19	la réduction de test DPPH	44
Figure 20	Plan expérimental d'étude	47
Figure 21	Temps de céphaline activée (TCA) de trois extraits polysaccharidiques de noyaux d'olive variété <i>sigoise</i> à une concentration d'On10µg/µl	54
Figure 22	Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration 100 µg/ml par test DPPH	55
Figure23	Activité antioxydante des différentes fractions à la concentration 100 µg/ml par teste FRAP	56
Figure 24	Activité antioxydante des différentes fractions à la concentration 100 µg/ml par teste de blanchissement du β-carotène	57
Figure 25	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des extraits polysaccharides et du diclofénac de sodium	59
Figure 26	Histogramme comparatif d'taux anti hémolytique d'acide ascorbique et des extraits testés en concentration 1mg/ml	60

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau I	Composition chimique de fruit d'olive	13
Tableau II	Effets des composants des polysaccharides sur leurs propriétés physicochimiques	18
Tableau III	Principaux homopolysaccharides naturels	19
Tableau IV	Rôle biologiques de quelques homopolysides	20
Tableau V	Rôle biologique de quelque hétéropolyosides	21
Tableau VI	Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose	40
Tableau VII	Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose	41
Tableau VII	Caractéristiques des alcalosolubles et lipides de la variété <i>sigoise</i>	52
Tableau IX	Contenu des extraits de polysaccharide alcalisolubles	53

Liste des photos

Numéro	Titre	Page
Photo 01	Noyaux des olives	36
Photo 02	Poudre des noyaux des olives	36
Photo 03	Effet de l'extrait PNOA 0.5, PNOA4 sur la croissance de <i>Pseudomonase aeruginosa</i>	60
Photo 04	Effet de l'extrait PNOA0.5, PNOA4 sur la croissance de <i>Escherichia coli</i>	60
Photo 05	Effet de l'extrait PNOA0.5, PNOA4 sur la croissance de <i>staphylococcuse</i>	60

Liste des abréviations

% : pourcentage

Abc: absorbance

Ac : Absorbance contrôle

At : Absorbance teste

Cm : Centimètre

DDPH : 2,2 diphényl 1-1 picrylhydrazyl

EDTA : Ethylène diamine tétra acétique

Fe : Fer

Fe +2: Ion ferreux

Fe+3: Ion ferrique

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant power

I % : pourcentage d'inhibition

Mg/ml : Milligramme par millilitre

PNOA : polysaccharide alcalisoluble des noyaux des olives

R : rendement

TCK : Temps du céphaline – Kaolin

Ug/ml: Microgramme par millilitre

Ul : Microlitre

Sommaire

Remerciement
Dédicace
Dédicace
Dédicace
Résumé
ملخص
Abstract
Liste des Figures
Liste des tableaux
Liste des photos
Liste des abréviations
Sommaire
Introduction

CHAPITRE I : Partie Bibliographique	
I. Généralités sur l'olivier (<i>Olea europea L.</i>).....	5
I. 1 Origine et expansion	5
I. 1.1 Origine géographique	5
I.1.2. Origine génétique	5
I.1.3. Classification et description botanique d' <i>Olea europaea L</i>	6
I.1.4. Caractéristiques morphologiques	6
I.1.4.1. Les systèmes racines.....	7
I.1.4.2. Le système aérien	7
I.1.5. Cycle de développement végétatif	9
I.1.6. Oléiculture dans le monde	9
I.1.7. La production de l'olivier en Algérie	10
I. 2.Olive.....	11

I. 2.1.Le fruit d'olive.....	11
I. 2.2. Composition chimique de l'olive	12
I. 2.3. Les variétés locales les plus cultivées	13
I.3. <i>Ségoise</i>	14
I.3.1. la variété <i>Sigoise</i>	14
I.3.2. Description de la variété <i>Sigoise</i>	14
I. 4.Généralités sur les glucides.....	16
I. 4.1. Généralités sur les polysaccharides	16
I. 4.2. Les Polysaccharides	17
I. 4.3. Classification des polysaccharides	19
I. 4.3.1. Selon la structure	19
I. 4.3.2. Selon les origines.....	22
I. 5. Activités biologiques des polysaccharides	29
I .5.3.Activité antioxydante.....	31
I. 5.4. Activité anticoagulante	31
I. 5.5. Activité antibactérienne	32
CHAPITRE II :Matériel et Méthodes	
II. 1 . Principe d'étude.....	35

II. 2 . Matériel d' étude	35
II. 2 . 1 .Matériel non biologique	35
II. 2 . 2 . Matériel biologique	35
II. 3 . Méthodologie de travail	36
II. 3. 1 . Extraction des polysaccharides hydrosolubles	36
II. 3 .2.- Extraction des polysaccharides alcalisolubles	37
II. 4 . Extraction des polysaccharides	39
II. 4.1. Rendement d'extraction	39
II. 4.2. Dosage des composants des extraits bruts des polysaccharides	39
II. 4. 2. 1 .Dosage des oses totaux	39
II. 4 .2. 1.1. Principe	39
II. 4 .2 .1 .2 . Mode opératoire.....	39
II. 4 .2 .1 .3. Préparation de la courbe d'étalonnage.....	40
II. 4.2.2.Dosage des oses neutres.....	40
II. 4. 2.2.1. Principe.....	40
II. 4 .2.2.2. Mode opératoire	40

II. 4.2.2.3. Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose	41
II. 4.2.3.1 . Méthode de Bradford (1976)	41
II. 4.2.3.2 . Principe	41
II. 4.2.3.3 . Préparation des réactifs	41
II. 4.2.3.4. Mode opératoire	41
II. 5 . Activités biologiques des polysaccharides	42
II. 5.1. Evaluation in vitro de l'activité anticoagulante	42
II. 5.1.1 . Temps de céphaline kaolin activé (TCK)	42
II. 5.1.1.1 . Principe	42
II. 5.1.1.2 . Mode opératoire.....	43
II. 5.2 . Activité antioxydante	43
II. 5.2.1 . Evaluation de pouvoir antioxydant.....	43
II. 5.2.1.1 . Effet scavenger du radical DPPH	43
II. 5.2.1.1.1 . Principe	43
II. 5.2.1.1.2 . Mode opératoire	44
II. 5.2.2 . Test de réduction du fer (FRAP : Ferric reducing antioxidant power).....	45
II. 5.2.2.1 . Principe	45

II. 5.2.2.2. Mode opératoire	45
II. 5.2.3. Test de blanchissement du β -carotène.....	45
II. 5.2.3.1. Principe.....	45
III. 5.2.3.2. Mode opératoire	48
II. 5.3. Activité anti-inflammatoire.....	48
II. 5.3.1. Activité anti-inflammatoire in vitro	48
II. 5.3.1.1. Principe	48
II. 5.3.1.2. Mode opératoire	48
II. 5.4. Test anti hémolytique.....	48
II. 5.4.1. Méthode de dosage	48
II. 5.5. Activité anti bactérienne	49
II. 5.5.1. Principe	49
II. 5.5.2. Mode opératoire	49
CHAPITRE III :Résultats et discussion	
III. 1. Contenu des noyaux d'olives en polysaccharides	52
III. 1.1. Rendement et caractéristiques des polysaccharide.....	52
III. 1.2.-Composition des extraits bruts des polysaccharides.....	52

III. 3. Activités biologique.....	53
III. 3.1. Activité anticoagulante.....	53
III. 3.2. Activité Antioxydant	54
III. 3.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH	54
III. 3.2.2. Test de réduction du fer (FRAP)	55
III. 3.2.3. Test de blanchissement du β carotène.....	56
III. 3.3. Activité anti-inflammatoire.....	58
III. 3.4. Test hémolysée.....	60
III. 3.5. Activités antibactérienne	60
Conclusion.....	63
Références bibliographique.....	65
Annexe.....	

Introduction

Introduction

Dans le bassin méditerranéen, l'olivier (*Olea europea. L*) constitue une essence fruitière principale, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental. **(Gomes et al., 2012)**. ont indiqué l'existence de plus 805 millions d'oliviers dans le monde entier dont 98% sont concentrés sur le pourtour méditerranéen. En fait, le patrimoine génétique oléicole mondial est très riche en variétés. Il est constitué par plus de 2,600 variétés différentes **(Muzzalupo et al., 2014)**.

En Algérie, l'olivier compte environ 32 millions d'arbres **(Bensemmane., 2009 ; Mendil., 2009)**. répartie sur une superficie d'environ 328.884 hectares **(FAOSTAT., 2013)**. soit 34,09% du verger arboricole national. L'oléiculture algérienne est située principalement dans la partie nord du pays, où la plupart des vergers (80%) sont situés dans des zones montagneuses avec des sols pauvres.

Le patrimoine oléicole national est très riche en cultivars. D'après **(Chaouki et al., 2006)**. il existerait plus de 150 cultivars d'oliviers plus ou moins cultivés. Ceci ne reflète pas en réalité le nombre réel des cultivars locaux qui ne sont pas encore identifiés et caractérisés.

Selon des prospections récentes sur de nouveaux sites, le nombre de cultivars serait encore plus élevé. En fait, le manque d'informations sur l'existence de beaucoup de cultivars locaux dispersés, à travers tout le pays, et qui ne sont pas encore inventoriés ni caractérisés (Communication personnelle 2014. Mme Abdessemed, CRBt). on est la raison principale. En se basant sur les descripteurs morphologiques du conseil oléicole international, seulement 36 cultivars algériens ont été identifiés **(Mendil et Sebai., 2006)**. Mais ceci reste insuffisant vu la grande diversité de cette ressource dans notre pays. Ce manque d'informations suggère la nécessité d'approfondir notre connaissance sur le patrimoine oléicole national pour mieux le valoriser et le sauvegarder. L'organisation d'études systématiques selon des normes de classification et des schémas descriptifs complets permettra de clarifier la gamme des ressources génétiques oléicoles.

Les polysaccharides sont les macromolécules les plus abondants sur terre et dans les océans. Ils sont fortement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique **(EFSTATHIOU et al., 2012)**.

Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux (ex :cellulose, Carraghénanes, alginates). Ils présentent une variabilité structurale et une richesse de propriétés physico-chimiques, que l'on ne rencontre chez aucune autre classe d'organismes **(WARRAND., 2004)**.

Introduction

Le genre d'Astragale (famille de *Fabaceae*) contient de nombreux éléments actifs, tels que des flavonoïdes, des glycosides triterpénés, des acides aminés et des traces de minéraux et des polysaccharides (**SAOUDO., 2007**). Les méthodes d'extraction de ce dernier est un processus important pour leur application dans les différents industries (agroalimentaires, pharmaceutiques ...etc).

De nombreuses études ont montré l'effet des conditions d'extraction sur le rendement des polysaccharides extraits (**RENJIE., 2008**).

L'intéresse à l'extraction et la caractérisation des polysaccharides des noyaux des olives dans un premier temps et l'évaluation de leurs activités biologiques, le travail est structuré autour de trois chapitres. Le premier est consacré une synthèse bibliographique, rappelant le palmier l'olivier et généralités sur *sigoise*, avec des généralités sur les polysaccharides et leur intérêt et leur rôle. Dans un second chapitre, la méthodologie suivie pour l'extraction, la caractérisation et l'évaluation quelques activités biologiques des polysaccharides alcalisolubles des noyaux de olive de cultivars *sigoise*. Un troisième chapitre présente les principaux résultats obtenus avec la discussion suivie par une conclusion.

CHAPITRE I : Partie Bibliographique

I. Généralités sur l'olivier (*Olea europea L*)

I.1 Origine et expansion

I.1.1 Origine géographique

L'olivier a une origine très ancienne. Son apparition et sa culture remonterait à la préhistoire.

Selon Miner (1995), l'origine de l'olivier se trouve précisément dans les pays en bordure du berceau des civilisations qu'est la méditerranée : Syrie, Égypte, Liban, Grèce ou Rome et autres, bien que d'autres hypothèses soient admises mais celle de Decandolle est la plus fréquemment retenue; qui désigne la Syrie et l'Iran comme lieux d'origine de l'olivier (**Loussert et Brousse., 1978**). et l'expansion de sa culture est faite de l'Est vers l'Ouest de la méditerranée grâce aux Grecs et aux Romains lors de leur colonisation du bassin méditerranéen (**Loussert et Brousse., 1978 ; Breton et al., 2006 ; Artaud., 2008**).

Selon Camps (1974) in Camps-Farber (1974), en Afrique du Nord les analyses de charbon et de pollen conservés dans certains gisements ibéro-maurusiens ou caspiens attestent que l'oléastre existait dès le XII millénaire et certainement avant.

D'après le COI (1998), l'olivier a poursuivi son expansion au-delà de la Méditerranée avec la découverte de l'Amérique en 1492. Au cours des périodes plus récentes, l'olivier se trouve dans l'Afrique du Sud, l'Australie, le Japon ou la Chine (**Cavallès., 1938**).

En Algérie, la culture de l'olivier remonte à la plus haute antiquité. Nos paysans s'y consacraient avec art durant plusieurs siècles (**Alloum., 1974**). L'olivier et ses produits constituaient alors l'une des bases essentielles des activités économiques de nos populations rurales.

L'huile d'olive faisait l'objet d'un commerce intense entre l'Algérie et Rome, durant l'époque romaine.

Depuis cette époque, l'histoire de l'olivier se confond avec l'histoire de l'Algérie et les différentes invasions ont eu un impact certain sur la répartition géographique de l'olivier dont nous avons hérité à l'indépendance du pays (**Mendil et Sebai., 2006**).

I.1.2. Origine génétique

L'origine génétique de l'olivier est jusqu'à présent imprécise, l'oléastre a toujours été considéré comme l'ancêtre de l'olivier (**Breton et al., 2006**).

Une étude, par les marqueurs moléculaires, de la diversité génétique de l'olivier cultivé et formes sauvages apparentées effectuée par Guillaume Besnard (1999), montre que la sélection des variétés que l'on trouve aujourd'hui serait le résultat d'un isolement ancestral

(dernières glaciation) de 3 populations d'oliviers : Afrique du Sud, Asie et Bassin Méditerranéen (**Besnard., 2009**).

Divers travaux ont suggéré que le croisement entre les formes cultivées et/ou les formes sauvages est à l'origine des cultivars que nous avons hérités (**Breton et al., 2006 ; Idrissi et Ouzzani., 2003**).

I.1.3. Classification et description botanique d'*Olea europaea* L

L'olivier appartient à la famille des oléacées. Son genre, *Olea* se compose de 33 espèces (**Van der vossen et Mkamilo., 2007**). L'olivier cultivé et l'oléastre coexistent aujourd'hui dans le bassin méditerranéen, L'oléastre (*Olea europaea subsp. europaea var. sylvestris*) est la forme sauvage de l'espèce (*Olea europaea subsp. Europaea var. sativa*) (**Breton et Bervillé., 2012**). La classification botanique de l'olivier, selon Ghedira (2008) est la suivante:

Embranchement : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : Asteridae.

Ordre : Scrophulariales.

Famille : Oleaceae.

Genre: *Olea* L.

Espèces: *Olea europea* L.

I.1.4. Caractéristiques morphologiques

I.1.4.1. Les systèmes racines

Le développement du système racinaire de l'arbre dépend des caractéristiques physicochimiques du sol, sa profondeur, sa texture et sa structure.

Le jeune plant issu de semi développe une racine pivotante. A l'état adulte, l'olivier présente deux à trois racines pivotantes qui s'enfoncent profondément et de celles-ci, part un système racinaire peu profond à développement latéral, qui donne naissance à des racines secondaires et des radicules pouvant explorer une surface de sol considérable. (**Kasraoui., 2010**).

signalant qu'en Tunisie (Sfax) et a densité de 24m x24m(**Yankovitch et Berthelot., 1947**). les racines des oliviers s'entrelacent (**Loussert et Brousse., 1978**). Le système racinaire devient de moins en moins dense avec la profondeur (**Kasraoui., 2010**).

I.1.4.2. Le système aérien

➤ Le tronc

Selon Beck et Danks (1983) le tronc est jaunâtre puis passe à la brune très claire. Il est très dur, compacte, court, trapu (jusqu'à 2m de diamètre), et port des branches assez grosses, tortueuses, et lisse.

➤ Les feuilles

Persistantes, opposées, coriaces, ovales oblongues, à entières et un peu enroulés, portées par un court pétiole ; elles sont vert grisâtres, à vert sombre dessous blanchâtres et à une seule nervure dessous. **(Figure 01)**

très souvent, elles contiennent des matières grasses, des cires, des chlorophylles , des acides (gallique et malique), des gommes et des fibres végétales **(Amouretti., 1985)**.



Figure 01: Feuilles de l'olivier cultivé **(Breton et Bervillé., 2012)**

➤ Les fleurs

Les fleurs d'olivier sont groupées en inflorescence comportant un nombre de fleurs, variables d'un cultivar à un autre de 10 à plus de 40 par grappe en moyenne (**Figure 02**). Les fleurs individuelles peuvent être hermaphrodites ou staminées (**Loussert et Brousse. , 1978**).



Figure 02: fleurs d'olivier (www.archaeo.com)

➤ Les fruits

La période de la mise à fruit s'étale d'octobre à novembre les fruits sont ovoïdes gros (1.5 à 2 cm), long temps verts (**Figure 03**), puis noirs à complète maturité, de forme variable suivant les variétés à pulpes charnue huileuse (**Rol et Jacamon., 1988**).



Figure 03: fruits d'olivier (**Breon et Bervillé., 2012**)

I.1.5. Cycle de développement végétatif

Au cours de la vie d'un arbre, on peut distinguer quatre grandes périodes:

1. période de jeunesse;
2. période d'entrée en production;
3. période adulte;
4. période de sénescence.

La durée de chacune de ses périodes variera avec les conditions de cultures des arbres, et selon des variétés. L'amélioration des techniques de production (taille, fertilisation, irrigation) et l'amélioration du matériel végétal (sélection clonale) ont permis de modifier la durée de chacune de ces périodes (Alcalca et al., 1992).

Le déroulement annuel du cycle végétatif de l'olivier est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation caractérisé essentiellement par le climat méditerranéen (Villemur et al., 1976; Pal et al., 1983).

I.1.6. Oléiculture dans le monde

Au niveau international, les dernières données publiées par le Conseil Oléicole International (COI) pour la campagne oléicole 2017-2018 montrent une augmentation interannuelle de la production d'huile d'olive. Ainsi, selon les données présentées par les pays en 2017, la production mondiale atteindrait 2,9 millions de tonnes (COI., 2018).

La production européenne s'affiche en tête avec l'Espagne, l'Italie, la Grèce et le Portugal, dont la production atteindrait environ 1,8 million de tonnes. Le Maroc, l'Argentine, la Jordanie, la Palestine, l'Algérie, la Tunisie et la Turquie enregistreraient quant à eux une production de plus de 800 000 tonnes d'huile d'olive. Le principal importateur d'huile d'olive reste les États-Unis, avec 37% du marché mondial, suivi de l'Union européenne avec 16%.

Compte tenu de la demande mondiale croissante en olives et ses dérivés, la filière oléicole a bénéficié d'une forte dynamique dans le cadre du plan de développement du secteur agricole, en particulier depuis le lancement du Plan Maroc Vert (Figure 04) (COI., 2018).

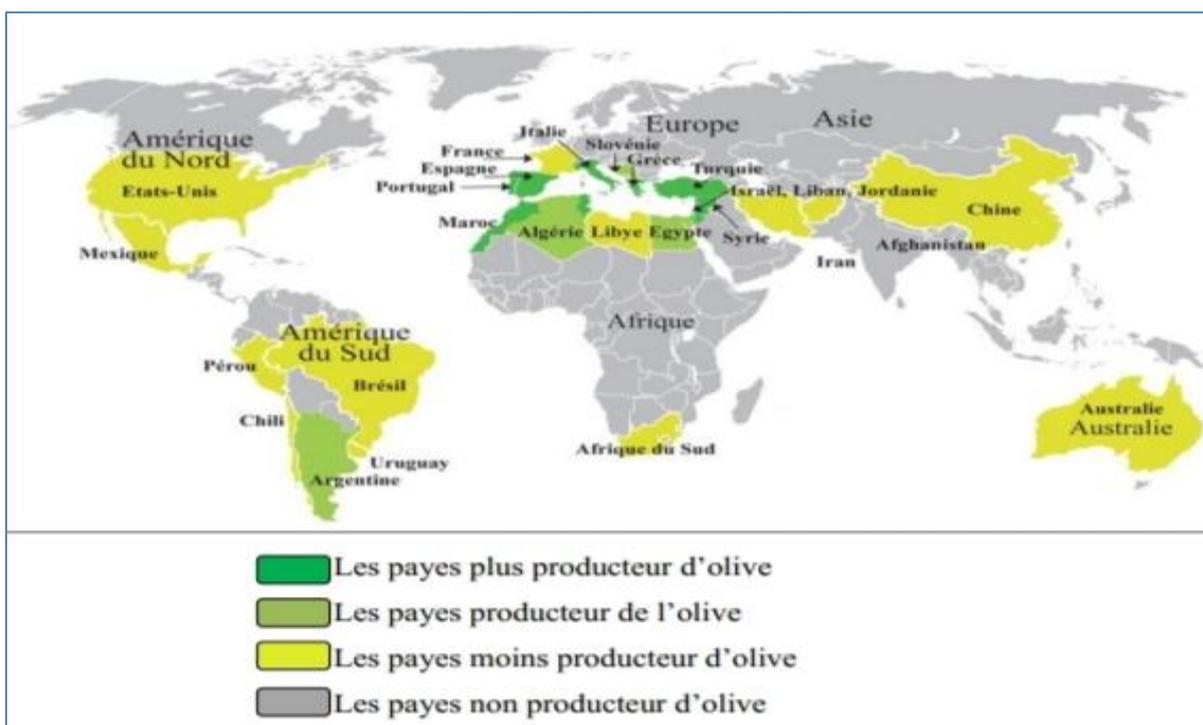


Figure 04: Carte représentant les principales régions de production d'olivier *Olea europaea* dans le monde (COI., 2018)

I.1.7. La production de l'olivier en Algérie

Le potentiel oléicole est concentré dans les régions montagneuses et se répartit principalement dans trois régions(**Figure 05**) : le Centre nord, principalement Tizi-Ouzou, Bouira et Bejaia avec 54,3 % de la surface totale, l'Est (Jijel, Guelma, Skikda, et Mila) avec 28,3 % et l'Ouest qui occupe à peine 17% (Tlemcen, Sig et Mascara). La plupart des oliveraies (80 %) est donc cultivée sur des terrains accidentés et marginaux, peu fertiles et caractérisés par une pluviométrie moyenne comprise entre 400 et 900 mm/an. Le reste (20 %) est situé dans les plaines occidentales où la pluviométrie moyenne annuelle est de 300-400 mm. A noter que les olives des régions centre sont destinées à la production de l'huile, alors que celles de l'Ouest sont pour la conserverie (LABDAOUI D., 2017).

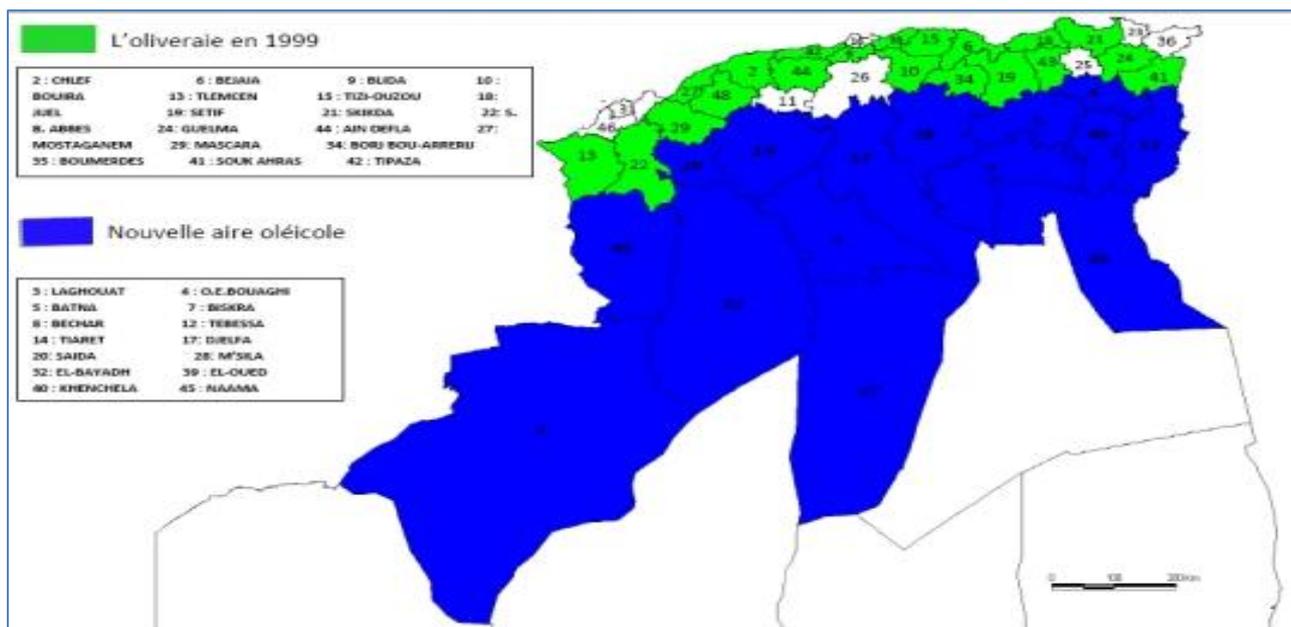


Figure 05: Répartition de la culture de l'olivier en Algérie (ITAF., 2008)

I. 2. Olive

I. .2. 1. Le fruit d'olive

Le fruit de l'olivier, l'olive, est une drupe charnue ayant une forme plus au moins ovale, à peau lisse. Elle est constituée de l'extérieur vers l'intérieur de trois parties (**Figure 06**) : l'épicarpe, le mésocarpe et l'endocarpe (**Fedeli., 1997**).

▪ L'épicarpe

L'épicarpe, composé de l'épiderme et de la cuticule, représente 1 à 3 % du poids du fruit. Il est constitué en plus grande partie d'acides gras accompagnés d'alcools et de leurs esters, des composés aromatiques et des chlorophylles. Sa couleur varie du vert au début de maturation au vert à jaunâtre, rose violacé, violet et noir à pleine maturité. Ces variations de couleur sont liées à la composition en pigments dans le fruit (**Cortesi et al., 2000a; Bianchi, 2003**).

▪ Le mésocarpe

Le mésocarpe, dénommé également la pulpe, représente 70 à 80 % du poids du fruit. Il renferme dans une matrice essentiellement protéique une solution aqueuse, dont les solutés sont fondamentalement des sucres, accompagnés d'une série d'acides organiques, de phénols simples et complexes, libres ou liés aux sucres, des composants d'arômes liposolubles. Le mésocarpe renferme la plus grande partie d'huile (96 à 98 %) qui se trouve sous forme libre

dans des vacuoles et sous forme liée à l'intérieur du cytoplasme (Cortesi et al., 2000a; Bianchi, 2003; El Antari et al., 2003a).

▪ L'endocarpe

Très caractéristique de la variété, l'endocarpe (noyau) représente 18 à 22 % du poids du fruit (Figure 06). Il est composé de deux sous système : le premier constitué par la partie la plus externe de la graine, le second constitué par la matrice protéique, contenant la composante lipidique et la composante hydrophile (Cortesi et al., 2000a; Bianchi., 2003).

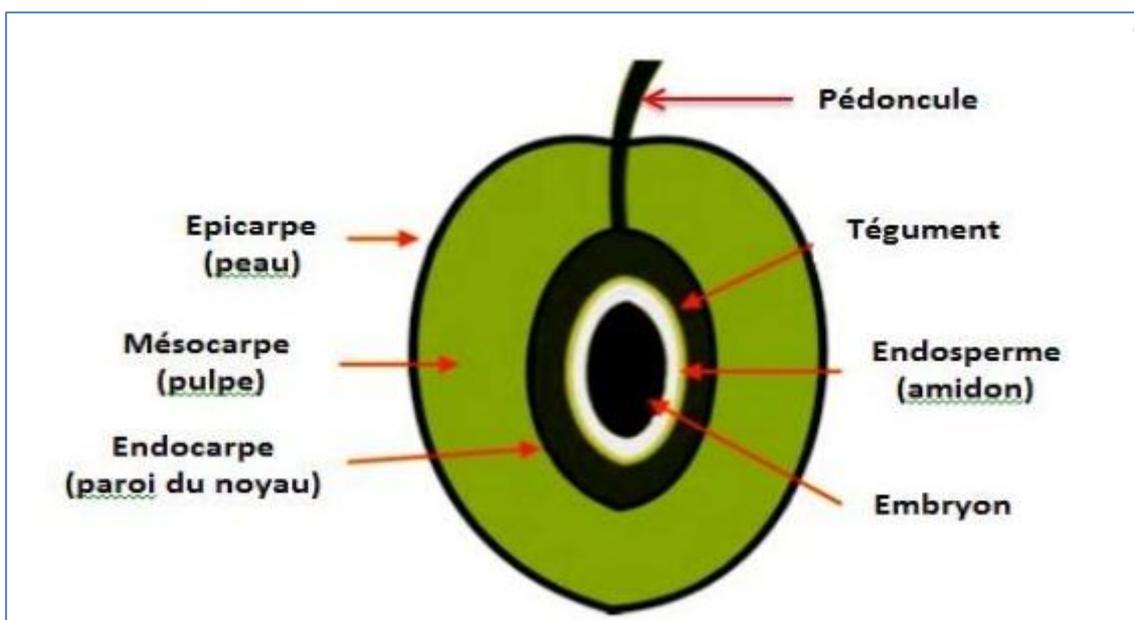


Figure 06 : coupes schématiques d'un fruit d'olive (drupe) (Muzzalupo et Micali., 2015)

I. 2.2. Composition chimique de l'olive

Les principaux constituants de l'olive (Tableau I) sont l'eau, les polysaccharides et les triglycérides en plus d'autres constituants présents en petites quantités qui confèrent à l'huile d'une part, une partie de ses qualités gustatives et nutritionnelles et d'autre part sa stabilité oxydative. Cette composition est influencée par le cultivar, les conditions agronomiques et le degré de maturité du fruit (Zarrouk et al., 1996; Gomez-Rico et al., 2008).

Tableau I :Composition chimique de fruit d'olive (Laurent et Barnouin., 2000)

Constituants	Teneurs (pour 100 g de matière fraîche)
Eau	68 g (70 à 75 %).
Lipides	20 g (17 à 30 %).
Glucides	10 g (12 %).
Protéines	1 g (1 %).
Acides organiques	Trace.
Sels minéraux (mg)	
-Sodium (Na)	128
-Fer (Fe)	2,9
-Calcium (Ca)	122
-Magnesium (Mg)	2
-Soufre (S)	27
-Manganèse (Mn)	2
-Phosphore (P)	14
-Cuivre (Cu)	0,2
-Chlore (Cl)	4
Vitamines (mg)	
-Vitamine E	238 – 352
-Vitamine B1	0,54 – 11
-Vitamine A	0,15 – 0,23

I. 2.3. Les variétés locales les plus cultivées

-Chemlel: C'est la variété la plus dominante en Algérie, elle représente près de 45% du patrimoine oléicole nationale.

-Ségoise : C'est une variété auto-fertile, elle représente 20% du verger oléicole national. Généralement, elle se localise à l'Ouest du pays allant de Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen. C'est une variété à deux fins.

-Azeradj et Bouchouk: Elles accompagnent généralement les peuplements de *Chemlal* dont Azeradj améliore la pollinisation. Elles présentent un gros fruit destiné à la conserverie et même à la production d'huile.

-Limli: représente 8% du verger oléicole national, elle se rencontre dans la région d'Oued Soummam.

-Rougette de Mitidja: C'est une variété à huile installée dans la plaine de Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude.

-Rougette de Guelma et blanquette de Guelma : Elles se trouvent en association dans la région Est du pays. (Boukhari., 2014).

I. 3 .*Ségoise*

I. 3. 1. La variété *Sigoise*

Elle est répartie dans les grands bassins oléicoles de la région ouest occupant 25% du verger oléicole. Cette dernière est d'origine de la plaine de Sig (Mascara), avec une double aptitude (huile et olive de table), ces feuilles sont de forme elliptique- lancéolée de longueur moyenne et le fruit prend une couleur noire à la maturation avec une forme ovoïde de poids moyen (**Figure 07**) (ITAF., 2012).



Figure 07 : Variété *Ségoise* (ITAF., 2012)

I. 3. 2. Description de la variété *Sigoise*

L'olivier de la plaine de Sig désigné par la *Sigoise* olive de Tlemcen ou olive du tell (Monts de Tlemcen) occupe 25% du verger oléicole algérien. Elle est dominante depuis Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen. Cette variété est utilisée principalement pour la production d'excellente olive de conserve en vert ou en noir avec une production d'environ 50 Kg/arbre. Elle est également appréciée pour la production d'huile dont le rendement est de 18 à 22%. L'arbre à une hauteur moyenne, ce qui facilite la cueillette à la main. Le poids des fruits varie de 4,5 à 5,5 g et rapport pulpe-noyau est de 6,44. La sigoise est une variété fertile en culture soignée, tolérante aux eaux et moyennement résistante au froid et à la sécheresse (**MENDIL et SABAI., 2006**).

- Les caractéristiques du cultivar *Sigoise* sont récapitulées dans la figure suivante

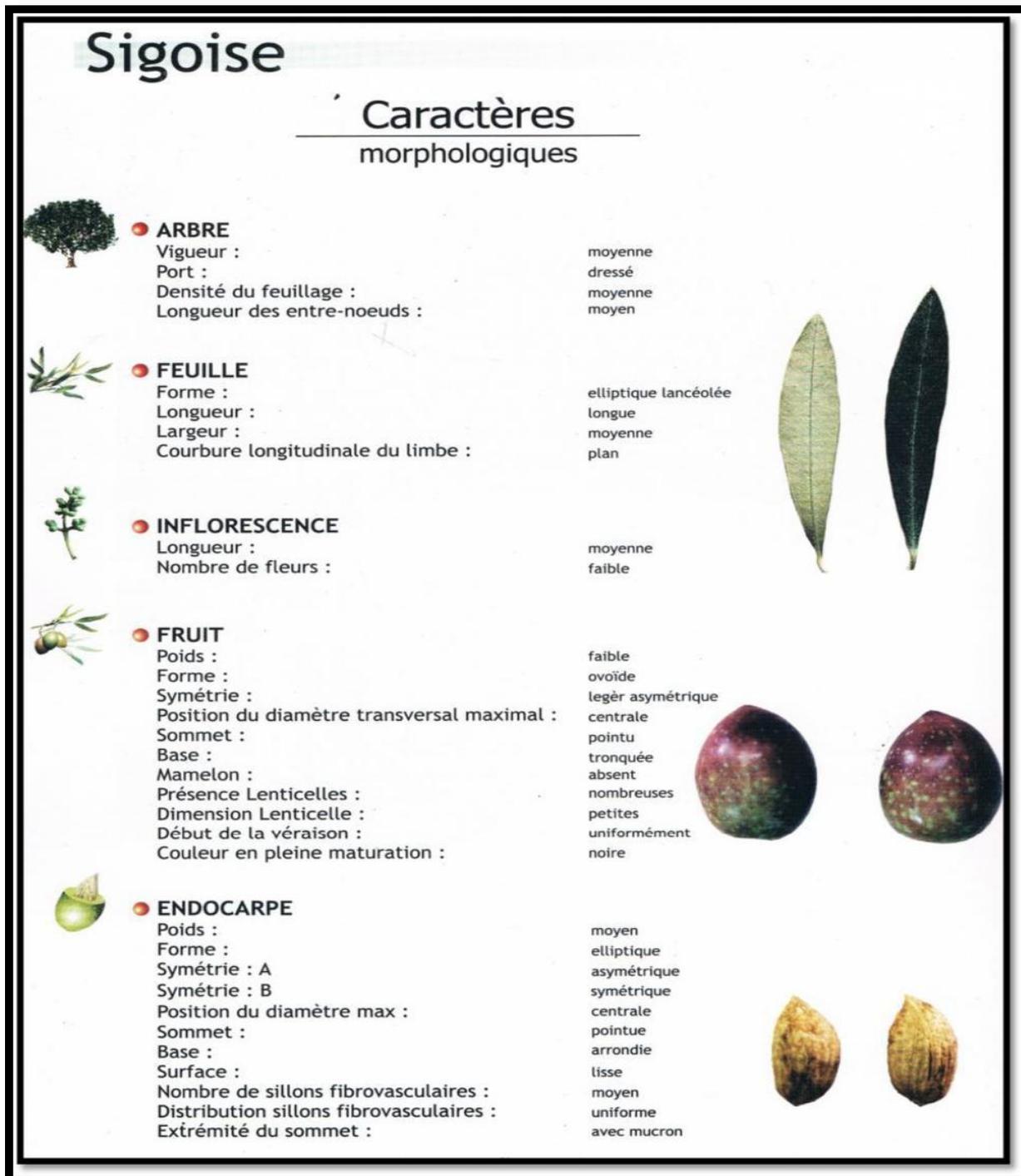


Figure 08 : Description morphologique de la variété *Sigoise* (ITAF., 2006)

I. 4 . Généralités sur les glucides

Les glucides, encore appelés sucres ou hydrates de carbone, représentent avec les protéines, les lipides et les acides nucléiques, l'une des quatre grandes classes de constituant de la matière vivante. De tout temps ils ont fait l'objet de recherches actives, principalement en raison de leur importance économiques et à cet égard, l'industrie des hauts glycopolymères comme l'amidon, la cellulose, les gommes et les pectines s'est développée dès les XIX siècles. Mais, à ce cet intérêt économique, s'est rapidement ajouté un intérêt biologique du, par exemple, au fait que le glucose et le glycogène sont, pour l'homme, source d'énergie pour le premier et réserves d'énergie pour le second (**VERBERT et al., 1997**).

Les glucides ou saccharides sont les molécules biologiques les plus abondantes. Leur formule brute générale $(CH_2O)_n$ leur a valu le nom d'hydrates de carbone ou carbohydrates pour les anglo-saxons. Les unités de base des glucides sont appelés monosaccharides ou oses. Ce sont des polyhydroxyaldéhydes ou des polyhydroxycétones contenant entre 3 et 7 atomes de carbone. Les osides sont des polymères d'oses liés entre eux par des liaisons de type Oglycosidique. Ces derniers sont classés en deux catégories en fonction de leur degré de polymérisation (dp) : Les polysaccharides (polyholosides ou polyosides ou glycanes) dont le dp est supérieur à 10 (**CHOUANA., 2017**).

Les glucides sont présents chez les procaryotes et eucaryotes et sont synthétisés par gluconéogenèse, ou photosynthèse. Ils sont parfois liés de manière covalente à des protéines (glycoprotéines) ou des lipides (glycolipides) et jouent un rôle très important dans leur fonctionnalisation et/ou leur adressage. La diversité structurale et fonctionnelle des glucides leur confère des propriétés physico-chimiques et biologiques extrêmement variées (**CHOUANA., 2017**).

I. 4 . 1. Généralités sur les polysaccharides

Les structures des polysaccharides sont majoritairement constituées d'hexoses et/ou de pentoses liés les uns aux autres par des liaisons O-glycosidiques. Il est distingué les homopolysaccharides constitués d'un seul type d'oses et les hétéropolysaccharides constitués de plusieurs types d'oses (**BENAOUN., 2017**). Ces polymères peuvent être linéaires ou ramifiés, avec un poids moléculaire de dizaines de milliers voire de millions (**YUE YUA et al., 2018**). Les polysaccharides peuvent être obtenus à partir d'un certain nombre de sources, y compris les algues, les plantes, les bactéries, les champignons, les insectes, les crustacés et les

animaux. Ils peuvent être ajustés structurellement grâce au génie génétique (**PRAJAPATI et al., 2014**).

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur structure, leur solubilité, leurs sources, leurs rôles biologiques et leurs applications (**CHOUANA., 2017**).

I. 4.2. Les Polysaccharides

Les polysaccharides, également nommés glycanes, sont des polymères condensés composés de longues chaînes d'unités monosaccharidiques. Leur hydrolyse complète en utilisant des acides ou des enzymes spécifiques, libère leurs monosaccharides ou oligosaccharides constitutifs. Les polysaccharides peuvent être linéaires (cellulose), substitués (galactomannanes), ou ramifiés (gomme arabique). Les polysaccharides ramifiés peuvent posséder différents degrés de ramification, c'est-à-dire peu branchés, avec des ramifications régulièrement ou irrégulièrement espacées, courtes ou longues (**Di Donato et al., 2015**). Leurs rôles principaux dans l'organisme est de stocker de l'énergie (tels que l'amidon ou le glycogène) ou de fournir un soutien structurel (cellulose ou chitine). Enfin, certains poly- et oligosaccharides peuvent être impliqués dans des processus de communication cellulaire (reconnaissance structurale, régulation de fonctions métaboliques, et mécanismes de défense). Ils sont très largement constitués d'hexoses et de pentoses. Le D-glucose est le monosaccharide prédominant dans les polysaccharides bien que le D-fructose, et le D-lactose, le D-xylose et le L-arabinose sont également présents. Certains dérivés de monosaccharides peuvent également être trouvés comme produits d'hydrolyse de polysaccharides naturels.

C'est le cas de la D-glucosamine, de la D-galactosamine, de l'acide D-glucuronique, de l'acide N-acétyl-neuraminique et de l'acide N-acétyl-muramique.

Dans un échantillon de polysaccharide, toutes les molécules n'ont pas la même masse moléculaire et il existe une masse moléculaire moyenne représentative de la distribution des masses moléculaires. Les polysaccharides sont des molécules de taille importante (100 à 500 nm) par rapport aux molécules organiques simples (quelques Å à 10 nm) (**Colonna et Thibault., 1986**). ce qui implique des masses moléculaires élevées, de l'ordre de 10⁶ g/mol. Si l'on ajoute à cela leur capacité à établir de nombreuses interactions inter- et intramoléculaires, les polysaccharides ont la capacité d'augmenter considérablement la viscosité des solutions qui les contiennent par rapport à celle du solvant pur. Ils sont largement utilisés comme texturant dans de nombreuses applications biomédicales,

pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques. Une large gamme de polysaccharides a déjà trouvé des applications dans la santé humaine. A titre d'exemple on peut citer le chitosane (le seul polysaccharide connu présentant un caractère cationique), la cellulose, les alginates, le dextrane, l'amidon, l'acide hyaluronique, l'héparine, le κ -carrageenan, les pectines et la gomme de guar (**Persin *et al.*, 2011**). En effet, la plupart de ces biopolymères sont non toxiques, biocompatibles, biodégradables et hydrosolubles à l'exception de la plupart des polysaccharides structurels tels que la chitine et la cellulose.

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur structure, leur solubilité, leurs sources, leurs rôles biologiques et leurs applications.

Leurs propriétés biologiques et physico-chimiques (**Tableau II**), seront fortement dépendantes de leurs structures à savoir le(s) type(s) de monosaccharide(s) constitutif(s), la présence de groupements non sucres chargés ou neutres et le type de liaisons glycosidiques.

Tableau II : Effets des composants des polysaccharides sur leurs propriétés physicochimiques (**Ramawat et Merillon., 2015**)

Caractéristique	Effet	Propriétés résultantes	Exemple
Oses neutres	Neutralité	Insolubilité	Cellulose
Oses acides	Caractère anionique	Solubilité, interactions ioniques	Xanthane, Alginate
Pyruvate	Caractère anionique	Interactions ioniques	Succinoglycane
Acétylation	Hydrophobicité, Solubilité	Diminue la capacité de gélification et les interactions ioniques	Alginates, Gellane
Chaînes latérales	nombreux effets	Solubilité	Xanthane, Gellane
Liaisons (1→3) et/ou (1→4)	Rigidité	Insolubilité	Curdlane, Cellulose
Liaisons (1→2) et/ou (1→6)	Flexibilité	Solubilité, stabilité	Dextranes

I. 4.3 . Classification des polysaccharides

Les polysaccharides peuvent être classés selon leur origine c'est-à-dire animale, végétale ou bactérienne, et selon leur structure. En fin selon leur nature soit de réserve ou de structure.

I. .4. 3.1 . Selon la structure

les polysaccharides peuvent être divisés en deux classes : les homopolysaccharides contenant un seul type de monosaccharide (**Tableau III**) et les hétéropolysaccharides, contenant deux ou plusieurs unités monosaccharidiques différentes. A titre d'exemple on peut citer les galactomannanes constitués de galactose et de mannose (**Izydorczyk et al., 2005**).

I. 4.3. 1. 1. Homopolysaccharides

Les homopolysaccharides (Homoglycane) résultant de la condensation d'un grand nombre de molécules d'un ose (**Bruneton., 2009**).Elles peuvent être classées en fonction de la nature de leur unité monosaccharides. Par exemple, les glucans sont des polymères de glucose et galactanes sont des polymères de galactan (**Voet et al., 1998**).

Tableau III : Principaux homopolysaccharides naturels (**Ramawat et Merillon., 2015**)

Unité de répétition		
Type	Polysaccharide	Liaison Glycosidique /Monosaccharide
Linaire	Amylose	α -(1→4)-Glc
	Cellulose	β -(1→4)-Glc
	Xylane	β -(1→4)-Xyl
	Inuline	β -(2→1)-Fru
	Levane	β -(2→6)-Fru
	Laminarine	β -(1→3)-Glc
	Chitine	β -(1→4)-Glc-N-Ac
	β -Glucane	β -(1→4, 1→3)-Glc
	Curdlane	β -(1→3)-Glc
Ramifié	Amylopectine	α -(1→4, 1→6)-Glc
	Dextrane	α -(1→2, 1→3, 1→4, 1→6)-Glc
	Levane	α -(2→1, 2→6)-Fru
	Pullulane	α -(1→6)-maltotriose
	Scleroglucane	α -(1→3, 1→6)-Glc
	Glycogene	α -(1→4, 1→6)-Glc
	Lentinane	β -(1→3, 1→6)-Glc
	Grifolane	β -(1→3, 1→6)-Glc
	Schizophyllane	β -(1→3, 1→6)-Glc

Les polysaccharides diffèrent les uns des autres dans leurs unités monosaccharidiques répétées (**Tableau IV**), la longueur de leurs chaînes et le degré de ramification. A l'exception des polysaccharides cycliques connus sous le nom de cyclodextrines, leurs chaînes ont une extrémité non réductrice et une extrémité réductrice. La formule générale des polysaccharides est $C_x(H_2O)_n$, où x est habituellement un nombre entre 200 et 2500 (**Zong et al., 2012**). Considérant que les motifs répétitifs dans le squelette du polymère sont souvent des monosaccharides à six atomes de carbone, la formule générale peut également être représentée par $(C_6H_{10}O_5)_n$ où $40 \leq n \leq 3000$ (**Zong et al., 2012**).

Tableau IV: Rôle biologiques de quelques homopolysides (**Guilloton et al., 2013**)

Homopolysaccharides	Unité osidique et enchaînement	Nombre d'unités	Rôle biologique
Amidon	1-4)- α -Glc unités environ avec des ramifications (1-6)- α -Glc toutes les trente.	>10000	Réserve de carbone et d'énergie chez les végétaux (composant de l'amidon).
Cellulose	(1-4)- β -Glc	>10000	Polysaccharides de structure des végétaux ; présents chez les tuniciers (invertébrés marins).
Glycogène	(1-4)- α -Glc avec des ramifications (1-6)- α -Glc toutes les dix unités environ.	>50000	Réserve de carbone et d'énergie chez les animaux, les champignons et les bactéries.
Chitine	(1-4)- β -GlcNAc	>10000	Constituant majeur de l'exosquelette des arthropodes et des parois cellulaires des champignons.
Xylane	(1-4)- β -Xyl (xylose).	>10000	Polysaccharides de structure des algues vertes.

I. 4.3.1.2. Hétéropolysaccharides

Les hétéropolysaccharides comportent, comme leur nom l'indique, plusieurs types d'oses et jouent un rôle important (Tableau V) dans le tissu de soutien et la matrice extracellulaire de l'organisme. Ils sont constitués de longues chaînes d'oses.

Tableau V: Rôle biologique de quelques hétéropolysaccharides (Guilloton et al., 2013).

Hétéropolysaccharide	Unité osidique et Enchaînement	Nombre d'unités	Rôle biologique
Acide hyaluronique	[-4)- β -GlcU-(1 \rightarrow 4)- β -GlcNAc-(1-]	>10000	Composant de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif ; constituant du cartilage
Inuline	Le (2 \rightarrow 1)- β -Fru ; le carbone 2 du fructose terminal est uni à une molécule de glucose α par liaison diosidique	<100	Polysaccharides de réserve des plantes à rhizome (ex : dahlia, iris, topinambour).
Pectin	(1 \rightarrow 4)- α -GalU partiellement estérifié (méthyl) ; présence de pentose et d'hexoses (<10%).	<1000	Groupe hétérogène de polysaccharides des parois des cellules végétale.
Héparine ,	(1 \rightarrow 4)- α -GlnIdo	Variable	Anticoagulant
Chondritine sulfaté	(1 \rightarrow 4)- β -GalNAc- +sulfate	>10000	Constituant de la matrice extracellulaire

I. 4.3.2. Selon les origines**I. 4.3.2.1. Polysaccharides animaux**

Hormis le glycogène et la chitine, les polysaccharides animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycanes et sont issus des protéoglycanes (association GAG protéine par une séquence saccharidique).

Ces polymères sont soit impliqués dans la structure des tissus conjonctifs (hyaluronanes, dermatanes sulfate et chondroïtines), soit dans des mécanismes de communications cellulaires *via* leurs propriétés fonctionnelles (héparines et héparanes sulfate) (DELATTRE., 2005).

I. 4.3.2.1.1. Glycogène

Le glycogène est un polysaccharide de réserve utilisé comme source de carbone et d'énergie par les animaux et les bactéries. Egalement connue sous le nom "d'amidon animal"(JEROME *et al.*, 2004).

La structure chimique du Glycogène est analogue à celle de l'amylopectine (**Figure 09**), mais sa masse moléculaire est généralement plus élevée, 1x10⁶ daltons ou plus, correspond à une molécule plus branchée (AUDIGIE *et al.*, 2002).

Le glycogène s'accumule temporairement comme réserve énergétique dans les muscles squelettiques et dans le foie (BLECHERBARDELETTI., 2014). Il trouve la structure ramifiée du glycogène à partir d'une structure linéaire. Il fixé sur uprotéine. Des ramifications apparaissent toutes les 4 à 10 résidus glucose fixées sur la chaîne linéaire par des liaisons α (1→6) (KAMOUN *et al.*, 2003).

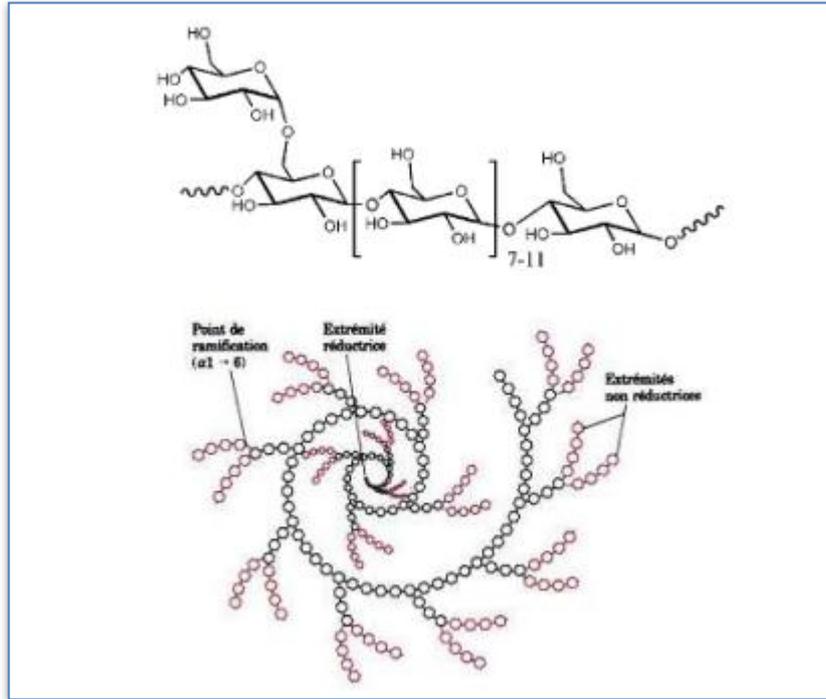


Figure 09: structure du glycogène (PAL et al., 2015)

I. 4.3. 2 .1 .2 . Héparine

L'héparine est un polysaccharide linéaire hautement sulfaté contenant principalement une unité disaccharidique répétée (α -D-glucosamine en alternance avec de l'acide α -L-iduronique) (Figure10) (SOUSA et al., 2015). Il est retrouvé dans des grains de sécrétion de cellules présentes à la surface vasculaire et abondante dans les poumons le foie et la peau (HENNEN., 2006).

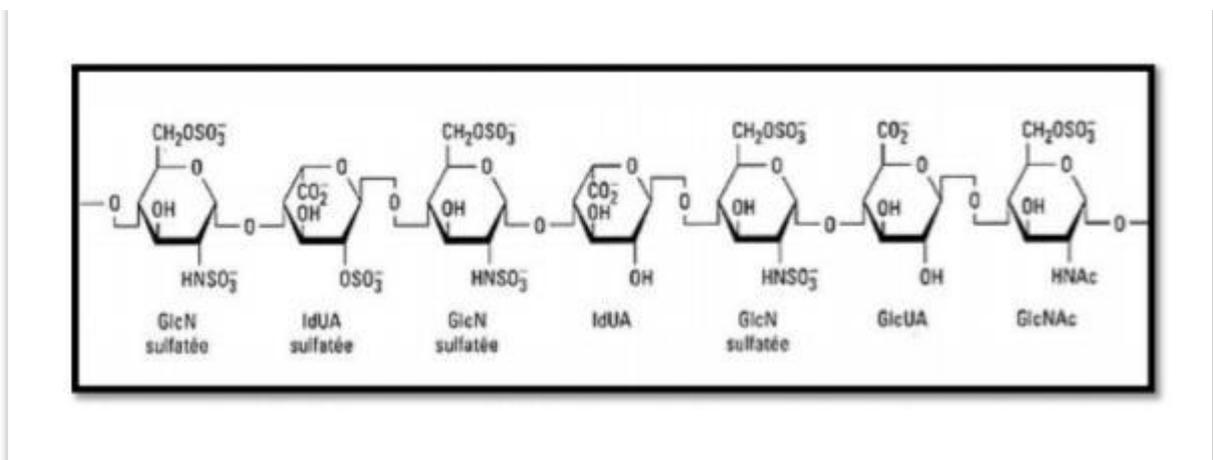


Figure 10: Structure de l'héparine (MALLEDAN., 2017)

I. 4.3.2.1.3. Kéراتane sulfate

Le kéراتane sulfate est présent dans le cartilage, la cornée et les disques base est la N-acétyl-lactosamine sulfatée sur la position 6 de la N-acetyl-glucosamine (**Figure 11**) (**BEAMONT., 2015**). Le kéراتane sulfate est le seul type qui ne porte pas un résidu acide tel que l'acide glucuronique ou de l'acide iduronique fréquemment observés dans le chondroïtine sulfate (**POMIN., 2015**).

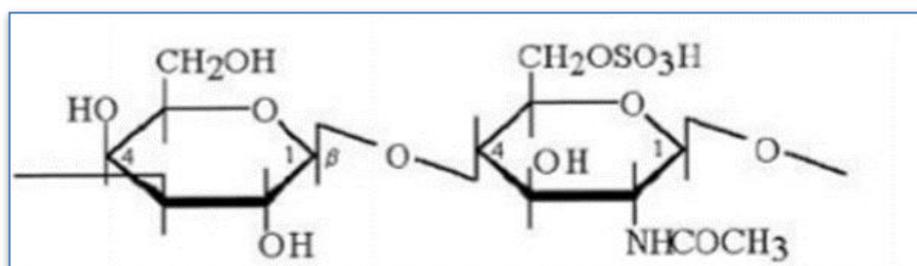


Figure 11: Structure du Kéراتane sulfate (**FRANCIS SUH et MATTHEW., 2000**)

I. 4.3.2.2. Polysaccharides végétaux

Les polysaccharides se trouvent principalement dans des plantes et des algues qui produisent plus de 90 % des polysaccharides totaux existant sur la terre. Sur la base de leur rôle biologique, ils peuvent être classés en polysaccharides structuraux, polysaccharides de réserves d'énergie et en exsudats et mucilages (**DI DONATO et al., 2015**).

I. 4.3.2.3. Polysaccharides structuraux

Il est indiqué la cellulose, les hémicelluloses et les pectines.

I. 4.3.2.3.A. Cellulose

La cellulose est un polymère linéaire et très ordonné, avec un poids moléculaire élevé de 106Da ou plus. Elle contient de résidus de D-glucose unis par des liaisons β (1 \rightarrow 4) (**Figure 12**) (**FLOCH et al., 2015**). Elle est insoluble dans la plupart des solvants. Sa structure cristalline en découlant des propriétés mécaniques de résistance, et un arrangement des chaînes de cellulose en fibrilles qui apporte également une grande flexibilité. L'ensemble de ces propriétés physico-chimiques et mécaniques, en plus de sa grande abondance et disponibilité, font de la cellulose l'un des polysaccharides le plus étudié. Elle est un des polysaccharides les plus exploités dans différents domaines tels que l'agroalimentaire,

l'industrie chimique, la pharmacie, les biocarburants et pour la production de matières plastiques telles que la cellophane (CHOUANA., 2017).

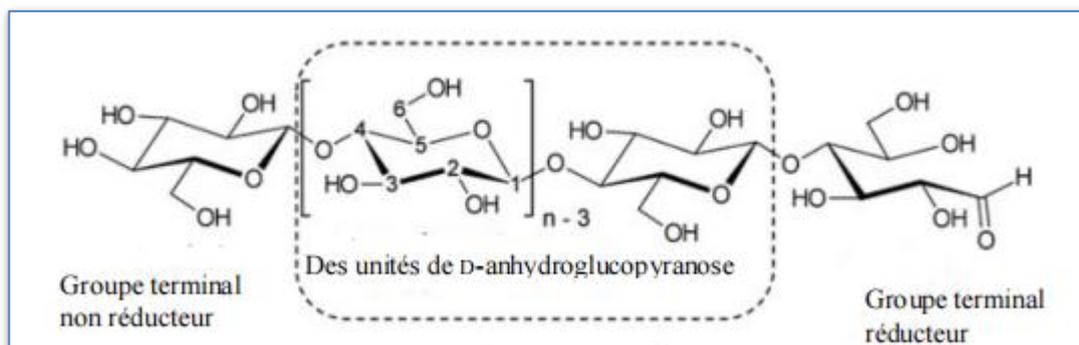


Figure 12: Structure de la cellulose ; n= degré de polymérisation (dp)
(Wondraczek et Heinze., 2015)

I. 4. 3.2 .3 .B. Hémicelluloses

Sont des polysaccharides constitués d'acides uroniques comme l'acide glucuronique et d'oses neutres tels que le xylose, le mannose, l'arabinose, le glucose et, le galactose. Ainsi, on les retrouve sous forme d'homopolymères (mannanes, glucanes, xylanes) ou d'hétéropolymères (xyloglucanes, arabinoxylanes, glucuronoxylanes...) (DELATTRE., 2005).

Les hémicelluloses présentent un haut degré de variabilité en fonction des espèces végétales, du type de tissus et des stades de maturité (ADLER., 2014; MOINE., 2005). Contrairement à la cellulose qui est un homopolysaccharide, les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides. Les hémicelluloses fonctionnent comme matériel de soutien dans les parois cellulaires. Ils sont facilement hydrolysés par les acides à leurs composants en monomères, composé de D-glucose, de D-mannose, de Dgalactose, est D-, de l'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique et de l'acide Dgalacturonique. En raison de leurs structures amorphes, les hémicelluloses ont une réactivité plus élevée que celle de la cellulose (ASHTER., 2018).

I. 4. 3 .2 .3 .C. Pectines

Les pectines sont une famille de polysaccharides complexes et l'un des composants majeurs des parois cellulaires primaires et cellulaires moyennes des plantes supérieures (CHEN et al., 2019). Elle est principalement composée de trois types, dont homogalacturonanes (HGA), rhamnogalacturonans I (RGI) et rhamnogalacturonans II (RGII)

I. 4. 3. 2 .4 .A. Amidon

Il peut représenter jusqu'à 30 ou 60 % du poids sec d'un tissu végétal. C'est la principale réserve glucidique des végétaux et d'aliment glucidique le plus important pour l'homme. Il est abondant dans les graines et les tubercules mais aussi largement répandu dans beaucoup de cellules végétales (AUDIGIE *et al.*, 2002).

L'hydrolyse acide totale, relativement longue, ne fournit que du glucose; l'hydrolyse enzymatique par une amylase conduit principalement au maltose. L'amidon est donc un polyglucose riche en liaisons (1→4) (AUDIGIE *et al.*, 2002).

Les granules d'amidon contiennent deux types de polymères. L'amylose et l'amylopectine, l'amylose est un polymère non ramifié de glucose dont les résidus, entre 200 et 500 par chaîne, sont associés par liaisons glucosidiques $\alpha(1\rightarrow4)$. L'amylopectine possède le même type de liaison mais présente, en plus, des ramifications, liées en position 1→6 tous les 25 ou 30 résidus (JEROME *et al.*, 2004).

L'amylopectine est une molécule fortement ramifiée de D-glucopyranosyl liés en $\alpha(1\rightarrow4)$ et leurs branchements liés par $\alpha(1\rightarrow6)$ (Figure 14). L'amylopectine est l'une des plus grandes molécules présente dans la nature, d'un poids moléculaire de l'ordre de 1.10^7 à 1.10^9 g. mol⁻¹. L'amidon est un excellent matériel pour les utilisations industrielles en raison de ses propriétés non toxiques, renouvelables et biodégradables (LIU *et al.*, 2015).

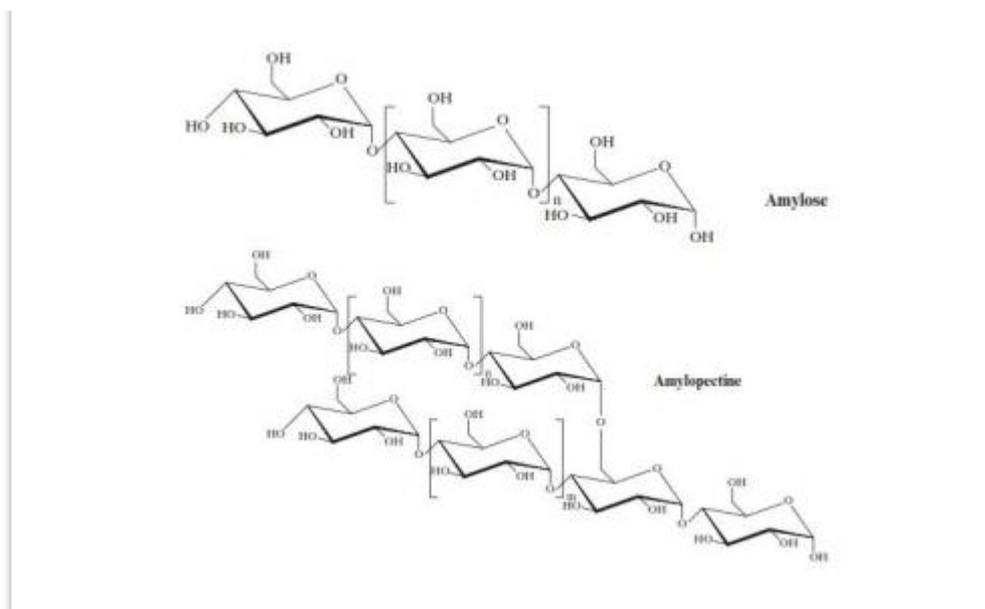


Figure 14: Structures de l'amylose et de l'amylopectine (Dufresne., 2015)

I. 4.3.2.4.B. Galactomannanes

Les galactomannanes sont des hétéropolysaccharides. Ils sont principalement composés de D-mannose comme chaînes principales avec D-galactose comme groupes latéraux (**Figure 15**). Les propriétés physicochimiques des galactomannanes sont influencées par le rapport entre le mannose et le galactose. Il est composé d'une longue chaîne polymérique qui lui permet de former une structure en forme de film dans l'eau (**WANG et al., 2001**). Les galactomannanes ne sont pas toxiques dans la nature, ce qui le rend admissible à la consommation humaine et à un usage intensif en application biomédicale (**PRAJAPATI et al., 2014 ; SHAHBUDDIN et al., 2013**). en raison de ses propriétés diverses telles que son poids moléculaire élevé, sa biocompatibilité, sa solubilité dans l'eau, son caractère non ionique et ses propriétés gélifiantes à des concentrations plus faible. Ces polymères sont largement utilisés dans les industries alimentaire, pharmaceutique, biomédicale, cosmétique, textile et papier (**ALBUQUERQUE et al.2014 ; PINHEIRO et al., 2011**).

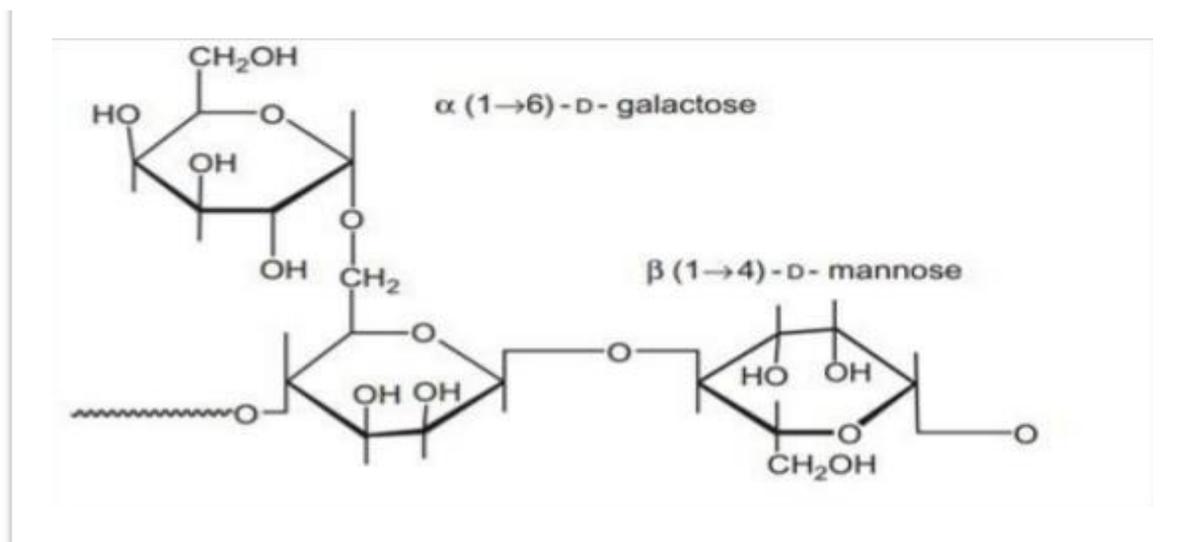


Figure 15 :structure de galactomannane (**GEETA et al.,2018**)

I. 4.3.2.4.C. Fructanes

Les fructanes sont appelés aussi fructosanes. Ils existent sous forme d'une large gamme d'oligo et de polysaccharides chez de nombreuses espèces des bactéries, des champignons et des plantes (**CHANDRASHEKARA et VENKATESH., 2016**). Les fructanes sont des polymères de fructose liés au résidu fructosyle ou glucosyle d'une molécule de saccharose. Les résidus fructosyles sont liés entre eux par des liaisons O-glycosidiques en β -(2 \rightarrow 1) ou en β -(2 \rightarrow 6) glycosidiques, consistant des unités D-fructofuranoses liées en β -(2 \rightarrow 1) telles que

l'inuline, des unités D-fructofuranoses liées en β -(2 \rightarrow 6) telles que les lévanes, ou des structures hautement ramifiées constituées à la fois des résidus D-fructofuranoses liées en β -(2 \rightarrow 1) et β -(2 \rightarrow 6) tels que les graminanes (**Figure 16**) (**CHANDRASHEKARA et VENKATESH., 2016**).

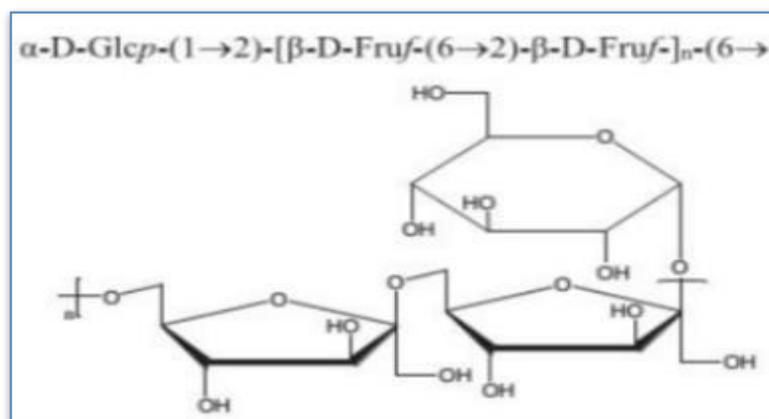


Figure 16: structure d'un fructane (**ZHANG et al.,2013**)

I. 4.3.2.5 .Gommes et mucilages

Les gommes et les mucilages, substances entre les quelles il n'y a pas de différence chimique précise, ont la propriété de gonfler au contact de l'eau et de former des masses gélatineuses ou des solutions colloïdales visqueuses. Les gommes sont fréquent chez les Rosaceae et les Fabaceae (gomme arabique, gomme adragante...), tandis que les mucilages sont obtenus principalement à partir des graines ou d'autres parties des plantes. Certains sont obtenus à partir d'algues, et à partir de microorganismes sélectionnés (**GUIGNARD., 2000; HASSAN et al., 2015**).

I. 5. Activités biologiques des polysaccharides

Des rapports récents ont révélé que les activités biologiques des polysaccharides sont étroitement liées à leur conformation en chaîne et leur structure, et compris la composition chimique, le poids moléculaire, et le degré de ramification. L'élucidation de la structure et la conformation est nécessaire afin de mieux comprendre les fonctions biologiques des polysaccharides (**FEDAIL et al., 2016 ; HE et al., 2017**).

I. 5.1. Activité immunomodulatrice

L'immunomodulation est définie comme l'action des substances qui peuvent stimuler, supprimer ou moduler les composantes de système immunitaire inné ou adaptatif, afin de prévenir ou de traiter les maladies (ZHAO et al., 2018). Les polysaccharides immunomodulateurs sont capables de stimuler simultanément les différentes composantes de système immunitaire. Ce qui leur confère différentes propriétés thérapeutiques, notamment des propriétés anti-tumorales et anti-inflammatoires (SANCHEZ., 2006). Au cours des dernières années, les activités immunomodulatrices de polysaccharides dérivés de plantes ont suscité une attention croissante (NIE et al., 2018). Un polysaccharide isolé à partir de la paroi du corps de *Sipunculus nudus* L, active les macrophages. Il a une activité immunostimulante puissante. Sa composition en monosaccharides est déterminée avec 28% de rhamnose, 16% de fucose et 56% de galactose. Sa masse moléculaire est de 350 k Da (ZHANG et DAI., 2011).

I. 5.2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est la réponse défensive vitale déclenchée par le système immunitaire (XUE et al., 2018). contre diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse (NDIAYE et al., 2006). Le processus inflammatoire comprend l'activation des phagocytes conduisant à la libération de médiateurs chimiques tels que les prostaglandines, le facteur de nécrose tumorale et les interleukines (SHEHATA et al., 2018). Les anti-inflammatoires sont classés parmi les agents qui inhibent ou réduisent l'inflammation (SAHLAN et al., 2018). Selon des études, les anti-inflammatoires peuvent être divisés en deux types, à savoir les anti-inflammatoires stéroïdiens et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (DOMIATI et al., 2016 ; HAWKEY et LANGMAN., 2003). Un effet anti-inflammatoire est observé in vivo chez les rats Wistar mâles nourris avec les polysaccharides d'*Astragalus* constitué d'une chaîne de type glucane et de masse moléculaire de 3,6.10⁴ Da vis-à-vis de la glomérulonéphrite induite par sérum albumine bovine cationique (CBSA). Le C-BSA augmente les niveaux de toutes les cytokines et réduit les concentrations de IL-2, IL-6 et de TNF- α dans le plasma. Pendant ce temps, l'APS a diminué de façon significative la protéinurie et les changements morphologiques induits par la C-BSA, ce qui indique que l'APS pourrait être utilisé comme agent thérapeutique pour la glomérulonéphrite. L'APS a également montré des effets thérapeutiques sur l'arthrite induite par adjuvant (AA) chez les rats Wistar mâles. IL a ainsi trouvé que le traitement avec l'APS peut réduire l'accumulation cellulaire, le gonflement des articulations et

les concentrations sériques de TNF-1 et IL-1 de manière dépendante chez les rats atteints d'arthrite induite par adjuvant (AA) (CHOUANA., 2017). L'activité anti-inflammatoire des polysaccharides est principalement due à l'inhibition de l'expression des chimiokines et des facteurs d'adhésion, ainsi qu'à l'activité d'enzymes clés dans le processus inflammatoire (CHEN *et al.*, 2016). Tous les fucoïdanes isolés ont montré une activité anti-inflammatoire, le traitement avec des polysaccharides sulfatés de *Cystoseira sedoides*, *Cystoseira compressa* et *Cystoseira crinita* (à la dose de 50 mg/kg) a inhibé la formation de l'œdème, 3h après l'administration de carraghénane qu'induit une inflammation. Les fucoïdanes peuvent avoir inhibé la libération ou les actions des divers médiateurs chimiques tels que l'histamine, les kinines et les prostanoides connus pour induire une inflammation aiguë induite par des agents phlogistiques (HADJ AMMAR *et al.*, 2015).

I. 5.3. Activité antioxydante

De nombreux modèles *in vitro* différents ont été introduits pour évaluer les activités antioxydantes afin d'évaluer un antioxydant qui serait utile pour le système alimentaire et biologique (Sanchez., 2002). Généralement, les méthodes de détermination des activités antioxydantes peuvent être classées en deux groupes principaux: les méthodes basées sur le transfert d'atomes d'hydrogène (HAT) et les méthodes basées sur le transfert d'électrons uniques (SET) en fonction de leurs mécanismes de réaction (Tan., 2015).

Les méthodes basées sur HAT mesurent généralement la capacité d'extinction des radicaux libres par le don d'hydrogène, c'est-à-dire la capacité d'absorption des radicaux oxygène (ORAC), le paramètre antioxydant total de piégeage des radicaux (TRAP), l'inhibition de l'oxydation induite des lipoprotéines de basse densité (LDL), le total essai de capacité de piégeage des oxyradicaux, et ainsi de suite. D'autre part, les méthodes basées sur SET détectent la capacité de transférer un électron pour réduire n'importe quel composé, y compris les métaux, les carbonyles et les radicaux, et entraînent un changement de couleur lorsque ce composé est réduit, comme la capacité antioxydante d'équivalence Trolox (TEAC) dosage du pouvoir antioxydant réducteur d'ions ferriques (FRAP) et piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). D'autres dosages, par exemple, le piégeage des radicaux superoxydes, le piégeage du peroxyde d'hydrogène et la trempe à l'oxygène singulet, évaluent la capacité de piégeage des oxydants. Récemment, les matériaux naturels se sont révélés être une source très prometteuse d'antioxydants, car un large éventail de constituants bioactifs qui en sont dérivés, tels que les flavonoïdes, les polyphénols, les stérols, les peptides

(Sun., 2004). les polysaccharides et autres (Liu., 2011). ont été signalés comme possédant de fortes capacités antioxydants. Le criblage de composés bioactifs à partir de matériaux naturels sur la base des potentiels antioxydants est largement adopté à l'heure actuelle (Ray., 2013).

I. 5.4 . Activité anticoagulante

Dans les thérapies anticoagulantes, héparine de synthèse ou d'origine animale et de bas poids moléculaire l'héparine sont les seuls sulfates de polysaccharides utilisés (Necas et Bartosikova., 2013). Ces composants ont des effets indésirables, tels que la thrombocytopénie, et, par conséquent, des ressources alternatives pour les agents anticoagulants sont actuellement recherchées. Polysaccharides d'algues ont été signalés comme ayant une activité similaire à l'héparine (Faggio et al., 2015). Dans cette étude, l'utilisation potentielle de polysaccharides bruts d'olive comme molécules bioactives a été évalué. A cet effet, nous avons testé in vitro l'activité anticoagulante de l'extrait d'olive variété *ségoise*, sur la valorisation du sang humain dosages du temps de prothrombine (PT) et du temps de thromboplastine partielle activée (APTT).), le temps de thrombine (TT).

I. 5.5 . Activité antibactérienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (CCE., 2001). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries. En général, bactérie GRAM - sont plus résistantes que les GRAM + grâce à la structure de leur membrane interne (OUI., 2015).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries (JURGEN et al., 2009).

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (HUANG et al., 2008).

Le test d'activité antibactérienne a confirmé les effets inhibiteurs de cinq *phtalides* sur *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium tuberculosis*, sans toutefois révéler de signification différence entre les composés (GUZMAN et al., 2013). L'activité bactérienne des extraits et des huiles essentielles des *phtalides* présents dans plantes *Apiaceae* variait principalement l'espèce végétale, les parties soumises à l'extraction et la technique de processus (PANNEK et al., 2018). Aussi, les extraits de *Pistacia atlantica Desf* se sont caractérisées par un effet antimicrobien sur la plupart des souches bactériennes (BENABDALLAH et al., 2015). Et les Arabinogalactane préviennent des infections microbiennes et de la déshydratation (PETERA., 2016).

Et concernant l'extrait d'*Ulva armoricana* avait une activité antibactérienne contre des agents pathogènes rencontrés dans les élevages. Cet extrait pourrait donc être utilisé dans l'alimentation des animaux d'élevage pour inhiber la croissance de certaines bactéries et stimuler la réponse immunitaire pour augmenter la résistance des animaux aux infections et réduire l'utilisation des antibiotiques (BERRI et al., 2015).

CHAPITRE II : Matériel et Méthodes

La méthodologie de travail porte sur le principe d'étude, le matériel d'étude, l'extraction d'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles et alcali solubles, la détermination de leur composition en protéines, en oses totaux, en oses neutres et les tests biologiques dont l'activité antioxydant, et l'activité anti-inflammatoire....

II. 1 . Principe d'étude

Les polysaccharides sont une sorte de polymères naturels, largement répandu chez les animaux, les plantes et les micro-organismes, qui exerce diverses activités biologiques, tel que antimorale, antivirale, antioxydant et immun régulatrice (CHEN et HUANG., 2018b).

Le présent travail vise à caractériser les polysaccharides issus des noyaux des olives de cultivars *sigoise* et à rechercher leurs activités biologiques.

II. 2 . Matériel d' étude

Le matériel d'étude est composé de matériel non biologique et de matériel biologique.

II. 2 . 1 .Matériel non biologique

le type des appareils utilisés au cours de l'expérimentation sont indiqués dans la figure(annexe) La nature, la masse molaire, la densité et la pureté des solvants et des réactifs utilisés au cours de ce travail sont consignées dans le tableau (annexe).

II. 2 .2 . Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé est constitué des noyaux des olives de cultivars *sigoise* de la région d'OUED SOUF.

Des souches bactériennes sont utilisées Il s'agit de *Staphylococcus*, et *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.



Photo 01:Noyaux des olives



Photo 02:Poudre des noyaux des olives

II. 3 . Méthodologie de travail

II. 3. 1 . Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Une quantité de 15g de poudre de noyau d'olive est placée dans une cartouche de soxhlet avec 300 ml d'éther de pétrole pendant 8h et 30 min comme temps d'immersion et 60 min comme temps de lavage L'opération est répétée 12 fois (**Besbes et al., 2004**).Après délipidation, la poudre de noyau d'olive est séchée à l'air puis, on lui ajoute 250 ml d'eau distillée et l'ensemble est placé au bain Marie pendant 2h à 80°C (**Hu et al., 2015**). avec une agitation constante. Après la macération, on procède à une centrifugation à 4000xg pendant 12mn et le surnageant est récupéré (**Chen et al., 2015**). Une deuxième extraction est faite suivant le même protocole puis les deux surnageants sont réunis. L'ajout 3 de volumes d'éthanol à 96 % pendant 24h et à une température de 4°C pour la précipitation des polysaccharides. Après centrifugation à 4000xg pendant 12min, le culot est récupéré, lavé trois fois par l'acétone puis lyophilisé (**Figure 17**) (**Zhao et al., Hu et al., 2015 ; Zhang et al., 2015 ; Mei et al .,2015**).

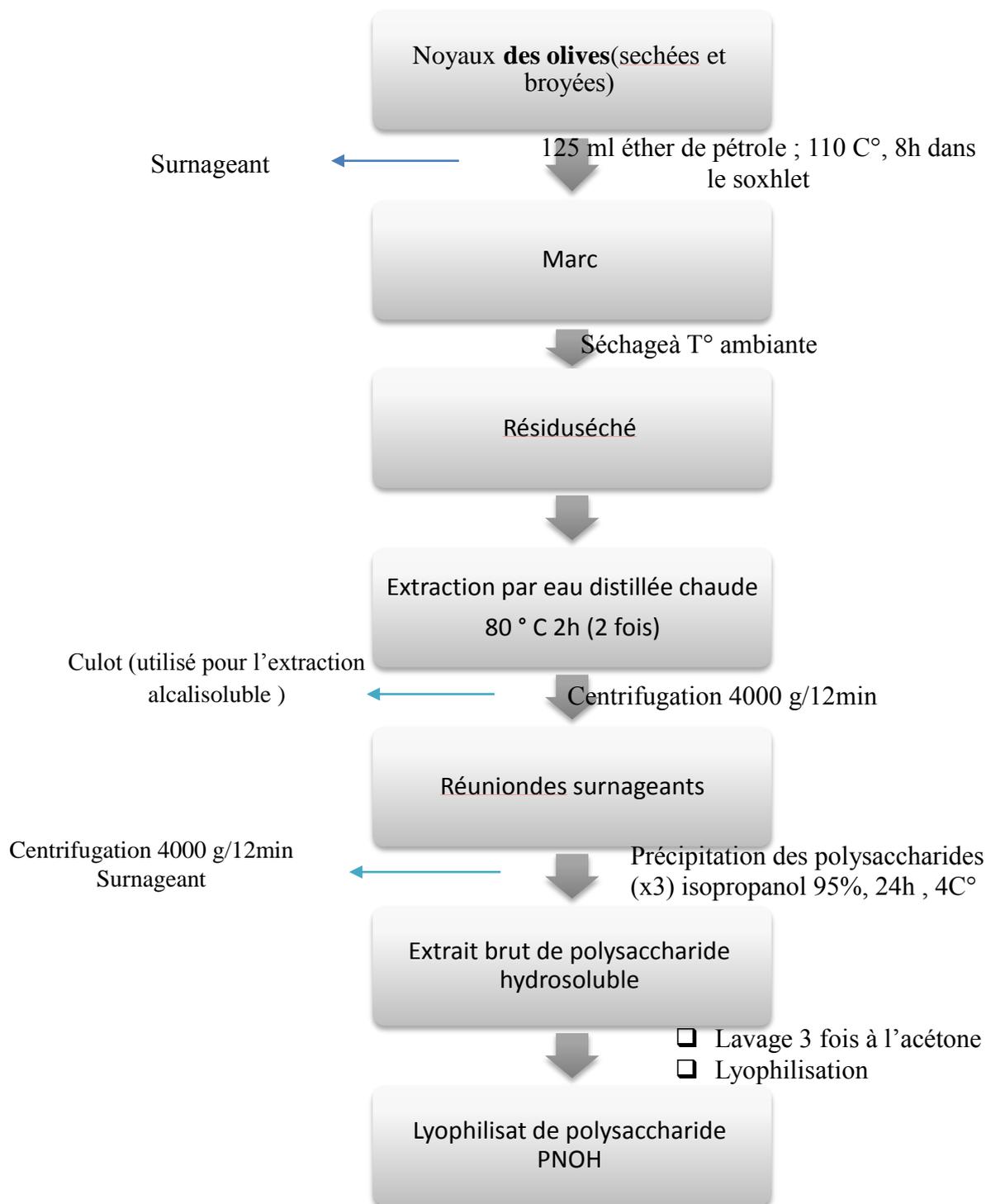


Figure 17: Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de noyaux des olives (Besbes *et al.*, 2004 ; Zhao *et al.*, ; Ghazala *et al.*, 2015 ; Chen *et al.*, 2015 ; Hu *et al.*, 2015). modifié

II. 3 .2. Extraction des polysaccharides alcalisolubles

L'extraction des polysaccharides alcalisolubles est réalisée par l'ajout de 300ml de solution de KOH (0,5et 4M) (Ding *et al.*, 2014 ; Pinto *et al.*, 2015) .au poudre des noyaux

des olives utilisées préalablement, le mélange est mis dans un bain marie à 80°C pendant 2h. Après une centrifugation à 4000g /12min (Chenet *al.*,2014). les surnageants sont récupérés et neutralisés par l'HCl, Une quantité de 03volume d'éthanol est ajouté aux surnageants pour obtenir deux fractions polysaccharidiques PNOA 0,5 et PNOA 4 (Ueno *et al.*, 1982). les deux extraits ont subi un lavage 03 fois par l'acétone, puis ils sont lyophilisés (Figure 18) (Huang *et al.*,2010).

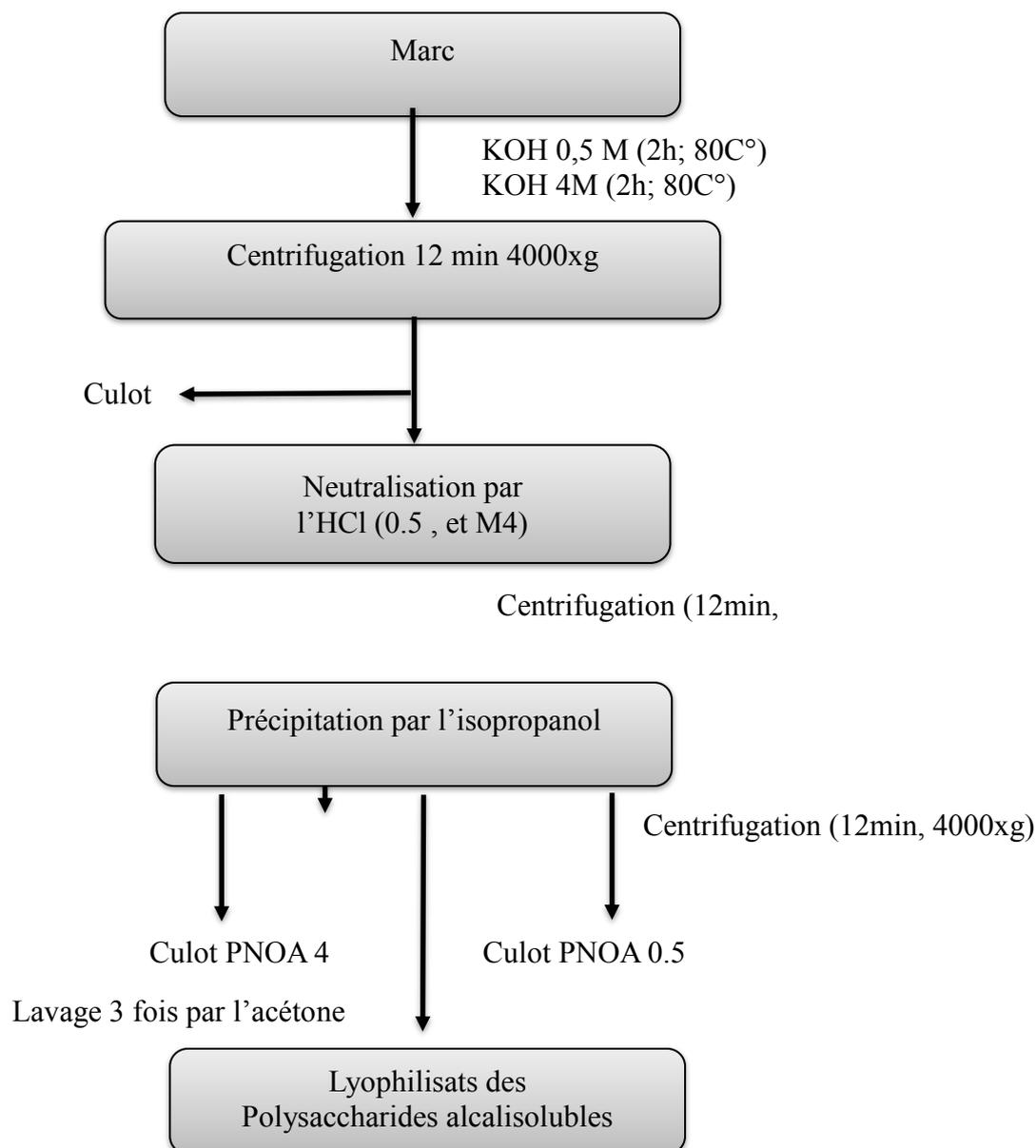


Figure 18: Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides alcalisolubles (0.5 et 4 M) à partir de noyaux des olives (Ding *et al.*, 2014 ; Pinto *et al.*, 2015 ; Chen *et al.*, 2014 ; HUANG *et al.*,2010 ; Ueno *et al.*, 1982 ;Huang *et al.*, 2010) Modifié

II. 4 . Extraction des polysaccharides

II.4 .1. Rendement d'extraction

Les techniques d'extraction si elles permettent de purifier et de concentrer les molécules extraites ne permettent pas d'en extraire la totalité, il faudra donc déterminer dans chaque condition expérimentale le rendement d'extraction et tenir compte de ce rendement dans le calcul des résultats d'analyse (**Gazengel et Orecchiono., 2013**).

Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{Poids des extraits bruts des polysaccharides (g)}}{\text{Poids total de la matière végétale (g)}} \times 100$$

II. 4 .2. Dosage des composants des extraits bruts des polysaccharides

Pour le dosage, des solutions de 0,1% sont préparées à partir des échantillons

polysaccharidiques hydro et alcalisolubles. Pour le dosage des oses (totaux, neutres,) une dilution de 1/10 est effectuée (0.01%), alors que les solutions de 0,1% sont utilisées pour le dosage des protéines. Les différentes solutions sont congelées pour les dosages ultérieurs (**Dubois., 1956**).

II. 4. 2. 1 .Dosage des oses totaux

II. 4.2. 1.1. Principe

En milieu sulfurique à chaud, les oses totaux produisent des dérivés du furfural (dérivés aldéhydiques du furane) qui se condensent avec le phénol pour donner un complexe de couleur orange-jaune (**Dubois., 1956**).

II. 4.2. 1.2 . Mode opératoire

Un volume de 200 µl de solution est mis dans des tubes à essai avec 200 µl de phénol à 5% (5g de phénol sont dissout dans 100ml d'eau distillée). Puis, 1 ml d'acide sulfurique est ajouté rapidement et le mélange est agité immédiatement (**Dubois et al., 1956**). Les tubes sont placés au bain Marie à 100°C pendant 5mn puis refroidis à l'obscurité pendant 30min. L'absorbance est mesurée à 492nm. Les teneurs sont déterminées en référence à une gamme étalon de glucose (**Brudieux., 2007**).

II. 4.2.1.3. Préparation de la courbe d'étalonnage

Tableau VI: Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose.

	Blanc	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
Glucose (0,01%) μl	0	20	40	100	160	200
H2O (μl)	200	160	100	40	20	0
Phénol (5%) (μl)	200	200	200	200	200	200
A. Sulfurique (ml)	1	1	1	1	1	1

II. 4.2.2. Dosage des oses neutres

II. 4.2.2.1. Principe

En milieu acide et à chaud, les oses neutres produisent des dérivés du furfural qui se condensent avec le résorcinol pour donner un complexe de couleur brun jaune (**Dubois., 1954**).

II. 4.2.2.2. Mode opératoire

Une solution de résorcinol à 6 mg/ml est préparée par l'eau distillée pour doser les oses neutres. La solution est stable pendant un mois lorsqu'elle est conservée à 4 °C à l'abri de la lumière (**Monsigny et al., 1988**).

Dans des tubes à essai 200 μl des solutions à doser sont mélangés avec 200 μl de résorcinol et 1 ml d'acide sulfurique, puis les tubes sont agités et chauffés dans un bain Marie à 90°C pendant 30 mn, ensuite ils sont refroidis dans un bain de glace et à l'obscurité pendant 30 mn. La densité optique des solutions est déterminée à 480 nm (**Monsigny et al., 1988**).

II.4.2.2.3. Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose

Tableau VII : Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose.

	Blanc	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
Glucose (0,01%) µl	0	20	40	100	160	200
H₂O(µl)	200	180	160	100	40	0
Résorcinol (µl)	200	200	200	200	200	200
A. sulfurique (ml)	1	1	1	1	1	1

II. 4 .2.3 . Dosage des protéines

II. 4 .2.3 .1 . Méthode de Bradford (1976)

II. 4 .2 .3 .2 . Principe

Cette méthode est basée sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu acide, ce colorant s'adsorbe (fixation par des liaisons non covalentes) sur les protéines, et forme un complexe coloré présentant un maximum d'absorption à 595nm. Le changement de colorations se mesure facilement par spectrophotométrie (**Gavrilovic et al., 1996**).

II. 4 .2.3 .3 . Préparation des réactifs

✓ Bleu de Coomassie : 25 ml d'éthanol 95% est mis dans une éprouvette avec 50mg du bleu de Coomassie (poudre) (ajouter petit à petit), une agitation de mélange pendant 2h et Filtré avec un papier Whatman. L'addition de 50ml d'acide phosphorique de 85%, et fait la dilution par l'eau distillée jusqu'à 500ml. Le stockage de mélange dans une bouteille ambre à la température ambiante (Stable pendant 2 mois).

✓ La solution étalon est préparée par la dissolution de 0,01g de BSA dans 100ml d'eau distillée.

II. 4 .2 .3 .4 . Mode opératoire

200 µl des solutions à doser sont mélangés avec 2ml de la solution de bleu de Coomassie, la lecture de la densité optique se fait dans un intervalle qui ne dépasse pas une heure à une longueur d'onde de 595 nm (**Bradford., 1976**).

II. 5. Activités biologiques des polysaccharides

II. 5.1 . Evaluation in vitro de l'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des polysaccharides issus des noyaux de datte est évaluée in vitro vis-à-vis de la voie endogène sur un pool des plasmas normaux déplaquetés et à l'aide de test global chronométrique le temps du céphaline-kaolin activé (TCK).

Le pool plasmatique pauvre en plaquette est un mélange de plasmas de 10jeunes adultes comme volontaires sains non traités, dont les TCK sont normaux et comparables. Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang.

Le sang est ensuite centrifugé pendant 10mn à 3000rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le plasma standard obtenu est conservé à basse température (- 10C°) jusqu'à son utilisation (**Athukorala et al., 2007**).

II. 5 .1 .1 . Temps de céphaline kaolin activé (TCK)

II. 5 .1 .1 .1 . Principe

Cet examen consiste à activer la voie intrinsèque de la coagulation par différentes substances : le Kaolin, ou plus souvent la silice micronisée ou l'acide ellagique. Dans ce test, la céphaline est un phospholipide qui remplace les plaquettes.

Le TCK n'est donc pas modifié en cas de thrombopénie ou de thrombopathie. Chez l'adulte, la valeur normale moyenne du TCK est de 30 à 34shabituellement. Un laboratoire doit donc toujours rendre un temps témoin pour permettre l'interprétation du test.

Pour que le Temps de Céphaline Kaolin soit normal, il faut que les facteurs de coagulation de la voie intrinsèque soient normaux : facteur du système contact (facteur XII et XI, kininogène de haut poids moléculaire, prékallicréine), complexe anti hémophilique (facteur IX, facteur VIII), complexe de la prothrombinase (facteur X, facteur V) prothrombine (facteur II), fibrinogène (facteur I) à l'exception des plaquettes (**Athukorala et al., 2007**). La mesure du TCK est utilisée principalement pour la surveillance des traitements par l'héparine.

Le réactif BIO CK permet la recalcification du plasma en présence d'une quantité standardisée de céphaline (substitut des plaquettes et d'un activateur du facteur XII(Kaolin). Le kaolin présente le double avantage d'une lecture aisée et d'un temps de lecture plus court (**Athukorala et al.,2007**).

II.5 .1 .1 .2 . Mode opératoire

La procédure suivie dans la réalisation de ce test est celle pratiquée par ATHUKORALA et ses collaborateurs avec modification. Une quantité de 10µl d'extrait polysaccharidique de 0,1% est ajoutée à 90µl de plasma normal. Le mélange est incubé à 37°C pendant 10mn, puis on ajoute 100µl du réactif céphaline kaolin, on laisse le mélange 3min suivi d'une addition de 100 µl de CaCl₂ pour une recalcification du plasma. Ainsi le temps d'incubation est mesuré à l'aide d'un coagulomètre de type biomérieux, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (**Athukorala et al., 2007**).

II. 5.2 . Activité antioxydant

II. 5.2.1 . Evaluation de pouvoir antioxydant

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits des plantes. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons utilisés différents tests chimiques à savoir ; le test Ferric Reducing /Antioxydant Power assay (FRAP) qui permet de mesurer le pouvoir de la réduction des ions de fer, et l'effet scavenger sur le radical 2,2diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

II. 5.2.1.1 . Effet scavenger du radical DPPH

Parmi les tests qui mesurent la capacité de balayage radicalaire, le test 2,2diphényl-1-picrylhydrazyle DPPH (**BRAND-WILLIAMS et al., 1995**). est l'un des plus anciens et le plus utilisés. Il est rapide, sensible et économique (MUSA et al., 2016). Le test DPPH est utilisées pour la détermination de l'activité antioxydant de extraits alimentaires et composés simples (**FADDA et al., 2014**).

II. 5.2.1.1.1 . Principe

La méthode de piégeage du radical libre DPPH est largement utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits végétaux. Les antioxydants réduisent le radical DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyle) ayant une couleur violette en un composé jaun (2,2diphényl-1-picrylhydrazine) (**Figure19**).

Dans cette technique, l'effet antioxydant peut être facilement évalué en suivant la diminution de l'absorption de DPPH et la réaction est contrôlée à 517 nm. (**BRANDWILLIAMS et al., 1995 ; MUSA et al., 2016 ; KRIMAT et al., 2017**).

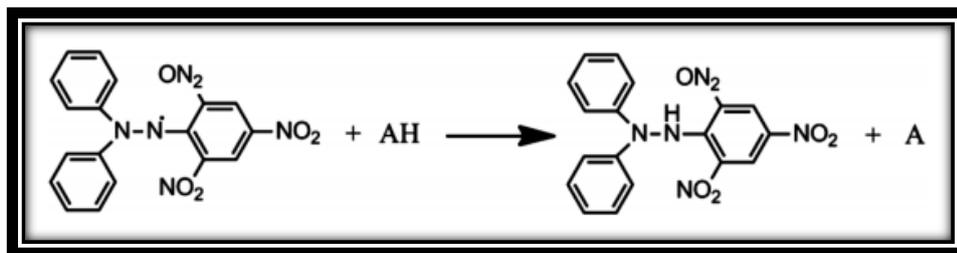


Figure 19: la réduction de test DPPH (SIRIVIBULKOVIT *et al.*, 2018)

II. 5.2 .1 .1 .2 . Mode opératoire

La solution de DPPH• est préparée par l'ajout de 25 mg de radical DPPH• dans

80ml de méthanol à 90%. Le volume est ajusté à 100ml. La solution est préparée à l'avance, au moins 1 à 2 heures car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 4 à 5 jours à - 5°C et à l'obscurité (Afshari *et al.*, 2015).

La solution mère de DPPH concentré est diluée dans le méthanol jusqu'à l'obtention d'une densité optique proche de 1 à nm 515 (Schaich *et al.*, 2015).

- Les extraits à tester

Un volume de 100µl de la solution à tester à 0,1% est mélangé avec 3,9ml de la solution du DPPH• dans des tubes à essai et à l'obscurité et à la température ambiante (POPOVICI *et al.*, 2009). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, la densité optique est lue à 517nm (Thaipong *et al.*, 2006).

- Courbe d'étalonnage

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard l'ascorbate ou vitamine C. C'est un antioxydant hydrosoluble majeur, réagit rapidement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, ou encore avec le peroxyde d'hydrogène. Elle est indispensable par sa capacité à réduire d'autres antioxydants oxydés comme la vitamine E ou les caroténoïdes (Pourrut, 2008).

On mélange 100µl des extraits polysaccharidiques ou contrôle positif avec 3,9 ml de solution DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) puis agité vigoureusement.

Après l'incubation à l'obscurité pendant min, la densité optique est mesurée à 515 nm. Le méthanol est utilisé comme un blanc (Afshari *et al.*, 2015).

- Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%)

$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$ (Schaich et al., 2015).

II. 5 .2 .2 . Test de réduction du fer (FRAP : Ferric reducing antioxidant power)

II. 5 .2 .2 .1 . Principe

La réduction du fer des extraits de dattes a été déterminée selon la méthode de OYAIZU (1986). La méthode est basée sur le changement de couleur de l'échantillon du vert au bleu selon la puissance de réduction de chaque composé. La présence des réducteurs (antioxydants) provoque la réduction du complexe Fe³⁺/ferricyanure (forme ferrique) en forme ferreux. L'absorbance est mesurée à 700 nm (FERREIRA et al., 2007).

II.5 .2 .2 .2 . Mode opératoire

Un (1) ml de l'extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium (1% dans l'eau). Le mélange est incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloroacétique (10%) sont ajoutés. Le mélange est centrifugé à 650 tpm pendant 10 minutes. 2,5 ml de surnageant sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure de fer (0,1%). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 700 nm (OUCHEMOUKH et al., 2012; NABAVI et al., 2012). L'acide ascorbique est utilisé comme étalon et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide ascorbique/100g d'olive (Figure 20).

II. 5.2.3. Test de blanchissement du β -carotène

II. 5.2. 3.1. Principe

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. Dans ce test la capacité antioxydant est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Laguerre et al., 2007).

II. 5 .2.3.2. Mode opératoire

Une quantité de 2 mg de β -carotène est solubilisée dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution dans un bécher contenant préalablement 200 mg de Tween 40 et 20 mg d'acide linoléique. Après évaporation, un volume de 50 ml d'eau saturée en oxygène est ajouté. Dans des tubes, 4ml de l'émulsion β -carotène/acide linoléique sont additionnée à 100 μ l de la solution de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse BHT à différentes concentrations. Les tubes sont placés dans un bain marie à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à t = 120 min. Le control négatif est constitué par 100 μ l d'éthanol au lieu de l'extrait où de l'antioxydant de synthèse. Tous les essais sont répétés trois fois (**Koleva et al., 2002**).

L'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à t = 0 min contre le blanc contenant l'émulsion sans β -carotène seulement pour le contrôle négative.

L'activité antioxydant (%) des extraits est évaluée en termes de blanchiment de β -carotène en employant la formule suivante :

$$\% = ((AA(120) - Ac(120)) / (Ac(0) - A(120))) \times 100$$

AA (120): représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min.

AC(0): représente l'absorbance du contrôle à 120 min.

AC(120) : représente l'absorbance du contrôle à 0 mi

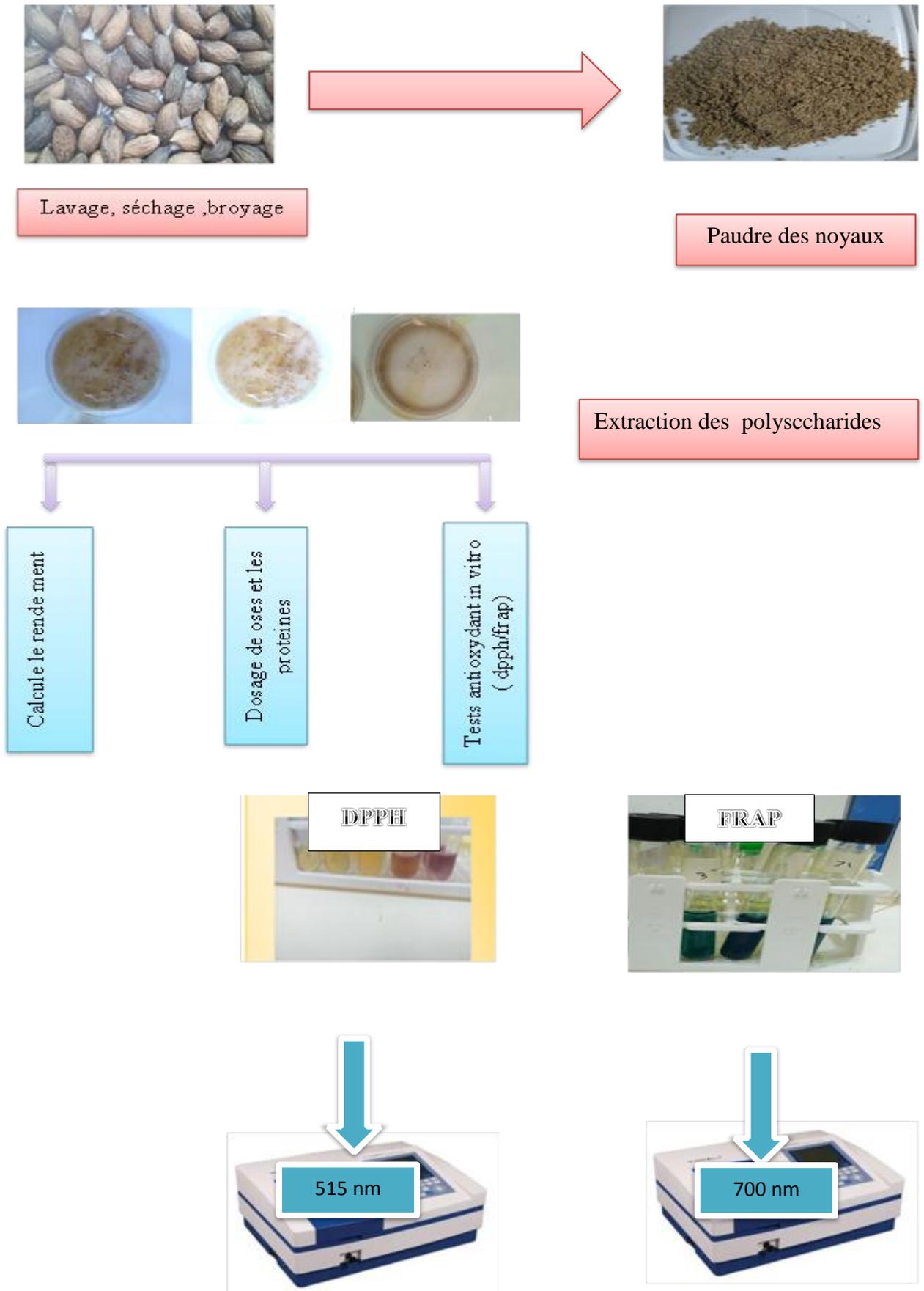


Figure 20 : Plan expérimental d'étude

II. 5.3 . Activité anti-inflammatoire

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

II. 5.3.1 . Activité anti-inflammatoire in vitro

L'activité anti-inflammatoire in vitro d'extrait polysaccharidique.

Est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (CHANDRA *et al.*, 2012).

II. 5.3.1.1 . Principe

Le principe de cette technique est basé sur la capacité d'extrait à empêcher la dénaturation

Thermique de protéine (CHANDRA *et al.*, 2012).

II. 5.3.1.2 . Mode opératoire

L'inhibition de la dénaturation des protéines a été déterminée selon la méthode décrite par Gunathilake (Gunathilake *et al.*, 2018).

Le mélange réactionnel contient 2,5 ml du PBS (pH 6.4), 450 µl de solution de BSA 1% et 50 µl de l'extrait à différentes concentrations (100, 250, 500 µg/ml). Après une incubation de 15 min à température ambiante, le mélange est réincubé à 70 °C pendant 5 min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance a été lue à 600 nm. Un blanc a été préparé dans les mêmes conditions et le diclofénac de sodium a été utilisé comme traitement de référence.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle (blanc).

At : absorbance de l'échantillon (test).

II. 5.4 . anti hémolytique

II. 5.4.1. Méthode de dosage

Selon Abirami et al 2014 ; Le sang est récupéré sur anticoagulant EDTA ensuite le tube est centrifugé à 3000 tr/mn pendant 10 min. 1ml du culot ajoute a 1ml de H2O puis il est centrifugé à 3000 tr/mn pendant 10 min 2 fois. 40µl de surnagent ajoute a 2ml d'extrait, et laisser le mélange 05 min en 37° C après ajouter 40µl de solution peroxyde d'hydrogène H2O2(30 mmol), 40µl de solution fecl3 (80 mmol), 20µl solution acide ascorbique (50mmol), le mélange place dans l'étuve a température 37°C, après incubation 60 min le mélange est

centrifugé à 700 tr/mn pendant 10 min. La longueur d'onde du spectrophotomètre est fixe à 540 nm cette opératoire répète avec déférente concentration d'extrait Les résultats du test d'hémolyse sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la lyse des globules rouge.

La pouvoir d'inhibition a été calculé à partir la relation suivante :

$$\% \text{ Hémolyse} = [\text{Abs contrôle} / \text{Abs échantillon}] * 100$$

Abs contrôle : Absorbance de milieu réactionnelle en absence de l'extrait.

Abs échantillon: Absorbance de milieu réactionnelle en présence de l'extrait.

II. 5. 5 . Activité antibactérienne

II. 5 .5 .1 . Principe du test

Les bactéries en culture sont mises en présence d'un ou plusieurs antibiotiques Les conséquences de la présence d'une molécule active sur le développement bactérien sont directement observables via la formation d'halos d'inhibition autour du dépôt de l'échantillon testé Ces halos indiquent la présence de molécules actives dans l'extrait étudié, parfois grâce à la présence d'une molécule antibiotique. Un antibiotique est une substance organique ayant pour action spécifique de détruire (activité bactéricide) ou fortement inhiber la croissance de micro-organismes (activité bactériostatique). Ces molécules sont soit d'origine naturelle (spécifiquement élaborées par des microorganismes ou présentes dans des organismes végétaux), soit synthétisées ou hémi synthétisées (la majorité des antibiotiques actuels) (**Pierre,2010**).

II.5 5 .2 . Mode Opérateur

On utilise le Mueller–Hinton comme un milieu de culture des souches bactériennes. (Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 27923, Pseudomonas aeruginosa ATCC 25853).

- Couler dans une boîte de Pétri un milieu de MH 3,8 %. Laisser sécher.
- Préparer une suspension bactérienne dans du tampon phosphate à une DO comprise entre 0,10 et 0,12 ($\lambda = 600\text{nm}$ à partir d'une culture d'environ 24 h (en phase stationnaire).
- Inonder le milieu MH 3,8 % par la suspension bactérienne diluée (2-3 ml) et retirer l'excédent. Laisser sécher 30 min (**Pierre, 2010**).

- Placer les disques en papier de Wattman N° 3 dans lesquels seront inoculées les différentes solutions: 30 µL de l'eau distillé (témoin négatif), à tester un échantillon de concentration 1mg/ml Les diamètres des halos d'inhibition (mm) sont mesurés après 24h d'incubation à 37 °C (**Krichen et al.,2014**).

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Les principaux résultats obtenus des différents tests biologiques des extraits bruts de polysaccharides alcalisolubles de la variété *sigoise* sont développés dans ce chapitre.

III.1. Contenu des noyaux d'olives en polysaccharides

III.1.1. Rendement et caractéristiques des polysaccharides

Ce tableau montre les propriétés des extraits bruts de polysaccharides alcalisolubles et lipides de la variété *sigoise*.

Tableau VIII : Caractéristiques des polysaccharides alcalisolubles et lipides de la variété *sigoise*

caractéristiques	Lipide	PNOA0.5M	PNOA4M.
poinds(g)	1.62	2.13	1.81
Aspect	Solide	Solide	Solide
Couleur	/	Marron claire	Marron foncé
Solubilité	/	Méthanol	Méthanol
Rendement(%)	5.58	7.34	6.24

Le rendement total de la masse lipidique de noyaux d'Olive variété *sigoise* est de 5.58%. Ce rendement lipidique est plus grand par apport des Gousses de *Astragalus gombo* (0.4%) et des Bulbes de *Cistancheviolacea* (0.6%) Mais proche pour le Graines d'A *Gombo* (3.5%) (MEHELLOU et al., 2016).

Les rendements massiques des extraits de polysaccharides par rapport à la matière sèche sont de 0.17%, dans la fraction PNOA0.5 (7.34%) cette résultat faible par rapport des résultat de bulbes *cistancheviolacea* (14.1%) et plus élève par rapport des résultat de gousses *Astragalusgombo* (0.32%),et dans les fraction PNOA4 (6.24%) cette résultat élève par rapport des résultat de gousses *Astragalus gombo* (3.60%) et inferieur par rapportent des résultat bulbes *cistancheviolacea* (8.40%) (MEHELLOU et al., 2016).

III.1.2. Composition des extraits bruts des polysaccharides

Après la série de dosage colorimétriques, les concentrations d'oses totaux, d'oses neutres, d'oses acides et des protéines sont évaluées (tableaux).

Tableau IX: Contenu des extraits de polysaccharide alcalisolubles

	PNOA0.5M	PNOA4M.
oses totaux%	1.36	1.42
oses neutres%	0.96	1.11
oses acides%	0.40	0.31
protéines%	2.88	3.09

La fraction de polysaccharides alcalisolubles douce à 0.5M KOH(PNOA0.5), il est noté 1.36% d'oses totaux, 0.96 % d'oses neutres, 0.40% d'oses acides et 2.88% de protéines. Pour la fraction de polysaccharides alcalisolubles forte à 4M KOH renferme 1.42% d'oses totaux, 1.11 % d'oses neutres, 0.31% d'oses acides et 3.09% de protéines. Il est remarqué que la fraction polysaccharidique alcalisolubles 0.5M et 4M présentent des pourcentages très faibles des d'oses neutres et d'oses acides et protéines.

Cette résultat est discutée par les facteurs et les paramètres qui peuvent influencer sur le taux des compositions brutes d'un extrait, à savoir la température d'extraction, la quantité du solvant utilisé par rapport à la matière première, le type de polysaccharide et la procédure d'extraction comme la décoction et la macération (CHAKOU *et al.*, 2017).

III.3. Activités biologique

III.3.1. Activité anticoagulante

La figure (21) présente l'évaluation de la capacité anticoagulante des extraits Polysaccharidiques des noyaux de d'olive variété *sigoise* comparée au contrôle positif (héparine) avec le test de temps de céphaline activée (TCA).

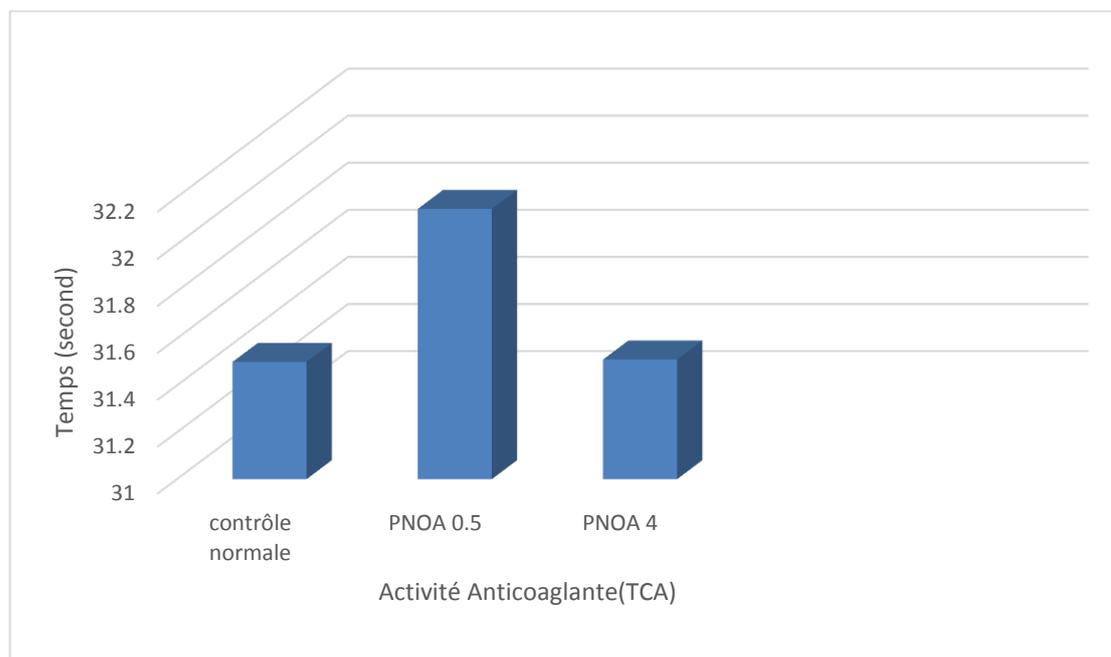


Figure 21 : Temps de céphaline activée (TCA) des deux extraits polysaccharidiques de noyaux d'olive variété *sigoise* à une concentration d'On10 μ g/ μ l

Les temps de TCA notés pour les fractions testées sont de 32.15s (PNOA0.5), 31.51s (PNOA4) cette résultat proche pour les contrôle normale 31.5s et plus faible Pour les Héparine 600s. Alors, les fractions de polysaccharides bruts ne sont pas douées d'activités anticoagulantes.

III.3.2. Activité Antioxydant

Dans notre étude trois tests différents ont utilisé pour déterminer le pouvoir antioxydant de l'extrait brut des noyaux d'olive variété *sigoise*: le test de piégeage du radical DPPH, le test de FRAP (Ferric Reducing Power) et le test de blanchissement du β -carotène.

III.3.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

Les radicaux libres sont des substances qui ont des électrons non appariés dans leur structure et se produisent largement dans la nature. En raison de leur instabilité, les radicaux libres peuvent causer des problèmes de santé nocifs induisant des dommages aux cellules et altérant l'ADN, les protéines et les membranes lipidique, ce qui peut entraîner plusieurs maladies telles que le cancer, l'athérosclérose et le vieillissement (**Figure 22**) (HAN *et al.*, 2016).

Le modèle de piégeage du radical DPPH stable est une méthode largement utilisée pour évaluer la capacité de piégeage des radicaux libres des composés naturels (HU *et al.*, 2013). En interagissant avec le DPPH, les antioxydants transfèrent soit un électron, soit un atome d'hydrogène vers le radical DPPH en neutralisant son caractère radicalaire (YIN *et al.*, 2010).

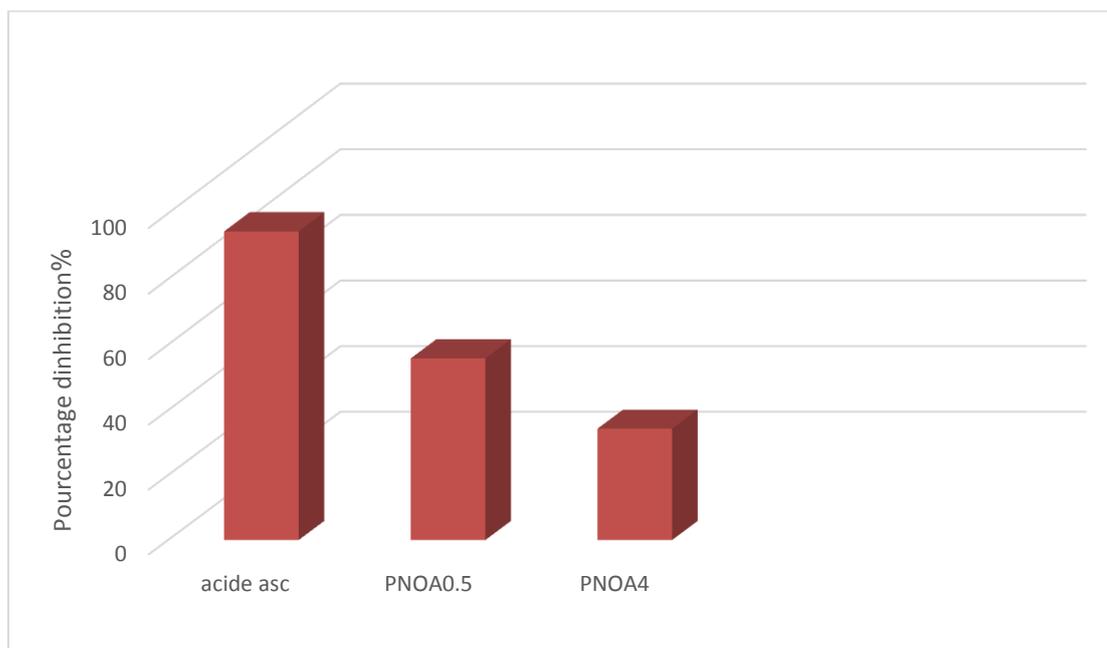


Figure 22: Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration 100 µg/ml par test DPPH

La figure présente les résultats d'activité antioxydant des trois extraits. On remarque que toutes les fractions ont un pouvoir d'inhibition des radicaux libres variables. Pour le DPPH, les extraits ont des pouvoirs d'inhibition 55,8% pour l'extrait de polysaccharides alcalisolubles de 0,5M, et 34,3% pour l'extrait de polysaccharides alcalisolubles de 4M.

Selon Lecheb (2008), les huiles des noyaux des dattes de variété *Mech-Deglat* à une activité anti radicalaire (DPPH) et avec un taux d'inhibition de 93%, par contre cette activité moins de 56 % pour les trois extraits bruts polysaccharidiques de noyaux des d'olive, et selon Cao(2013), les extrait polysaccharidique de thé verte à une forte activité à cause de présence de une quantité importante de protéines pour fixer les radicaux des DPPH, mais à nos extraits il ya les protéines à moyenne dose et varié entre 2.88 et 3.09%.

III.3.2.2. Test de réduction du fer (FRAP)

De manière générale, dans le but d'évaluer le pouvoir antioxydant de composés naturels tels que les polysaccharides, des mesures de pouvoir réducteur sont réalisées. Une molécule antioxydant permet la réduction de l'ion Fe^{3+} issu du ferricyanide de potassium en ion Fe^{2+} . Par conséquent, en ajoutant du $FeCl_3$, un complexe de couleur bleue spécifique est produit (**Figure 23**) (PETERA., 2016).

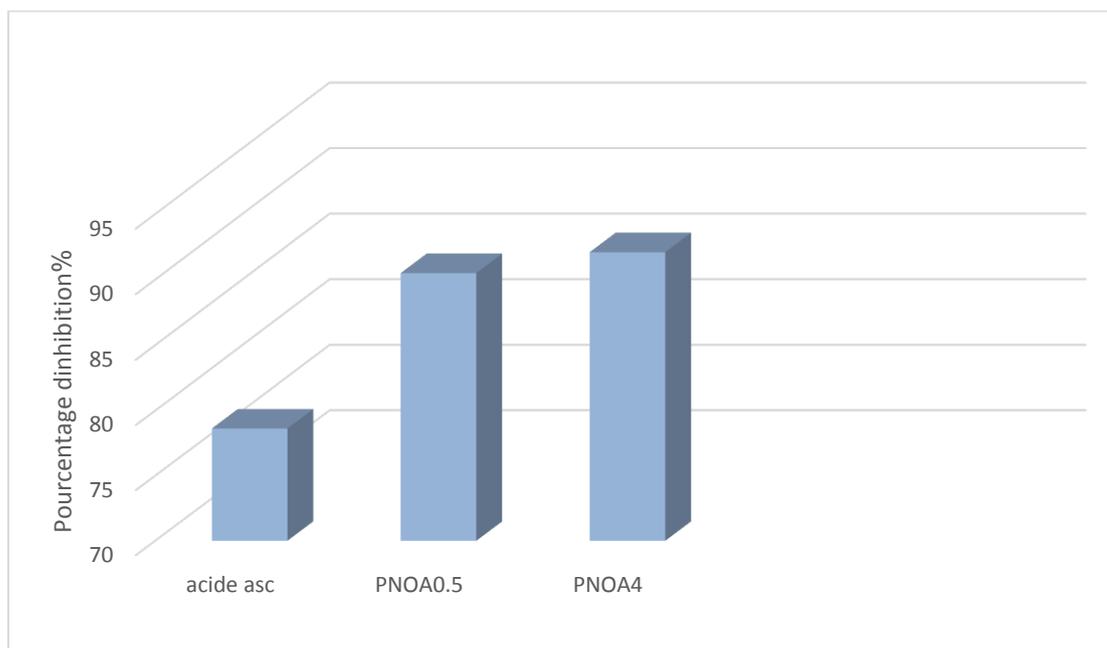


Figure 23: Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration 100 µg/ml par teste FRAP

La figure présente les résultats d'activité antioxydant FRAP des trois extraits ont trouvé les valeurs de 92,09%, 90,5% pour les extraits PNOA 4, PNOA 0,5 respectivement. En revanche, les résultats aux précédents rapports, GHANIA (2015) sur les polysaccharides de noyau de datte cultivars *ghars* montre que les valeurs de FRAP sont 11,4% pour l'extrait PNDA4 et 75,6% pour l'extrait PNDA0,5. En général, nous notons que les valeurs de notre étude étaient plus élevées même si elles étaient aux mêmes concentrations.

III.3.2.3 Test de blanchissement du β -carotène

Dans le test de blanchissement du β -carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux libres due à l'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir des groupes méthylène de l'acide linoléique. Puis le radical libre va oxyder le bêta carotène hautement insaturé. la présence d'un antioxydants dans l'extrait permet de minimiser l'oxydation du bêta carotène par les hydro-péroxyde qui sont neutralisées (**Figure 24**) (**Popovici et al., 2009**).

La figure ci-dessous rapporte les valeurs moyennes de deux mesures d'AA % (coefficient d'activité antioxydante) \pm SD calculés à partir de la formule:

$$\% \text{ Activité antioxydante} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100.$$

Ces valeurs facilitent des comparaisons de l'activité relatives des différents extraits, du témoin positif (BHT).

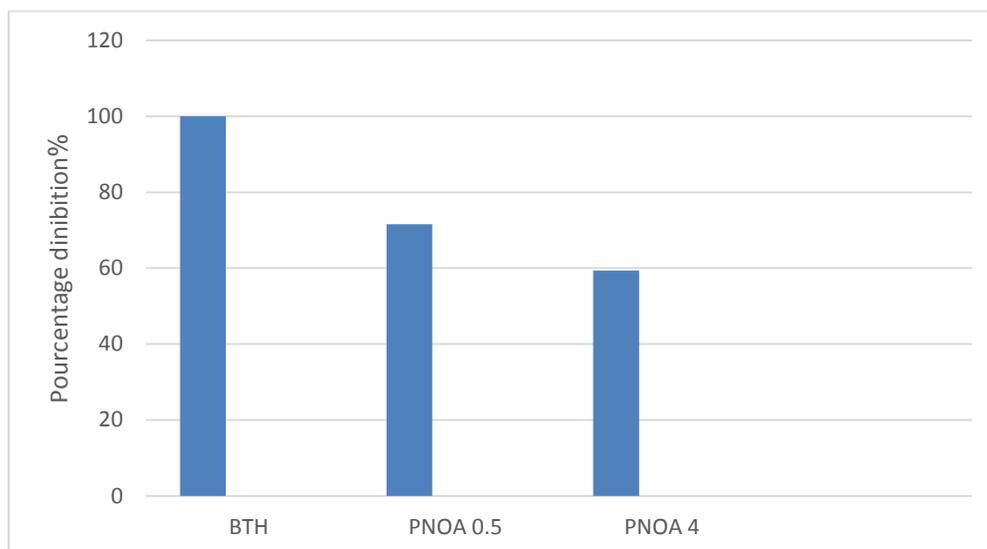


Figure 24:Activité antioxydante des différentes fractions à la concentration 100 µg/ml par teste de blanchissement du β -carotène

D'après le figure, la présence ou l'absence de l'activité antioxydante d'un extrait peut être mise en évidence par un test simple et relativement rapide. Le potentiel antioxydant est estimé par la taille et l'intensité de la couleur orange qui persistent autour des puits contenant l'extrait de la noyaux d'olive. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en substances antioxydantes des extraits déposés.

Les extraits ont manifesté des activités relativement élevées par rapport à celle manifestée par l'extrait de chloroforme, mais qui restent inférieures à celle du BHT.

L'aptitude des extraits bruts du noyaux d'olive *sigoise* à inhiber la peroxydation des lipides a été évaluée par la technique de décoloration du β -carotène. En effet, toute substance chimique qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être considérée comme antioxydant (**Liyana Pathirana et al., 2006**).

Pour se renseigner sur la puissance de nos extraits à ralentir la vitesse de l'oxydation des lipides, nous avons réalisé un suivi de la réaction de l'oxydation de l'acide linoléique par mesure de l'abaissement de l'absorbance dans le temps.

Les résultats obtenus montrent que le BHT et les extraits testés inhibent d'une manière efficace l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène. En effet, l'extrait PNOA 0,5 montre la plus grande activité inhibitrice (71,57 %), il est suivi par l'extrait PNOA4 (59,35%), mais cette activité reste significativement inférieure à celle du BHT (99,94 %) qui est utilisé comme témoin positif.

Akrouit et al (2011) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits: huile essentielle, éthanol (50%), et extrait aqueux des plantes d'*A. campestris* et *Thymelaea hirsuta* par plusieurs méthodes dont celle de décoloration du β -carotène. Ils ont trouvé pour l'extrait éthanolique de la plante *A. campestris* une valeur de 34 %, celle-ci est relativement faible, elle est deux fois plus inférieure à celle trouvée pour notre extrait PNOA 0,5. Cependant, cette activité a été élevée pour l'extrait aqueux (88.7 %). De même leur témoin positif BHT a montré une valeur égale à celle de notre extrait PNOA 0,5, donc inférieure à la valeur que nous avons trouvé (99,94 %).

En comparant les résultats des deux plantes, les extraits de notre noyaux d'olive possèdent une activité antioxydante supérieure à celle étudiée par Akrouit et al (2011), ceci s'explique par le fait que nos extraits contiennent des quantités supérieures en composés antioxydants.

Selon l'étude statistique, l'activités antioxydantes DPPH, FRAP et β - carotène présentent des corrélations positives avec les oses acides, les oses neutres , les protines et les lipides. On peut ainsi dire que ces activités antioxydantes justifie la teneur ou la qualité des oses et protines qui existent dans les noyaux d'olives variété sigoise.

Les autres paramètres d'activité antioxydante β - carotène présentent une corrélation positive avec l'activité anti hémolyse, ce qui signifie que cette activité résulterait des antioxydants qui existent dans les extraits polysaccharidiques préparés à partir des noyaux d'olives variété sigoise.

III.3.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse biologique complexe des tissus vasculaire endommagés classée comme aiguë ou chronique (PATRA et al., 2017). Les processus inflammatoires et anti-inflammatoires impliquent de nombreuses molécules, dont la plupart sont des protéines (SAJID et al., 2017). La dénaturation des protéines, avec la conséquence de perte leur activité biologique, est une cause bien documentée de l'inflammation (TLILI et al., 2019).

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire d'extrait polysaccharidique des variété sigoise, il est utilisé le teste de l'inhibition de la dénaturation des protéines à différentes concentration (100,250,500ug /ml). Les résultats obtenus sont présents dans la figure (25).

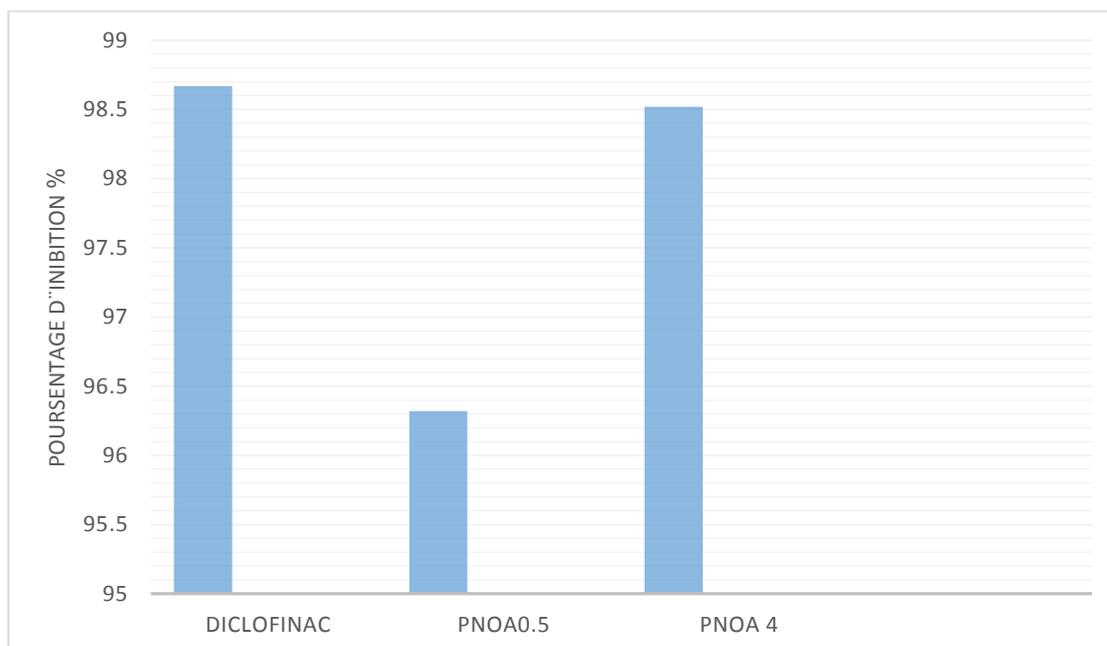


Figure 25: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique des extraits polysaccharides et du diclofénac de sodium sodium par teste anti-inflamatoire

La pouvoir d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extraite polysaccharides des variété *sigoise* est égal à celui du diclofénac de sodium dans les fraction PNOA0.5 (96.32%) et PNOA4 (98.52%) très proches a la diclofénac (98.67%) dans concentration 1000 ug/ ml.

Cette résultat explique l'extrait polysaccharidique possède une activité anti-inflammatoire dans les fractions polysaccharides alcalisolubles PNOA0.5, PNOA4M.

Statistiquement l'activité anti-inflammatoire à une corrélation positive avec les oses acides, les oses neutres, les protines et les lipides.

III.3.4. anti hémolytique

le test hémolyse en tant que ce test le plus simple et plus rapide pour ce but; Où les pourcentages d'hémolyse ont été déterminées par la formule d'Abirami et al (2014).

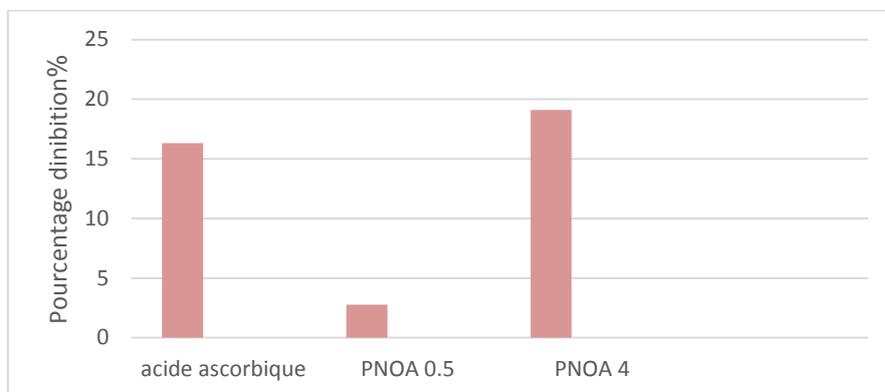
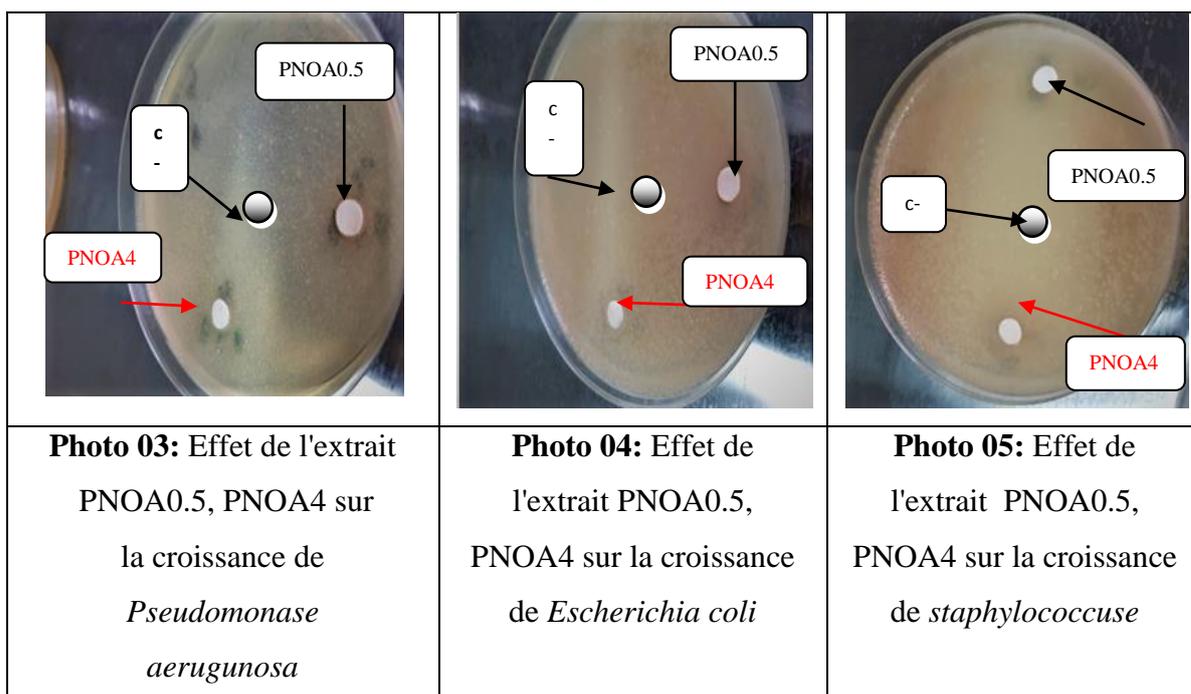


Figure 26: Histogramme comparatif d'aux hémolyse d'acide ascorbique et des extraits testés en concentration 1mg/ml.

A partir les résultats de figure (6) on observe l'effet protecteur d'hémolyse est différent dans tous les extraits polysaccharides la solution d'acide ascorbique qui présente une hémolyse (16%) puis les extraits PNOA0.5, (8%) puis les extraits PNOA4 (19.09%).

III.3.5. Activités antibactérienne

Les photos ces dessous présente les résultats des tests antibactériens de l'extraite polysaccharides des noyau d'olive variété *sigoise* sur la croissance bactérienne.



Dans cette résultat a comparé avec l'eau distillé (contrôle négative) explique l'extrait des polysaccharides ne présente aucune activité sur les différentes bactéries.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

L'étude de la composition des extraits bruts alcalisolubles après la lyophilisation, donne des valeurs le rendement de l'extrait lipidique obtenu 5.58 %, PNOA0.5M 7.34%, PNOA4M 6.24% et d'oses totaux 1.36% pour PNOA0.5M, 1.42% pour PNOA4M; sont des oses neutres 0.96 % pour PNOA0.5M, 1.11% pour PNOA4M et 0.40% pour PNOA0.5M et 0.31% pour PNOA4M; sont des oses acides. Les protéines comme un deuxième constituant majeure des extraits brut des polysaccharides est à un taux inférieure de 4%.

L'activité anticoagulante est mesurée par le test de temps de céphaline activée (TCA) est 32.15s pour le PNOA0.5M, 31.51s pour le PNOA4M. Alors, les fractions de polysaccharides bruts ne sont pas douées d'activités anticoagulantes.

L'activité antioxydant des trois extraits testés par les trois méthodes DPPH, FRAP, β -carotène à une concentration de 100 μ g/ml montre un pouvoir antioxydant allant jusqu'à 92.09% pour l'extrait de PNOA4 (teste FRAP) et 71.57 % PNOA0.5 (teste de blanchiment β -carotène).

Les résultats des tests antibactériens de l'extrait PNOA0.5M, PNOA4M des polysaccharides ne presente aucune activité sur les différentes bactéries.

L'activité anti-inflammatoire des deux extraits testés par méthode de l'inhibition de la dénaturation des protéines montre un pouvoir anti-inflammatoire allant jusqu'à 96.32% (PNOA0.5M) et 98.52% (PNOA4M) dans concentration 1000 ug/ ml.

Le teste hémolyse 16% puis les extraits PNOA0.5M, 8% puis les extraits PNOA4M 19.09%.

Perspectives

Pour une meilleure rendement d'extraction des polysaccharides de noyaux d'olives, il faut chercher les bonnes conditions d'extraction (la température, le temps d'extraction, les solvants), et l'utilisation des techniques de haute performance après la purification des extraits comme : infrarouge, La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et chromatographie échangeuse d'anions, de haute performance pour milieu identifié les molécules composantes nos extraits.

Aussi, on peut d'appliqué des autres activités biologiques comme: l'activité antitumorale, l'activité antifongique, l'activité antivirales...etc.

Références bibliographie

Références bibliographiques

1. ADLER S., VERDEIL J., LARTAUD M., FOCK-BASTIDE I., JOËT T., CONÉJÉRO G., NOIROT M., 2014.- Morphological and histological impacts of the laurina mutation on fructification and seed characteristics in *Coffea arabica* L. vol .28 : 585-595.

2. Akrouit A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C. 2011. -Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* 49: 342–347.

3. ALBUQUERQUE P.B.S., BARROS W., SANTOS G.R.C., CORREIA M.T.S., MOURÃO P.A.S., TEIXEIRA J.A et CARNEIRO-DA-CUNHA M.G. 2014- Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia Grandis*, *Carbohydr. Polym*, vol .104 :127–134.

4. ALLOUM D., 1974.-L'oléiculture algérienne. Options méditerranéennes n°24. Pp : 45-48

5. Amouritti M et Comet G., 1985. Le livre de l'olivier. Ed. Edisudaperçu sur le patrimoine génétique autochtone 104p.

6. ARTAUD M., 2008.- L'olivier, Sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique.

7. Athukorala Y., Jung W K., Vasanthan T., Jeon Y. J., 2006.- An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of *Ecklonia cava*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 66: 184-191.

8. BEAMONT S., 2015- Biochimie. UA1. 1 ère année santé. 4ème Ed: Ediscience. P : 52- 53.

9. Beck J.S., Danks F., 1983 - Determinación del umbral de tratamientos para la mosca del olivo (*Bactrocera oleae* Gmel, Diptera, Tephritidae) en olivar destinado a la producción de aceite. *Bol.Sanid. Vegetal Plagas* Vol. 21 n° 4, 1995. P. 577-588.

10. Bensemmane A., 2009. L'oléiculture: Développons le secteur de l'Huile d'Olive en Algérie.
11. Besbes S, Christophe Blecker, Claude Deroanne, Neila Bahloul, Georges Lognay, Noureddine Drira Et Hamadi Attia., (2004) b.- Date seed oil phenolic, tocopherol and Sterol profiles'. *Journal of Food Lipides*, vol. 11, pp. 251–265.
12. Besbes S., Blecker C., Deroanne C., Drira N E., Attia H., 2004. -Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction. *Food Chemistry*, volume pages 577–584.
13. BESNARD G., 2009. Génétique et évolution des plantes en milieu méditerranéen et tropical. Université de Lille 1. 45p.
14. Bianchi G. 2003.- Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipids and Science Technology*, 105: 229-242.
15. BLEICHER-BARDELETTI F, DUCLOS B, et VAMECQ J. , 2014.-Biochimie tout le cours en fibres hience. PACes- UE1 –CARES. Dunod. P : 30-33.
16. Boukhari R., 2014. - Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'olivier et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou ; université Tlemcen. Ingénieur en Agronomie.p9.
17. Bradford M M., 1976.- A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical biochemistry*, vol. 72: 248-254.
18. BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M. E., BERSET C. 1995.- Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT -Food Science and Technology*, vol.28(1):25–30.
19. BRETON C ; MEDIAL F ; PINATEL C et BERVILLE A., 2006. De l'olivier à L'oléastre : Origine et domestication de *Olea europaea L* dans le Bassin méditerranéen *Cahiers agricultures* vol.15, n°4, juillet-août 2006.

20. BROXTERMAN S. E., and SCHOLS H. A., 2018.- Characterisation of pectin-xylan complexes in tomato primary plant cell walls. *Carbohydrate Polymers*, vol 197 : 269–276.

21. Brudieux V., 2007.- Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. A l'occasion de la relation structure/activité à la dermatocosmétique. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 220p.

22. Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 4^{ème} Ed :Lavoisier. P : 45.

23. Caesar L. N., 2007.- Etude de la phytochimie et des activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : *Terminalia catappa* L. (*Combretaceae*) ET *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (*Crassulaceae*). Thèse de doctorat. Université de bamako, 179p.

24. Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0185-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-inplants/olivetree-genetic-resourcescharacterization-through-molecular-markers>.

25. CAMPS-FARBER H., 1974. L'olivier et son importance économique dans l'Afrique antique. L'olivier. Paris : CIHEAM (Options méditerranéennes n°24). Pp : 21-28.
CAVAILLES H., 1938. L'olivier dans le bassin méditerranéen. In: *Annales de Géographie*., t. 47, n°270. pp. 617-620.

26. CHANDR A SHEKARA P.M and VENKATESH Y.P., 2016.- Immunostimulatory properties of fructans derived from raw garlic (*Allium sativum* L.). *Bioactive, Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 8: 65–70.

27. CHANDR A., SHEKARA P.M and VENKATESH Y.P., 2016.- Immunostimulatory properties of fructans derived from raw garlic (*Allium sativum* L.). *Bioactive, Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 8: 65–70. *Characterization through Molecular Markers, Genetic Diversity in Plants*.

28. CHEN F., and HUANG G., 2019 -Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol 125 : 906-908.

29. CHEN J., FUNK J. L., FRYE J. B., OYARZO J. N., ZHANG H and TIMMERMANN B. N., 2016.- Anti-inflammatory effects of the essential oils of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in experimental rheumatoid arthritis. *PharmaNutrition*, 4: 123–131.

30. CHEN X., QI Y., ZHU C and WANG Q., 2019.- Effect of ultrasound on the properties and antioxidant activity of hawthorn pectin. *International Journal of Biological Macromolecules*. vol 131 :273-281.

31. CHEN X., QI Y., ZHU C and WANG Q., 2019.- Effect of ultrasound on the properties and antioxidant activity of hawthorn pectin. *International Journal of Biological Macromolecules*. vol 131 :273-281.

32. Chen Y., Song M., Wang Y., XIONG W., ZENG L., ZHANG S., XU M., DU H., LIU J., WANG D., WU Y., HU Y., 2015.- The anti-DHAV activities of Astragalus polysaccharide and its sulfate compared with those of BSRPS and its sulfate. *Carbohydrate Polymers*, vol. 117: 339–345.

33. Chen Z. G., Zhang D. N., Zhu Q., Yang Q. H., Han Y. B., 2014.-Purification, preliminary characterization and in vitro immunomodulatory activity of tiger lily polysaccharide. *Carbohydrate Polymers*, vol. 106: 217-222.

34. CHNITI S., (2015). Optimisation de la bioproduction d'éthanol par valorisation des refus de l'industrie de conditionnement des dattes (Université Rennes 1).

35. Chouaki S ; Bessedik F ; Chebouti A ; Maamri F ; Oumata S ; Kheldoun S ; Hamana

CHOUANA T., 2017- Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*. Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah d'Ouargla, 203p. .

36.Colonna, P., Thibault, J.F. (1986).- Propriétés physico-chimiques des polysaccharides. In : Propriétés fonctionnelles des polysaccharides (p. 19-46).

Conseil Oléicole International (COI) ,2007.Techniques de production en oléiculture. C O I., 1998. L'olivier, l'olive, l'huile. Pp : 1-1.

37.Cortesi N., Rovellini P. et Fedeli E. 2000a.- Cultivars, technologie et qualité des huiles d'olive. *Olivae*, 81: 26-35.

38. DI DONATO, P., POLI A., TAURISANO V., et NICOLAUS B., 2015- In Kishan Ding H. H., Cui S. W., Goff H. D., Wang Q., Chen J., Han N. F., 2014 .- Soluble polysaccharides from flaxseed kernel as a new source of dietary fibres: Extraction and physicochemical characterization. *Food Research International*, vol. 56: 166-173.

39. DOMIATI S., EL-MALLAH A., GHONEIM A., BEKHIT A and EL RAZIK H. A., 2016- Evaluation of anti-inflammatory, analgesic activities, and side effects of some pyrazole derivatives. *Inflammopharmacology*, vol 24: 163–172.

40.Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. D., Rebers P. A., Smith F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chern.*, vol. 28: 350-356.

41. El Antari A., El Moudni H., Ajana H. et Cert A. 2003a.- Etude de la composition lipidique de deux compartiments du fruit d'olive (pulpe et amande) de six variétés d'oliviers cultivées au Maroc. *Olivae*, 98 : 20-28.

42.FAOSTAT., 2013. Site web : <http://faostat.fao.org/>

43. FEDAIL J.S., AHMED A.A., MUSA H.H., ISMAIL E., SIFALDIN A.Z and MUSA 44.T.H., 2016.- Gum arabic improves semen quality and oxidative stress capacity in alloxan induced diabetes rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, vol.5: 434-441.

45.FEDAIL J.S., AHMED A.A., MUSA H.H., ISMAIL E., SIFALDIN A.Z and MUSA T.H., 2016.- Gum arabic improves semen quality and oxidative stress capacity in alloxan induced diabetes rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, vol.5: 434-441.

46. Fedeli E., 1997. -Technologie de production et de conservation de l'huile. In : Encyclopédie mondiale de l'olivier. Ed. Plaza et Janes, pp. 253-273.
47. FLOCH A.L., JOURDES M and TEISSEDE P.L., 2015.- Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. Carbohydrate Research, vol. 417:94–102.
48. FRANCIS SUH J. K. and MATTHEW H. W. T., 2000.- Application of chitosanbased polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. Biomaterials, vol. 21:2589-2598.
49. GAO J., ZHANG T., JIN Z. Y., XU X. M., WANG J. H., ZHA X. Q. and CHEN H. Q., 2015.- Structural characterization, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb. Food Chemistry, vol. 169: 430-438 .
50. Gazengel J M., Orecchioni A M., 2013. - Le préparateur en pharmacie (Coll. Guide Théorique et Pratique), Ed LAVOISIER éme Éd. Paris, 1761 p.
51. GEETA K W., VERMA D .2018- Polysaccharides as biomaterials. Fundamental Biomaterials: Polymers. p 37-70.
52. Gomes S ; Martins-Lopes P et Guedes-Pinto H., 2012. Olive Tree Genetic Resources.
53. Gómez-Rico A., Fregapane G. et Salvador M.D. 2008.- Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*, 41: 433–440.
54. Gopal Ramawat, K. G. and Mérillon, J-M. Polysaccharides Bioactivity .
55. GUIGNARD J. L., POTIER P., 2000.- Biochimie végétale. 2ème édition. Dunod. Paris: 97- 99-123.
56. Guilloton M., Quintard B et Gallet P., 2013.-Biochimie. 3eme Ed: Dunod, Paris. P: 100-104

57. Gunathilake K.D.P.P., Ranaweera K.K.D.S. and VasanthaRupasinghe H.P., 2018.- In Vitro Anti-Inflammatory Properties of Selected Green Leafy Vegetables. *Biomedicines*; 6 (107): 1-10.

58. HADJ AMMAR H, MAJDOUB H, LAJILI S, BEN SAID R, LE CERF D, et BOURAOUIA. 2015- Caractérisation physico-chimique et évaluation pharmacologique des polysaccharides sulfatés de trois espèces d'algues brunes méditerranéennes du genre *Cystoseira*. vol: 23.

59. HASSAN L.K., HAGGAG H.F., ELKALYOUBI M.H., ABD EL-AZIZ M., ELSAYED M.M and SAYED A.F., 2015.- Physico-chemical properties of yoghurt containing cress seed mucilage or guar gum. *Annals of Agricultural Science*, vol. 60: 21–28.

60. HAWKEY C. J., and LANGMAN M. J. S., 2003.- Non-steroidal anti-inflammatory drugs: overall risks and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors. *Gut*, vol 52: 600–608.

61. HE P.F., HE L., ZHANG A.Q., WANG X.L., QU L and SUN P.L., 2017.- Structure and chain conformation of a neutral polysaccharide from sclerotia of *Polyporus umbellatus*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 155: 61-67.

62. HENNEN G., 2006.- *Biochimie approche bioénergétique et médicale*. 4^{ème} Ed : Dunod. P : 17-18. a polysaccharide from *Sipunculus nudus* L. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 9: 2961- 2967 *Biotechnology*. 604-634. *Caractérisation Structurale et Potentiel Biologique des Polysaccharides issus de Plantago notata Lagasca (Plantaginaceae) et Urginea noctiflora Batt. et Trab. (Liliaceae)*. thèse doctorat . Université Kasdi Merbah Ouargla. 208 p. Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers*, vol.105: 97 - 63. Huang S.Q., Ning Z X., 2010. - Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 47, Issue 3, Pages 336-341.

64. I.T.A.F., 2012.- La lettre de Habra bulletin d'information mensuel n°1. Ed Ferme de démonstration de Mohammadia. 5p.

65. IDRISSE A et OUAZZANI N., 2003. Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea* L.). Plant genetic resources newsletter (136), pp. 1-10.

66. ITFA: Brochure ITAFV. Projet CFC/IOOC/04. 2006.- Les sous-produits de l'olivier et la fertilisation des cultures fruitières et de la vigne.

67. Izydorczyk M, Brummer Y, Cui SW, Wang Q, Liu Q, Xie SX., 2005.- Food carbohydrates. Chemistry, physical properties, and applications.

68. J. B. L. Tan and Y. Y. Lim, "Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts," Food Chemistry, vol. 172, pp. 814–822, 2015.

69. KARA S., 2010. - Préparation des copolymères hydrosolubles à base d'amidon, Modification et contrôle des propriétés. Thèse de Magister, UNIVERSITE ABOU-BAKR BELKAID – TLEMCEM, 133p.

70. Kasraoui. F. Med, (2010). L'olivier. Le site officiel de l'Ing. Med. p2-5.

71. KRIMAT S., METIDJI H., TIGRINE C., DAHMANE D., NOUASRI A., DOB T., 2017.- Analyse chimique, activités antioxydante, anti-inflammatoire et cytotoxique d'extrait hydrométhanolique d'*Origanum glandulosum* Desf. Phytothérapie. 1-8.

72. LABDAOUI D. 2017 . Impact socio-economique et environnemental du modèle d'extraction de huile d'olive à deux phases et possibilité de diffusion dans la région de Bouira 8 p.

73. Laurent A., et Barnouin A. 2000.- L'olive. Ed. Minevra, 140p.

74. LIU Y., FANG S., ZHOU M., SHANG X., YANG W and FU X. 2018.- Geographic variation in water-soluble polysaccharide content and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* leaves. Industrial Crops and Products, vol 121 : 180–186.

75. Liyana-Pathirana C. M., and Shahidi F. (2006.- Antioxydant propriétés de commercial soft and hard winterwheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *J. Sci. of Food and Agriculture*. 86: 477-485.

76.LOUSSERT R. et BROUSSE C., 1978 – L’olivier, Techniques culturales et productions méditerranéennes, Edit, C.P, Maisonneuve et Larousse, Paris, 437p.

77.Douzene M ; Bellah F et Kheldoun A., 2006. Deuxième rapport national sur l’état des ressources phytogénétiques. INRA Algérie/ juin 2006. Pp : 74-75.

78.MALLEDAN .Y.2017. - Méthode de surveillance de l’héparine non fractionnée par TC ou anti-Xa .thèse , université de ANGERS, vol . 70 p.

79.MEHELLOU Z., 2016- Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien. Thèse de Magister, Université Kasdi Merbah d’Ouargla.

80.MELIH , G and AKPINAR O. ,2019- Valorisation of fruit by-products:“Production characterization of pectins from fruit peels, Food and Bioproducts Processing.

81.Mendil A.et Sebai A., 2006.-l’olivier en Algérie.ITAF,Alger,Algérie,99 p.

82.MENDIL M et SEBAI A., 2006. Catalogue national des variétés de l’olivier.100p.

83.Mendil M., Sebai A. , (2006). Catalogue Algérien des variétés d’olivier, l’olivier en Algérie :

84.MINER J.M.M., 1995. L’huile d’olive, un luxe quasi éternel. Revue Olivae N°59 décembre 1995. Pp36-37.

85.Monsigny M., Petit C., Roche A.C.,1988. - Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. Analytical biochemistry, vol. 175: 525-530.

86.Morrison I. M. And Stewart D., 1998.- Plant Cell Wall Fragments Released On Solubilisation In Trifluoroacetic Acid. Phytochemistry, Vol.49:1555-1563.

87. MUNGURE T. E., ROOHINEJAD S., BEKHIT A. E.D., GREINER R and MALLIKARJUNAN, K. ,2018.- Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. Current Opinion in Food Science, vol 19 : 72–76.

88. NDIAYE M, SY GY, DIÈYE AM, TOURÉ MT and FAYE B., 2006.- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*annona reticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* vol.14: 179- 186.

89. NERÉE A., 2016.- caractérisation biophysique et rôles biologiques des interactions hormone peptidique- glycosaminoglycane. Thèse de Magister, Université du Québec à Montréal, 136p. WEIL. J. 2009- *Biochimie générale*. 11^{ème} Ed : Dunod. P : 213-215.

90. NIE C., ZHU P., MA S., WANG M., HU Y. (2018).- Purification, characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from stem lettuce. *Carbohydrate Polymers.*, (18), 8617 p.

91. Persin Z., Stana-Kleinschek, K., Foster, T.J., van Dam, J.E.G., Boeriu, C.G., Navard, P., (2011). -Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers.* 84 (2011) 22–32.

92. PINHEIRO A.C., BOURBON A.I., ROCHA C., RIBEIRO C., MAIA J.M., GONALVES M.P et VICENTE A.A. 2011.- Rheological characterization of carrageenan/galactomannan and xanthan/ galactomannan gels: Comparison of galactomannans from non-traditional sources with conventional galactomannans, *Carbohydr. Polym.*, vol. 83 : 392–399.

93. POMIN V. H., 2015- Sulfated glycans in inflammation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 92: 353-369.

94. PRAJAPATI V.D., MAHERIYA P.M., JANI G.K and SOLANKI H.K., 2014-
Ramawat K. G., and Mérillon J. M., (2015). *Polysaccharides*. Springer International Publishing.

95. Ray, S. D. Gupta, and S. Ghosh, "Isolation and characterization of potent bioactive fraction with antioxidant and UV absorbing activity from *Aloe barbadensis* Miller gel," *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, vol. 22, no. 4, pp. 483– 487, 2013.

96. *Revue Fillaha Innove* N°4 Avril-Mai 2009. 23p.

97. RJEIBI I., FERIANI A., SAAD A. B., NCIB S., SDAYRIA J., HFAIEDH N and ALLAGUI, M. S. ,2019- *Lycium europaeum* Linn as a source of polysaccharide with in vitro antioxidant activities and in vivo anti-inflammatory and hepatonephroprotective potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, vol 225 : 116–127.

98. Ruiz G., 2005.- Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat, 'université de Limoges, 230p.

99. SAHLAN M., DEVINA A., PRATAMI D. K., SITUMORANG H., FARIDA S., MUNIM A and LEDYAWATI, M. 2018- Anti-inflammatory activity of *Tetragronula* species from Indonesia. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

100. SANCHEZ M P., 2006- Polysaccharides ayant une activité immunomodulatrice chez les champignons indigènes du Québec. Thèse de doctorat de l'Université Laval de Québec: 119p.

101. NIE C., ZHU P., MA S., WANG M and HU Y. ,2018- Purification, characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from stem lettuce. *Carbohydrate Polymers*, vol 188: 236–242.

102. Sanchez M., “Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems,” *Food Science and Technology International*, vol. 8, no. 3, pp. 121– 137, 2002.

103. SAOUDI MOUNA.,(2007). -Les Bactérie ondulant les légumineuses ; Caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus Armatus* , Thèse de magister ,Université Mentouri de Constantine ,27p.

104. SHAHBUDDIN M ., SHAHBUDDIN D.,. BULLOCK A .J., IBRAHIM H., RIMMER S.et MACNEIL S .2013.- High molecular weight plant heteropolysaccharides stimulate fibroblasts but inhibit keratinocytes, *Carbohydr. Res* , Vol .375: 90–99.

105. SHEHATA I A., EL-HARSHANY E., ABDALLAH H. M., ESMAT A and ABDEL-SATTAR E. A.,2018.- Anti-inflammatory activity of *Kleinia odora*. *European Journal of Integrative Medicine*. vol 23 :64-69.

106.SIRIVIBULKOVIT K., NOUANTHAVONG S., SAMEENOI Y. 2018.-Paper-based dpph assay for antioxidant activity analysis. *Analyse science*,vol.34:795-800.

107. SOUZA R.O. MADEIRA S, J.C, CHAGAS F.D.S, PARREIRAS, L.A, SANTOS G.R.C, ASSREUY, A.M.S, MOUR A.O, et PEREIRA, M.G , 2015.- Purified polysaccharides of *Geoffroe aspinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks. *Carbohydrate Polymers*, vol .124 : 208-21.

108.Sun, H. He, and J. X. Bi, “Novel antioxidant peptides from fermented mushroom *Ganoderma lucidum*,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 21, pp. 6646–6652, 2004.

109.Ueno Y., Okamoto Y., Yamauchi R., Kato K.,1982. - An antitumor activity of the alkali-soluble polysaccharides (and its derivatives) obtained from the sclerotia of *Grifora umbellata*(Fr.) Pilát, *Carbohydrate Research*, Volume 101, Issue 1, Pages 160- 167.

110.VERBERT ANDRE., JEAN MONTREUIL. *Analyse des glucides et des glycoprotéines*, ELSEVIER, CNRS, Univ des Sciences et Technologie de Lille, 1p.

111. Voet D et Voet J. G. 1998. -*Biochimie*. Hermam Editeurs des sciences et des Arts. P: 75.

112. WANG W., MCCONAGHY A.M., TETLEY L et UCHEGBU I.F .2001.- Controls on polymer molecular weight may be used to control the size of palmitoyl glycol chitosan polymeric vesicles,*Langmuir*, vol .17 : 631–636.

113.WangT., SunY., Jin L., XuY., Wang L. Ren T., Wang K. (2009). Enhancement of nonspecific immune response in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) by *Astragalus membranaceus* and its polysaccharides *Fish & Shellfish Immunology*.Volume 27, Issue 6, Pages 757-762.

114.WARRAND J. ,(2004) .-Etude structure et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum Usitassimum*) ,Thèse de doctorat de l'université de Picardie Jules verne ,238p.

115. Wondraczek H. and Heinze, T. (2015). -Cellulosic Biomaterials. In In Kishan Gopal Ramawat, K. G. and Mérillon, J.-M. Polysaccharides Bioactivity and Biotechnology. 299- 322.

116. X.-Z. Liu, S.-P. Nie, W. J. Li et al., "Triterpenoids content and antioxidant activity of neutral components from *Ganoderma atrum*," Journal of Nanchang University (Engineering & Technology), vol. 4, p. 8, 2011.

117. XUE N., WU X., WU L., LI L and WANG F., 2018.- Antinociceptive and anti-inflammatory effect of Naringenin in different nociceptive and inflammatory mice models. Life Sciences. vol 217 :148-154.

118. YUE Y., WU S., ZHANG H., ZHANG X., NIU Y., CAO X and DING H., 2014.- Characterization and hepatoprotective effect of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex HF Chou sarcocarp. Food Chem. Toxicol. vol 74:76– 84.

119. Zarrouk M., Marzouk B., Ben Miled Daoud D. et Chérif A. 1996.- Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. *Olivae*, 61 : 41-45.

120. ZHANG A. Q., ZHANG Y., YANG J., JIANG J., HUANG F. F. and SUN P. L., 2013.- Structural elucidation of a novel water-soluble fructan isolated from *Wedelia prostrata*. Carbohydrate Research, vol. 376: 24-28.

121. ZHANG C. X. et DAI Z. R., 2011.- Immunomodulatory activities on macrophage .

122. Zhang W., Xu P., Zhang H., 2015.- Pectin in cancer therapy: A review. Trends in Food Science & Technology. Article in press, 1- 14.

123. Zhao B., Zhang J., Guo X., Wang J ., 2014.- Microwave-assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb and its antioxidant activities evaluation. Food Hydrocolloids, vol. 31: 346-356.

124. ZHAO Z., UKIDVE A., DASGUPTA A and MITRAGOTRI S., 2018. - Transdermal immunomodulation: Principles, advances and perspectives. Advanced Drug Delivery Reviews, vol 127:3–19.

125. Zheng Y.J., Zhou, B., Song Z.F., Li L., Wu. J., Zhang R.Y., Tang, YQ., 2013.- Study of *Astragalus Mongholicus* Polysaccharides on Endothelial Cells Permeability Induced by HMGB1. Carbohydrate Polymers, volume 92, no. 1, Jan. 2013, pp. 934–41.

126. Zong A., Cao H., Wang, F. 2012., Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. Carbohydrate Polymers, 90, 1395–1410.

Annexes

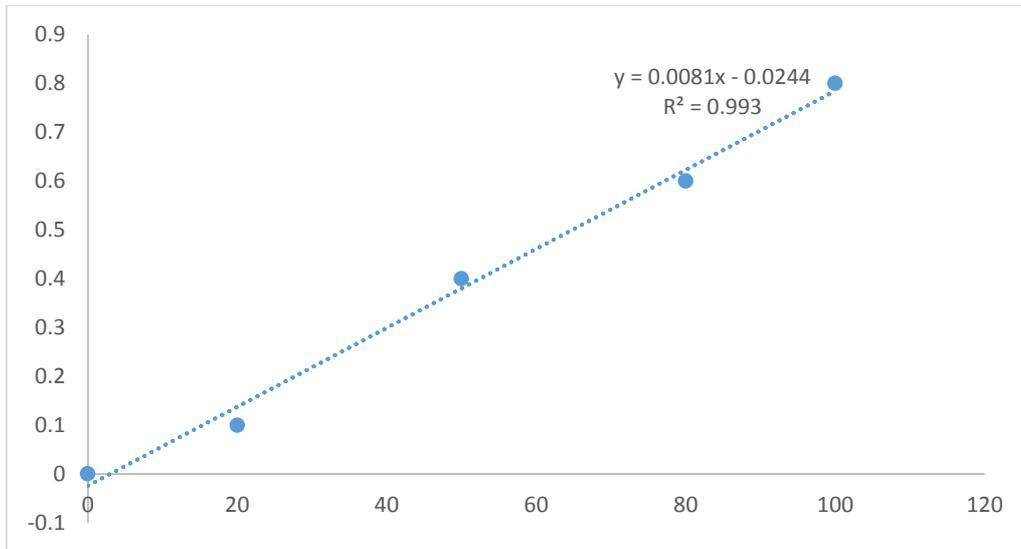


Figure A : Courbe d'étalonnage des oses totaux (glucose)

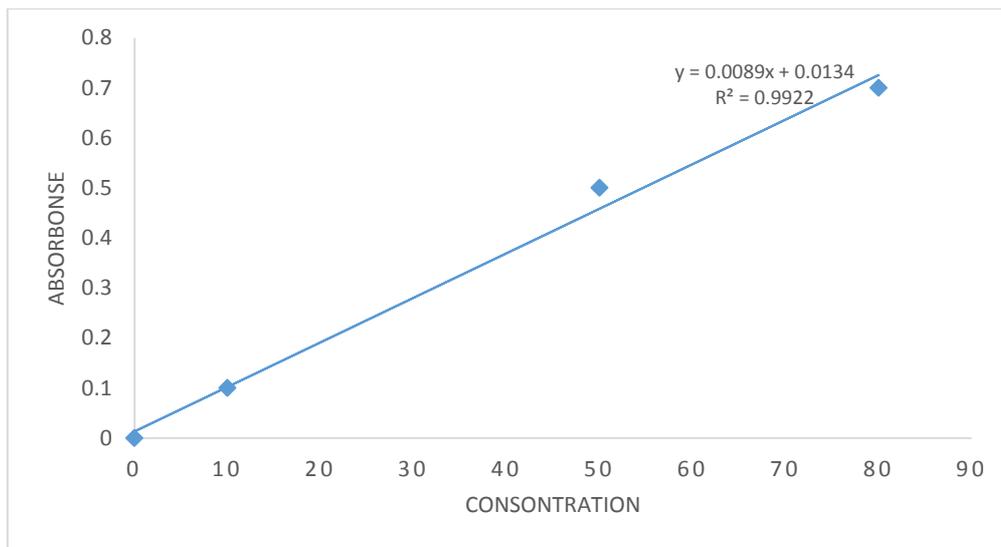


Figure B: Courbe d'étalonnage des oses neutres (glucose)

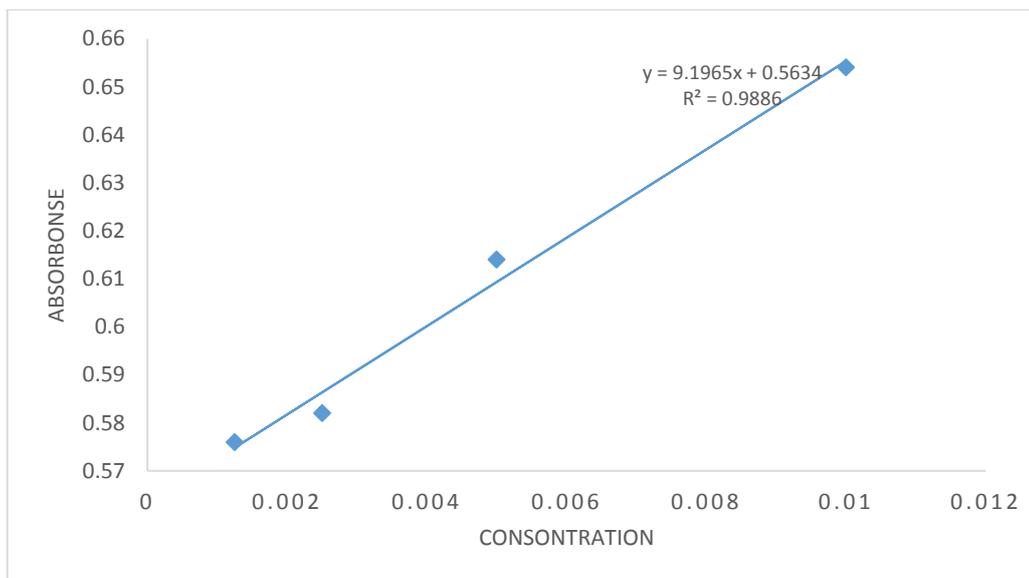


Figure C: Courbe d'étalonnage des protéines (BSA) la méthode de BRADFORD

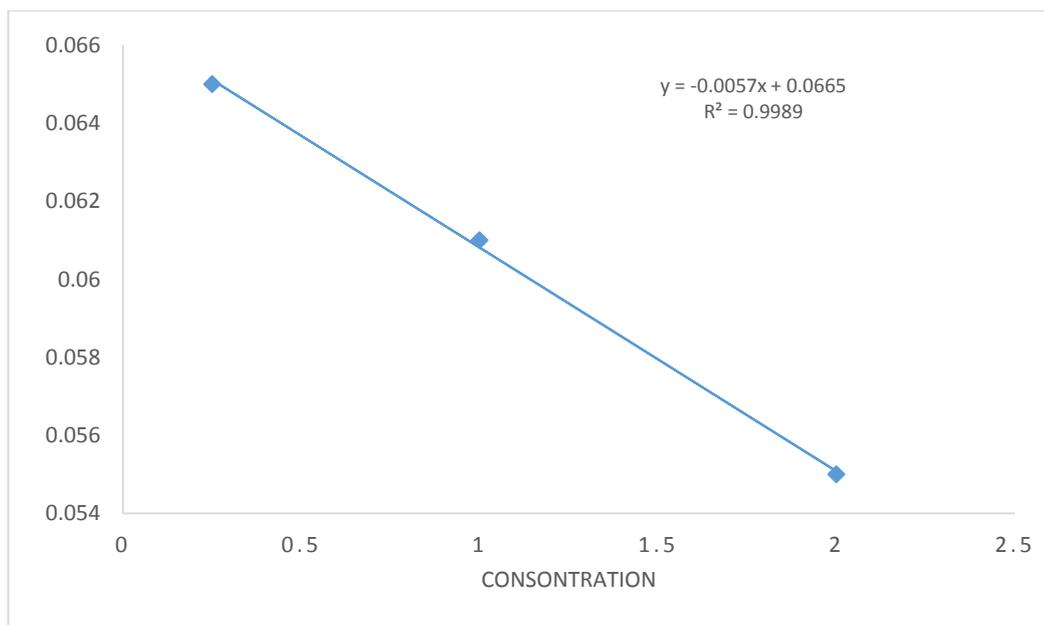


Figure C: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de DPPH

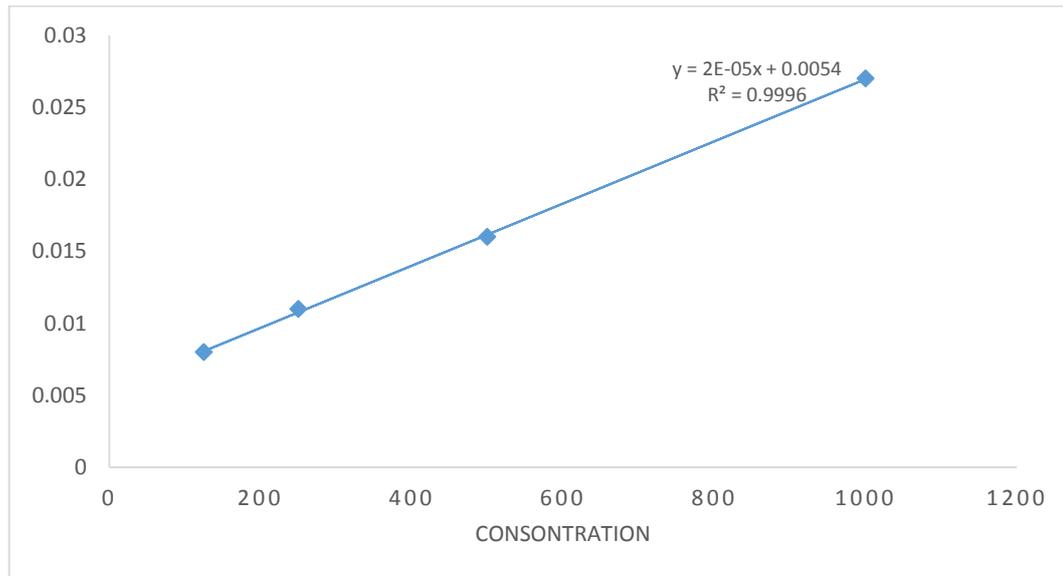


Figure D: Courbe d'étalonnage de teste anti-inflammatoire

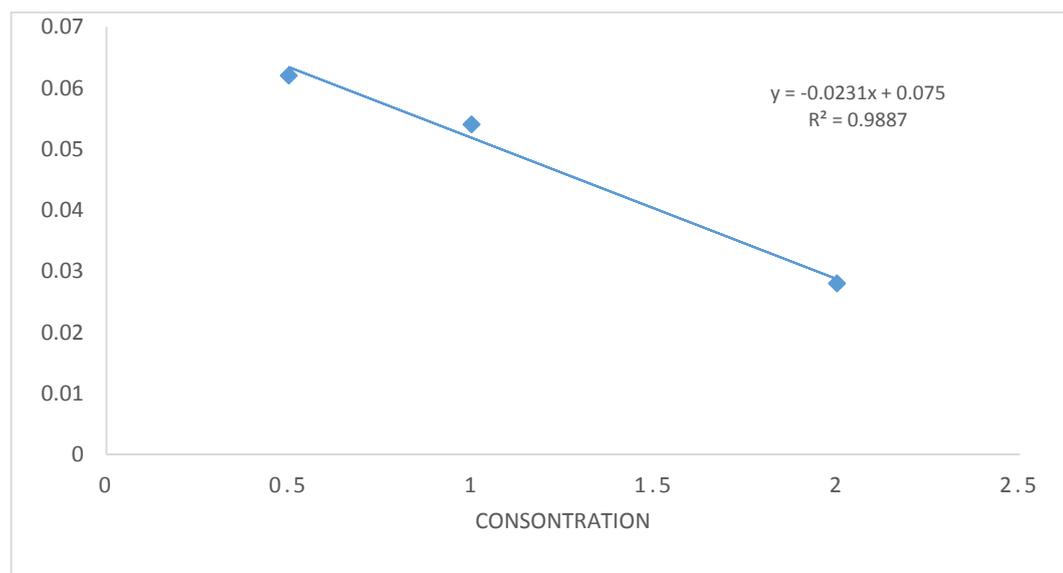


Figure E: Courbe d'étalonnage de teste anti-hémolytique

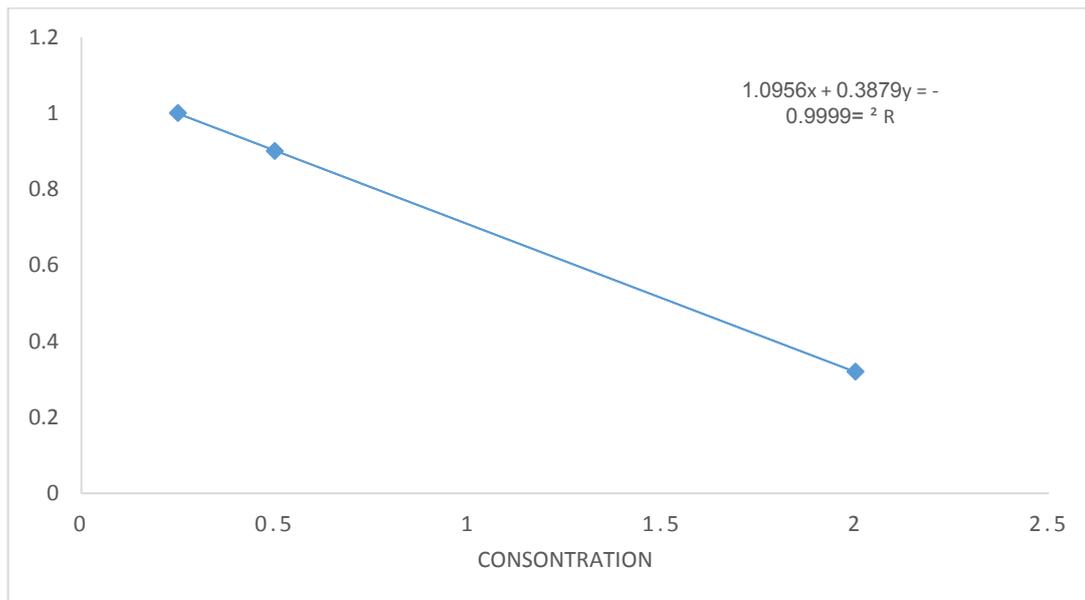


Figure F: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (teste FRAP)

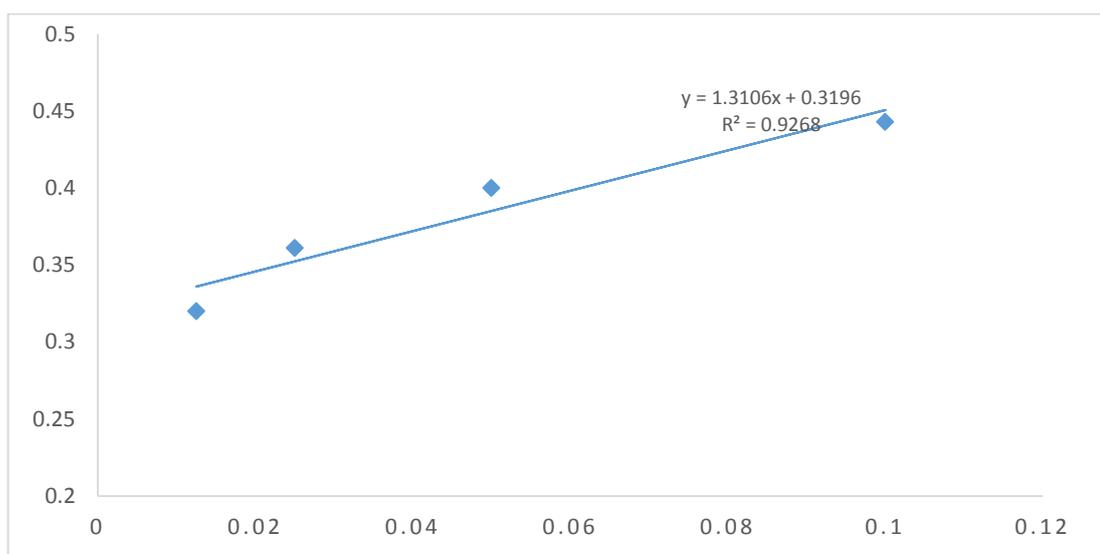


Figure I: Courbe d'étalonnage de teste de blanchissement du B-carotène

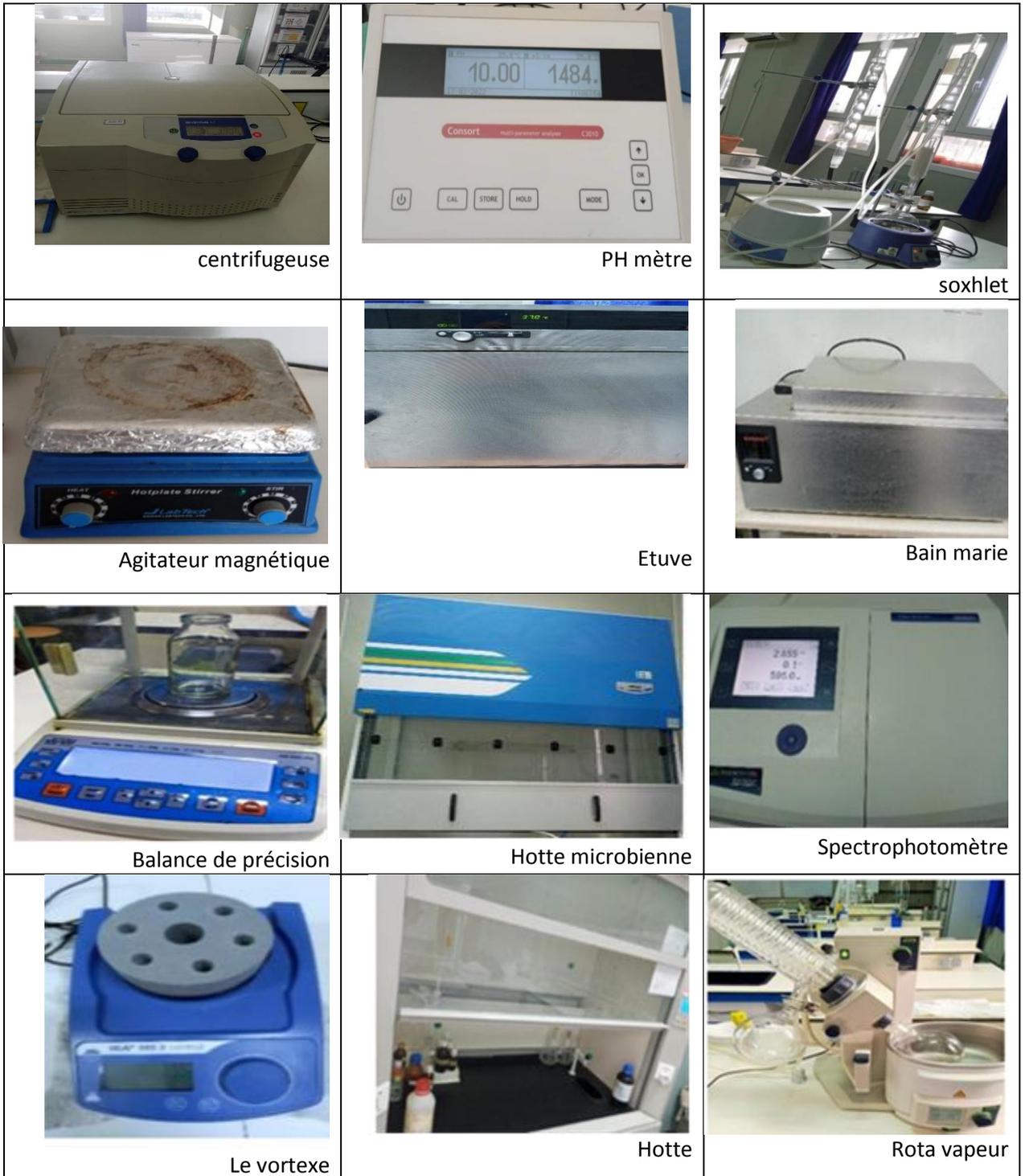


Photo A: Les appareils utilisés au cours de l'expérience

Tableau A: Produits utilisés lors de l'expérimentation et leurs caractéristiques

Produite	Forme	Formule	Masse molaire (g/mol)	Densité	Pureté %
Ether de pétrole	Liquide	/	/	/	95
Ethanol	Liquide	C ₂ H ₆ O	46.07		96
Méthanol	Liquide	CH ₄ O	32.04	/	99
Acétone	Liquide	C ₃ H ₆ O ₂	58.08	0.790-0.792	
Hydroxyde de Potassium	Solide	KOH	56.11	/	85
Phénol	liquide	C ₆ H ₆ O	94.11		90
Résorcinol	Solide	C ₆ H ₆ O ₂	110.11	/	99.5
Acide sulfurique	liquide	H ₂ SO ₄	98.07	/	98
3Glucose	Solide	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.16	/	1
Hydroxyde de Sodium	Solide	NaOH	40	/	97
Bleu de Coomassie	Solide	C ₄₅ H ₄₄ N ₃ NaO ₇ S ₂			
Bovine albumine (BSA)	Solide	/		/	
Acide acétique	liquide	CH ₃ COOH	60.05	/	99.5
Citrate de sodium					
Chloroforme	liquide	CHCl ₃	119.38	/	99
Acide trifluoroacétique	liquide	CF ₃ COOH	114.02	1.49	99
Chlorure de sodium	Solide	NaCl	58.44	/	100
DPPH	Solide	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	394	/	/
Solution Tompan	Liquide			/	/
Ferricyanure de Potassium	Liquide			/	/
Solution aqueuse	Liquide			/	/
Acide Ascorbique	Solide	C ₆ H ₈ O ₆		/	99

Tableau B: Matrice de corrélation (**R**: rendement massique, **Ot**: oses totaux, **On**: oses neutres, **Oa**: oses acides, **TCA**: test de céphaline activée, **Ant Inf**: Anti Inflammatoire, **DPPH**: test 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle, **FRAP**: test de Test de Ferric Reducing Antioxydant Power, **Pr**: Protéine, **BC**: activité β -carotène, **AcH**: activité anti Hémolyse)

	R	OT	ON	Oa	Pr	FRAP	Dpph	ANT INF	TCK	B.C	AcH
R	0.000	.8770	.8740	.8670	.8940	.2140	.1660	.1470	.8010	.13500	.9480
OT	.8770	0.000	.9980	.9910	.9850	0.089	.0420	.0230	.6770	.0100	.8240
ON	0.874	0.998	0.000	0.994	0.982	0.086	0.039	0.020	0.674	0.007	0.821
Oa	0.867	0.991	0.994	0.000	0.974	0.079	0.032	0.013	0.667	0.000	0.813
Pr	0.894	0.985	0.982	0.974	0.000	0.106	0.059	0.040	0.694	0.027	0.841
FRAP	0.214	0.089	0.086	0.079	0.106	0.000	0.954	0.935	0.414	0.923	0.267
DPPH	0.166	0.042	0.039	0.032	0.059	0.954	0.000	0.983	0.366	0.970	0.220
ANT INF	0.147	0.023	0.020	0.013	0.040	0.935	0.983	0.000	0.348	0.989	0.201
TCK	0.801	0.677	0.674	0.667	0.694	0.414	0.366	0.348	0.000	0.335	0.855
B.C	0.135	0.010	0.007	0.000	0.027	0.923	0.970	0.989	0.335	0.000	0.188
AcH	0.948	0.824	0.821	0.813	0.841	0.267	0.220	0.201	0.855	0.188	0.000

This is a di similarity matrix