

CARACTÉRISATION PARTIELLE DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES DES FEUILLES D'*Asphodelus tenuifolius* CAVAN (LILIACEAE): EFFET PRÉBIOTIQUE DES OLIGOSACCHARIDES ISSUS DE L'HYDROLYSE DES POLYSACCHARIDES

BOUAL Zakaria^{1*}, KEMASSI Abdellah¹, MICHAUD Philippe²
et OULD EL HADJ Mohammed Didi^{1,3}

⁽¹⁾Laboratoire Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-Arides
Université Kasdi Merbah-Ouargla, BP 511 Ouargla 30000 Algérie, Email: biozakaria@yahoo.fr

⁽²⁾Laboratoire des Glucides (EPMV) CNRS FRE2779, IUT/GB, UPJV, Avenue des Facultés
Le Bailly 80025 Amiens Cedex, France

⁽³⁾Laboratoire de Biogéochimie des Milieux Désertiques, Université Kasdi Merbah-Ouargla
BP 511 Ouargla 30000 Algérie

Résumé- Les polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*Asphodelus tenuifolius* Cavan (Liliaceae), une plante spontanée à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien), sont obtenus par extraction à l'eau distillée, à la température ambiante pendant 24 heures, après élimination des extraits éthanoliques. Leur précipitation est faite par l'éthanol à 75%. Le rendement massique de l'extrait polysaccharidique est de 0.65%. La composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles après lyophilisation, donne 18.33±2.08% d'humidité, 23.66±1.52% de cendres totales, 26.13±0.37% de protéines totales, et 28.96±1.12 d'oses totaux. Parmi les oses, 67.50±0.94% sont des oses neutres et 32.49±0.26% des oses acides. L'hydrolyse des polysaccharides par l'acide trifluoroacétique à 4 M durant 5 heures à 80°C, laissent remarquer après analyse par chromatographie sur couche mince (CCM), que les polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* sont des hétéropolysaccharides acides. L'analyse par chromatographie échangeuse d'anions de haute performance à détecteur ampérométrique pulsé (HPAEC-PAD) des oses constitutifs montre une prédominance de mannose à 39.25% et de glucose à 31.55%, suivie de 10.92% de l'acide glucuronique et 8.9% d'arabinose. Le rhamnose et le xylose sont présents à faible pourcentage, soit 5.22% et 4.14% respectivement. L'hydrolysats partiel de l'extrait stimule de manière significative pour 0,1 DO après 24 heures, la croissance de *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* et l'action prebiotique des oligosaccharides issus de ces hydrolysats sur cette souche est notable.

Mots clés: Polysaccharides, *Asphodelus tenuifolius*, médicinal, oligosaccharides, prebiotic.

PARTIAL CHARACTERIZATION AND PREBIOTIC EFFECT OF WATER SOLUBLE POLYSACCHARIDES EXTRACTED FROM ONE SAHARIAN MEDICINAL PLANT: *Asphodelus tenuifolius* CAVAN (LILIACEAE)

Abstract- *Asphodelus tenuifolius* Cavan. (Liliaceae), a spontaneous plant used as a traditional medicine in Ghardaïa (Septentrional Sahara Algerian). This paper reports the extraction and partial characterization of water-soluble polysaccharides from *A. tenuifolius* leaves. These polysaccharides were obtained by elimination of the ethanol extract and sequential extraction in distilled water, followed by precipitation in 75% ethanol. The yield of extract is 0.65% (w/w). The crude water soluble polysaccharide extracts were further characterized and revealed the average values 18.33±2.08% moisture, 23.66±1.52% ash, 26.13±0.37% proteins and 28.96±1.12% carbohydrates, among them 32.49±0.26% are uronic acid and 67.50±0.94% are neutral monosaccharides. The acid hydrolysis 4M TFA at 80°C for 5 h is suggested to be more effective in releasing monomers. Thin layer chromatography (TLC) analysis of hydrolysats shows that the extract is constituted of heteropolysaccharides acid. The identification of monosaccharide composition by high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) method shows 39.25% of mannose, 31.55% of glucose, 10.92% of glucuronic acid, 8.9% of arabinose, 5.22% of rhamnose and 4.14% of xylose. The partial hydrolysate stimulate significantly for 0,1 DO after 24 hours, the multiplication of *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* and prebiotic effect of the oligosaccharides from these hydrolysates on this are very likely.

Keywords: Polysaccharides, *Asphodelus tenuifolius*, medicinal, oligosaccharides, prebiotic.

Introduction

Les herbes officinales, contenant des polysaccharides sont largement utilisées pour le traitement des maladies dans la médecine traditionnelle et moderne, comme *Linum usitatissimum* (lin), utilisé dans le cas de la constipation ou de troubles fonctionnels du colon, action émolliente et calmante (anti-inflammatoire) d'*althaea rosea*, activité hypoglycémique d'*Hibiscus moscheutos*, etc. Ces espèces appartiennent à des familles botaniques caractéristiques, comportant des cellules spécialisées, dites cellules mucilagineuses ou cellules à mucilages sécrétrices de polysaccharides. Ces cellules sont présentes dans différents organes végétaux [1].

Depuis plusieurs années, un regard particulier est porté sur la recherche de nouvelles sources de molécules végétales, afin de mettre au point de nouveaux principes actifs ou de découvrir des analogues de structures des molécules existantes [2]. Cependant, la flore spontanée à caractère médicinal du Sahara Septentrional Est algérien, ainsi que les relations entre l'homme dans cette bande aride, et les espèces végétales méritent une attention particulière dans cette zone saharienne.

Face à ce constat, le présent travail est une étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes spontanées [3], à caractère médicinal de la région de Ghardaïa. L'objectif recherché, vise une contribution pour élargir le spectre des composés biologiques actifs, et d'identifier de sources de polysaccharides et d'oligosaccharides qui pourront devenir des substituts de drogues synthétiques.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Matériel végétal

Asphodelus tenuifolius (Liliaceae), est une plante spontanée très utilisé dans la médecine traditionnelle par la population de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien) en tisane, en poudre et en pommade pour les traitements des fièvres, des indigestions, des constipations et des lésions cutanées [4]. Les feuilles d'*A. tenuifolius*, récoltées de l'Oued Nechou (région de Ghardaïa) en Mars 2008. Les feuilles sont séchées à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre et à température ambiante [5]; durant trois semaines. Les feuilles ainsi séchées sont conservées dans des boîtes dans un milieu sec à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse.

1.2.- Etude des polysaccharides

1.2.1.- Extraction des polysaccharides

Les feuilles séchées sont écrasées et prétraitées par de l'éthanol 75% durant 5 heures, à température ambiante et sous agitation douce; puis filtrées à travers un filtre de porosité 100 µm, afin d'éliminer les composés solubles dans l'éthanol, tels que les polyphénols, les oligosaccharides, les oses simples et les acides aminés [6]. Le résidu des feuilles prétraitées, est séché une seconde fois à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre et à la température ambiante pendant 48 heures [7]. Les feuilles ainsi séchées sont macérées dans 2 volumes de l'eau distillée froide, pendant 24 heures à la température ambiante. Le mélange est filtré à travers un filtre de porosité 100 µm. Le filtrat est concentré à 60°C jusqu'à l'obtention du 1/3 du volume initial, dans un évaporateur rotatif. Les polysaccharides du concentrât sont précipitées à l'aide de

3 volumes d'éthanol à 75% pendant 24 heures à une température de 4°C [7]. Après centrifugation à 3560g pendant 10 mn [8, 9], le culot est récupéré puis lavé 3 fois par éthanol à 75% [7], avant d'être lyophilisé [10]. Le lyophilisat obtenu, représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles, pour l'étude de la composition qualitative et quantitative des polysaccharides bruts.

1.2.2.- Composition des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles

Les principaux constituants chimiques de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles sont caractérisés par des réactions de coloration. Il s'agit du taux de protéines, de la teneur en oses constitutifs, neutres, acides, de l'humidité relative et des cendres.

L'humidité est déterminée par une dessiccation de l'extrait brut à la température de 103±2°C dans une étuve à la pression atmosphérique, jusqu'à masse constante [10]. Les cendres totales sont déterminées par incinération de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles lyophilisé dans un four à moufle électrique de type Heraeus 6072. La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Bradford [11]. La concentration en protéines est obtenue par référence avec une gamme étalon de sérum albumine bovine, après coloration au bleu de Coomassie [11]. Le dosage des oses constitutifs des polysaccharides repose sur la réaction des dérivés furfuriques obtenus par action à chaud, d'un acide concentré comme l'acide sulfurique (H₂SO₄), pour divers composés aromatiques, telle que le résorcinol (1,3-dihydroxybenzène) pour le dosage des oses neutres [12], et le méta-hydroxydiphényle pour le dosage des acides uroniques [13]. La concentration en oses neutres est obtenue par référence à une gamme étalon d'arabinose et celle des oses acides avec une gamme étalon d'acide glucuronique [12].

1.2.3.- Caractérisation des polysaccharides

1.2.3.1.- Chromatographie sur couche mince des oses constitutifs des polysaccharides

Afin de déterminer la composition osidique d'un polysaccharide, on procède à son hydrolyse [14].

- **Hydrolyse des liaisons glycosidiques:** 25 mg de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles lyophilisés des feuilles d'*A. tenuifolius* est hydrolysé par 2 ml d'acide trifluoroacétique 4 M, à 80°C pendant 5 heures, dans des tubes fermés [14]. Après refroidissement, l'hydrolysate est centrifugé à 2000 g pendant 5mn. Le surnageant est récupéré. L'acide est évaporé à l'aide d'un dessiccateur sous vide. Une fois l'hydrolyse effectuée, les monosaccharides libérés, sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM).

- **Préparation des solutions standard:** 25 mg de chaque ose dont le galactose, l'arabinose, le glucose, le xylose, le mannose, le fructose et l'acide glucuronique, est dissous dans 2,5 ml d'eau distillée.

- **Types des plaques :** Ce sont des plaques prêtes à l'emploi, de gel de silice (Silica gel 60 F254) de 0.25 mm d'épaisseur sur feuille de verre.

- **Préparation de phase mobile :** Elle est constituée de butanol- acide acétique-eau dans les proportions de 2-1-1 [15].

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

1.2.3.2.3.- Caractérisation quantitative des résidus glycosidiques par HPAEC-PAD

La chromatographie échangeuse d'anions haute performance à détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD) permet de confirmer les compositions en oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles et donner les pourcentages en oses. Les différents oses sont identifiés par leur temps de rétention spécifique et quantifiés après intégration du signal (Chromleon management system Dionex) par comparaison avec les monosaccharides de référence [1].

- **Préparation des échantillons:** Les polymères (3 mg, 0.6% m/v) sont placés dans des tubes hermétiques pour être hydrolysés à l'acide trifluoroacétique 4 M pendant 5 heures à 80°C dans un bain Marie à sec thermostaté. Ils sont ensuite lyophilisés et remis en solution dans 1 ml d'eau distillée.

- **Application d'HPAEC-PAD:** Il est injecté 25 µl de l'échantillon dans une colonne de type CarboPac PA 1 avec un débit d'élution de 1 ml.mn⁻¹ à l'aide d'un système isocratique d'une solution de NaOH 16 mM pendant 10mn suivie d'un gradient d'acétate de sodium 600 mM en 4 étapes, dont pour les premières 10mn à 0% de B-100% de A, puis de 10 à 40 mn à 0% à 100% de B, puis 40 à 45 mn à 100% de B et en fin de 45 à 60 mn de 100 à 0% de B.

1.2.4.- Effet prébiotique des hydrolysats partiels des polysaccharides sur *Klebsiella pneumoniae pneumoniae*

Effet prébiotique, c'est un terme désigne des additifs ou des compléments alimentaires non digestibles qui affectent de façon bénéfique l'hôte en stimulant sélectivement la croissance ou l'activité de certaines bactéries intestinales [16]. Les oligosaccharides issus de dégradation de polysaccharides naturels comme les fructooligosaccharides, les galacto-oligosaccharides, et les arabinogalactooligosaccharides sont étudiés pour leur action prébiotique [17]. Il est testé l'activité des oligosaccharides issus de l'hydrolyse partielle des 3 extraits polysaccharidiques.

1.2.4.1.- Hydrolyse partiel des polysaccharides

10 mg de chaque extrait brut de polysaccharides hydrosolubles lyophilisé est hydrolysé par 2 ml d'acide trifluoroacétique 2 M, à 80°C pendant 3 heures, dans des tubes fermés. Après refroidissement, l'hydrolysate est centrifugé à 2000 g pendant 5mn. Le surnageant est récupéré. L'acide est évaporé à l'aide d'un dessiccateur sous vide [16].

1.2.4.2.- Matériel biologique

L'activité est testée sur *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* (Enterobactériaceae), bactérie commensale vivant dans le tube digestif de l'homme et des animaux [18].

1.4.4.3.- Milieu de culture

Klebsiella pneumoniae pneumoniae est cultivée sur milieu Trypticase-Soja Bouillon (TSB). Il est constitué de 17 g.l⁻¹ peptone tryptique de caséine, 3 g.l⁻¹ peptone papainique de soja, 2,5 g.l⁻¹ de glucose, 5 g.l⁻¹ de NaCl et de 2,5 g.l⁻¹ de phosphate dipotassique. Le milieu est autoclavé à 120°C pendant 15 mn. Le pH final est ajusté à 7,3 [19].

- Mesure de l'activité biologique: L'activité prébiotique est définie après 24 heures de contact à 37°C, une croissance bactérienne, mesurée par absorbance à la longueur d'onde de 620 nm, supérieur de 0,1 DO par rapport au témoin négatif (milieu de culture sans addition d'oligosaccharides) [16].

Il est distribué dans un premier temps, dans une série d'écouvillons stériles sur un volume de 1 ml de milieu de culture, des concentrations décroissantes de l'hydrolysate, en régression de 1/2, l'écouvillon représente l'étalon est constitué seulement d'un millilitre (1ml) de milieu de culture. Puis il est ajouté dans chaque écouvillon 1 ml de la suspension bactérienne en phase exponentielle de croissance, diluée de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10⁶ bactéries/ ml [20]. 24 heures après culture à 37°C, les mesures des absorbances à 620 nm sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre de type Clinical Chemistry System RA-50 contre une référence constituée de milieu de culture stérile.

2.- Résultats et discussions

Le rendement de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* par rapport à la matière sèche est de 0,65%. Il semble faible par rapport à celle d'*Opuntia ficus indica* (Liliaceae), soit 1,33% [9]. SEPULVEDA et al. (2007), signalent 4,9±0,6% d'humidité dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles de cladodes d'*Opuntia ficus indica* (Liliaceae), alors qu'*A. tenuifolius* renferme 18,33±2,08% [10]. KARDOSOVA et MACHOVA (2006) notent dans l'extrait de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*Aloe barbadensis* (Liliaceae) 27,9% de cendres. Il est remarqué dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* 23,66±1,52% [20]. La teneur moyenne en protéines de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* est de 26,13±0,37%. SEPULVEDA et al. (2007), notent 14,2% de protéines dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des cladodes d'*Opuntia ficus indica* (Liliaceae), paraît inférieur à celle d'*A. tenuifolius* soit 26,13±0,37% [8]. La teneur moyenne de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* en oses totaux est de 28,96±1,12%. Parmi les oses, 67,50±0,94% sont des oses neutres et 32,49±0,26% des oses acides (tab. I). Il est trouvé 79,95±2,12% d'oses totaux dans l'extrait polysaccharidique des feuilles d'*Aloe barbadensis* (Liliaceae) [21]. Cette valeur semble très élevée de celle obtenue chez *A. tenuifolius* soit 28,96±1,12%. Le pourcentage des oses acides dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles de feuilles d'*A. tenuifolius* soit 32,49±0,26%, est supérieur à celle de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de feuilles d'*Aloe barbadensis* (Liliaceae) soit 14,04±0,32% [21]. Le rapport des pourcentages (oses acides/oses neutres) pour l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* est de 0,47, semble élevé au vu de celle d'*Aloe barbadensis* (Liliaceae), soit 0,22 [21].

L'emploi d'une solution d'acide trifluoroacétique 4 M, conduit à une hydrolyse significative d'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles. L'allure générale des taches de la figure 1, après 5 heures, montre une similitude des profils chromatographiques, qui semble montrer la fragilité des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *A. tenuifolius*. Après 3 heures, se note l'éclaircissement de la première large tache de R_f 0,08 pouvant, s'expliquer par la dégradation des fragments d'oligosaccharides suite à la durée de l'hydrolyse. Il se remarque une progression de l'intensité des taches correspondant aux oses simples, de R_f 0,41 ; 0,45 et 0,30. Ceci traduit l'hydrolyse des liaisons osidiques spécialement les liaisons uronosidyles et la libération des oses simples. KAMERLING et *al.* (2007) signalent que les liaisons uronosidyles sont extrêmement stables [22]. La détermination de la composition en oses constitutifs par CCM, montre une hétérogénéité et une diversité des oses neutres et acides, pentoses et hexoses. L'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius*, renferme des hétéropolysaccharides acides. Ils sont constitués d'arabinose, de glucose, de xylose, d'acide glucuronique et probablement de galactose et de mannose (fig. 1).

Tableau I.- Composition de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius*

Humidité (%)	Cendre (%)	Protéines (%)	Teneur en oses (%)		
			Neutres	acides	totales
18,33 ± 2,08	23,66 ± 1,52	26,13±0,37	15,50±0,62	12,67±0,42	28,18±0,94

La figure 2 laisse apparaître les résultats d'analyse par HPAEC-PAD de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius*. Le profil des oses montre une prédominance de mannose à 33,45% et de glucose à 26,89%, suivie de 9,31% de l'acide glucuronique et 7,59% d'arabinose. Le rhamnose et le xylose sont présents en faible pourcentage avec 4,45% et 3,53% respectivement. Le rapport des pourcentages des oses majeurs d'*A. tenuifolius* pour Man/Ara est de 4,40; Glc/Ara de 3,54; Glc.A/Ara de 1,22; donc on peut l'exprimer par Man /Glc /Glc.A /Ara, soit 4,40 /3,54 /1,22 /1,0.

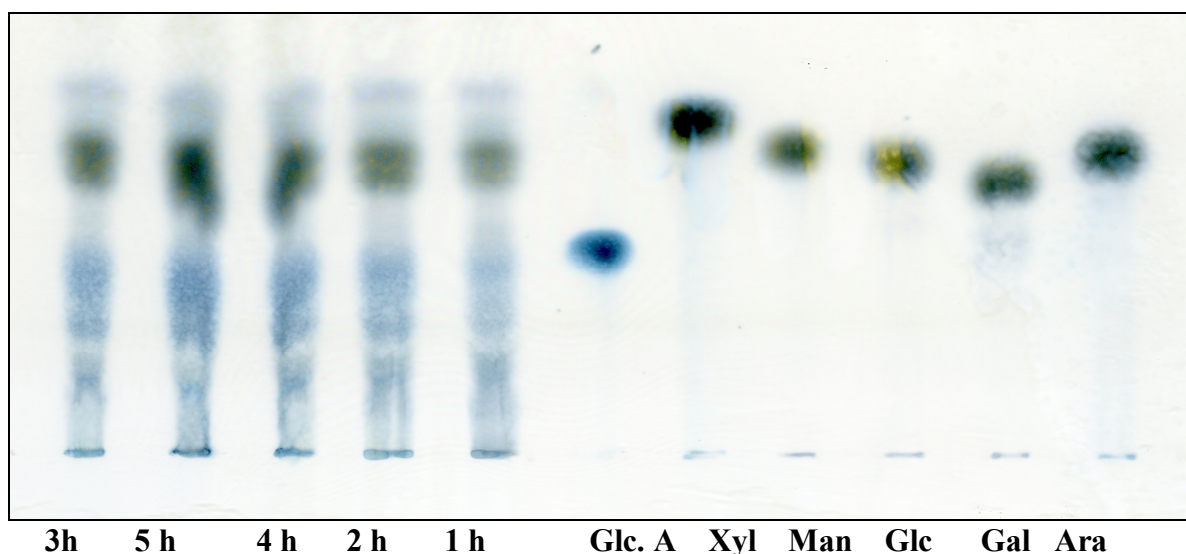


Figure 1.- Suivi par CCM de l'hydrolyse par l'acide trifluoroacétique 4 M à 80°C, en fonction du temps (heure) de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles feuilles d'*A. tenuifolius*

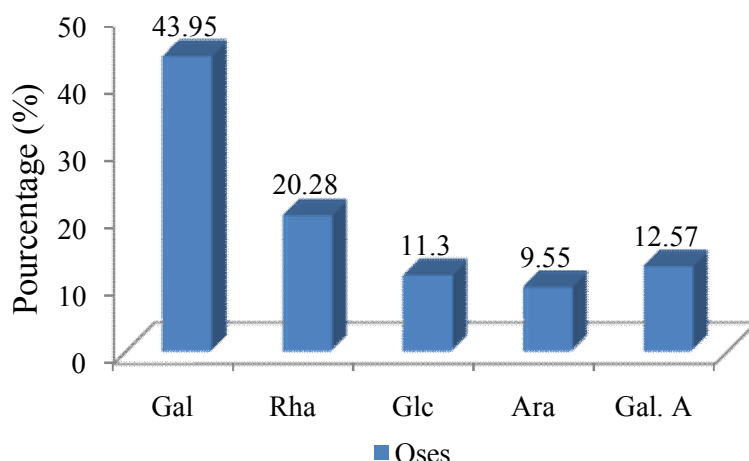


Figure 2.- Composition en oses de l'hydrolysate de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* effectué par HPAEC-PAD

Les hydrolysats partiels des polysaccharides hydrosolubles de feuilles d'*A. tenuifolius*, dans une moindre mesure, engendrent une amélioration de la croissance de *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* comparativement aux témoins (milieu de culture sans addition d'oligosaccharides) (fig. 3). Les hydrolysats partiels d'*A. tenuifolius*, montrent une croissance fluctuante, pour les faibles concentrations et n'est effective qu'à partir de 0,166 mg/ml. Les fluctuations à des faibles concentrations de la multiplication dans les milieux de culture contenant des hydrolysats partiels des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* révèlent les perturbations métaboliques consécutives au changement de source carbonée [23]. GENESTIE [16] attribue un caractère prébiotique à la préparation oligosaccharidique testée dès lors que celle-ci engendre un accroissement de 0,1 DO après 24 heures de culture, comparativement aux valeurs mesurées sur témoin négatif (milieu de culture sans addition d'oligosaccharides) pour certaines bactéries intestinales. Cela est remarqué seulement à 0,333 mg/ml.

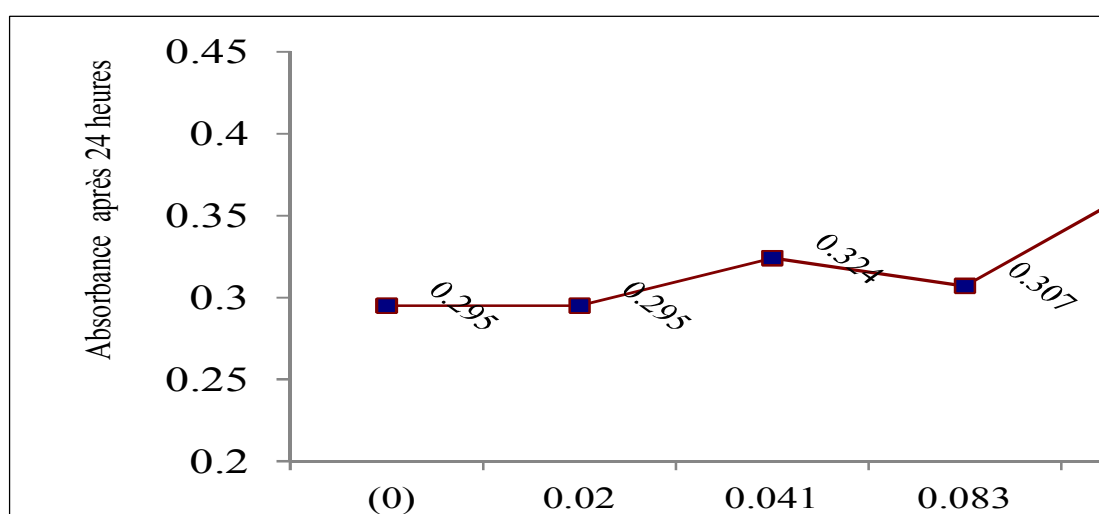


Figure. 3.- Croissances de *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* après 24 heures en milieu de culture supplémenté par les hydrolysats à différentes concentrations (absorbances à 620 nm)

3.- Conclusion

L'hydrolyse par l'acide trifluoroacétique, durant 5 heures à 80°C semble donner les meilleurs résultats, de l'étude des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* après élimination des extraits éthanoliques, à la température ambiante pendant 24 heures. La composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles après lyophilisation, montre que les oses neutres dominent comparativement aux oses acides. L'humidité semble élevée, résultant de l'effet hygroscopique des polysaccharides après lyophilisation, d'où la nécessité d'avoir des techniques de conservation plus adéquates. Les protéines restent le deuxième constituant majeur dans les extraits bruts des polysaccharides hydrosolubles, par leur co-précipitation avec les polysaccharides par l'éthanol. L'analyse qualitative par CCM de la composition en oses des polysaccharides hydrosolubles montre une hétérogénéité et une diversité des oses; neutres et acides, pentoses et hexoses. L'analyse par HPAEC-PAD de la composition en oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles, issus des feuilles d'*A. tenuifolius*, montre une prédominance de mannose et de glucose. Le rhamnose et le xylose sont présents en faible proportion. L'action prébiotique des oligosaccharides issus des hydrolysats partiels des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*A. tenuifolius* sur *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* est appréciable.

Références

- [1].- Warand J., 2004.- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitatissimum*). Thèse de doctorat de l'université de Picardie Jules Verne, 238 p.
- [2].- Deters A. M., Lengsfeld C. et Hensel A. 2005.- Oligo- and polysaccharides exhibit a structure-dependent bioactivity on human keratinocytes in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 102: 391-399.
- [3].- Ozenda P., 1983.- Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 617 p.
- [4].- Hammiche H. et Maiza K., 2006.- Traditional medicine in central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'Ajjer. *Journal of ethnopharmacology*, vol. 105: 358-367.
- [5].- Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K. et Maiga A., 2004.- Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Chimie*, vol. 7: 1073-1080.
- [6].- Wu Y., Cui S. W., Tang J., Wang Q. et Gu X., 2007.- Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds. *Carbohydrate polymers*, vol. 70: 437-443.
- [7].- Ebriverova A., Kardosova A., Hromadkova Z. et Hribalova V., 2003.- Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, vol. 74: 52-61.
- [8].- Sepulvera E., Saenz C., Aliaga E., et Aceituna C., 2007.- Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of arid environments*, vol. 68: 534-545.

- [9].- Biriganine G., Vray B., Vercruyssen V., Vanhaelen-Fastre R., Vanhaelen M. et Duez P., 2004.- Polysaccharides extracted from the leaves of *Plantago palmata* Hook induce nitric oxide and tumor necrosis factor- α production by interferon- γ -activated macrophages. Nitric oxide, vol. 12: 1-8.
- [10].- Audigie C., Figarella J. et Zonszain F., 1984.- Manipulations d'analyse biochimique. Ed. doin, Paris: 3-4.
- [11].- Autran J. C., 1991.- Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc, Paris: 115-137.
- [12].- Monsigny M., Petit C. et Roche A. C., 1988.- Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. Analytical biochemistry, vol. 175: 525-530.
- [13].- Blumenkrantz N. et Asboe-Hansen G., 1973.- New method for quantitative determination of uronic acids. Analytical biochemistry, vol. 54: 484-489.
- [14].- Ruiz G., 2005.- Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat de l'université de Limoges: 36-38.
- [15].- Paulsen B. S., Olafsdottir E. S., et Ingolfssdottir K., 2002.- Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. Journal of chromatography a, vol. 967: 163–171.
- [16].- Genestie B., 2006.- Optimisation de la production d'arabinoxyloligosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales: approches méthodologiques. Thèse de doctorat de l'université de Limoges: 30-50.
- [17].- Delattre C., 2005.- Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat de l'université de Picardie Jules Verne, Valois Santerre: 5-10.
- [18].- Berche P., Gaillard J. L., Simonet M., 1988.- Bactériologie. Flammarion, Paris: 595-599.
- [19].- Marchal N., Bourdon J. L., Richard Cl., 1987.- Les milieux de culture. Ed. Doin, Paris, 36 p.
- [20].- Kardosova A. et Machova E., 2006.- Antioxidant activity of medicinal plant polysaccharides. Fitoterapia, vol. 77: 367–373.
- [21].- Femenia A., Sanchez E. S., Simal S. et Rossello C., 1999.- Compositional features of polysaccharides from Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. Carbohydrate polymers, vol. 39: 109–117.
- [22].- Kamerling L., Boons G. L., Lee Y. C., Suzuki A., Taniguchi N. et Voragen A., 2007.- Comprehensive glycoscience. Ed. Elsevier, vol. 2, Paris: 654-681.
- [23].- Lambin S. et German A., 1969.- Précis de microbiologie. Ed. Masson et c^{ie}, Paris, 515 p.