

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université KASDI MERBAH OUARGLA**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Biologiques**



**Mémoire**  
**MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biochimie appliquée**

**Thème**

***Caractérisation biochimique et activités  
biologiques d'une fraction glucidique des  
graines de Coton***

**Présentée Par : ZATOUT Rabab**

**Soutenue publiquement le 30 Juin, 2021**

**Devant le jury**

<b>Président</b>	OULD EL HADJ Mohamed Didi	Professeur	Université Kasdi Merbah-Ouargla
<b>Encadrant</b>	OULD EL HADJ – KHELIL Aminata	Professeur	Université Kasdi Merbah-Ouargla
<b>Co-Encadrant</b>	RAHIM Oumelkheir	MCA	Université Kasdi Merbah-Ouargla
<b>Examineur</b>	ANNOU Ghania	MCB	Université Kasdi Merbah-Ouargla

**Année Universitaire : 2020/2021**

## *Remerciements*

*Je tiens tout d'abord à remercier « ALLAH » le tout puissant, le très généreux et l'omniscient qui m'a ouvert les portes du savoir et m'a donné la force et la capacité pour réaliser ce modeste travail.*

*Je suis particulièrement honorée d'être encadrée par Pr. Ould El Hadj -Khelil Aminata, je vous remercie d'avoir accepté de m'encadrer mais aussi pour vos mots aussi rassurants et motivants.*

*Mes profonds et sincères remerciements vont à Dr. RAHIM Oumelkheir d'avoir accepté de me suivre étape par étape et d'être toujours présente malgré ses obligations et préoccupations.*

*Je tiens à remercier le Pr. Ould El Hadj Mohamed Didi d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance et de me donner la chance d'être orienté par ses conseils judicieux.*

*Je tiens à remercier Dr. ANNOU Ghania d'avoir accepté d'examiner ce mémoire et pour ses efforts pour nous assurer une bonne formation cette année.*

*Je tiens à remercier M. Belkhalifa Hakim, responsable de la plateforme d'analyses physicochimiques de Ouargla pour son bon accueil, sa gentillesse et sa compréhension. Sans oublier M. Rahmani Youcef pour son aide inconditionnel, M. Bouricha et son équipe, M. Hanni, M. Walid, M. Messai et Mme. Halima et tout le personnel de CRAPC ; Vous étiez correct, vous ne m'avez jamais privé de votre aide mais surtout pour la sensation d'être chez soi et l'ambiance de la famille.*

*Enfin je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail surtout ma famille et mes amis qui grâce leurs prières et leurs encouragements, j'ai pu surmonter tous les obstacles.*

*Z. Rabab*

*“To those without whom I  
Wouldn't have accomplish this work,  
Mom & Dad”*

## Table des matières

<b>Remerciements</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des photos</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>3</b>
<b>I. Généralités sur le coton .....</b>	<b>4</b>
<b>II. Déchets de l'industrie du coton et son utilité actuelle .....</b>	<b>5</b>
<b>III. Substances chimiques extractibles du cotonnier et leur distribution dans la           plante.....</b>	<b>6</b>
<b>IV. Potentialités phytochimiques utiles aux secteurs pharmaceutique et agricole.....</b>	<b>7</b>
<b>V. Généralités sur les polysaccharides .....</b>	<b>9</b>
<b>VI. Applications dans le domaine agro-alimentaire.....</b>	<b>9</b>
<b>VII. Applications dans le domaine pharmaceutique et biomédicale.....</b>	<b>9</b>
<b>VIII. Les polysaccharides, un moyen de valorisation des sous-produit agricole.....</b>	<b>10</b>
<b>MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>11</b>
<b>I. Principe de l'étude.....</b>	<b>12</b>
<b>II. Matériels.....</b>	<b>12</b>
<b>II.1. Matériels</b>	
<b>biologique .....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.1. Matériel végétale .....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.2.Bactéries.....</b>	<b>13</b>
<b>II.2. Produits, appareillages et consommables .....</b>	<b>13</b>
<b>III. Méthodes.....</b>	<b>15</b>
<b>III.1. Préparation de l'échantillon.....</b>	<b>15</b>
<b>III.2. Extraction des polysaccharides à partir des graines du coton.....</b>	<b>16</b>
<b>III.3. Caractérisation biochimique des polysaccharides.....</b>	<b>19</b>

III.3.1. Dosage des oses totaux.....	19
III.3.2. Dosage des oses neutres.....	20
III.4. Caractérisation des monosaccharides par chromatographie sur couche mince (CCM).....	22
III.5. Etude des activités biologiques.....	24
III.5.1. Activité antibactérienne.....	24
III.5.2. Activité anti-oxydante.....	24
RESULTATS ET DISCUSSION.....	26
I. Rendements .....	27
1. Rendements d'égrenage.....	27
2. Rendements d'extraction des polysaccharides.....	27
II. Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble.....	29
III. Caractéristiques des polysaccharides révélés par CCM.....	31
IV. Activités biologiques des polysaccharides.....	35
1) Activité antibactérienne.....	35
2) Activité anti-oxydante.....	36
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	39
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	40
ANNEXES.....	43
RESUME	

## Liste des abbréviations

Abbréviation	
A	Absorbance
ATCC	American type culture collection
BHA	ButylHydroxyAnisole
BHT	ButylHydroxyToluène
CGT	Déchets d'égrenage du coton
DO	Densité optique
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EE	Ecorce externe
Et	Etalon
EtOH	Ethanol
FAO	Food and Agriculture Organisation
HPAEC-PAD	High-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection
IC50	Concentration inhibitrice 50
PHT	Déchets de champ après récolte
PI	Partie interne
ppm	Partie par million
Ps	Polysaccharide
Rf	Rapport frontal
TFA	Acide trifluoroacétique
Vit C	Vitamine C



## Listes des figures

<b>Figure 1.</b>	Organigramme de la transformation du coton, du champ aux produits de l'égrenage	<b>05</b>
<b>Figure 2.</b>	Situation géographique de la zone de récolte.....	<b>12</b>
<b>Figure 3.</b>	Protocoles d'extraction à partir de la fraction interne des graines.....	<b>17</b>
<b>Figure 4.</b>	Protocoles d'extraction à partir de la fraction externe des graines.....	<b>18</b>
<b>Figure 5.</b>	Réduction du radical libre DPPH° par l'agent antioxydant.....	<b>25</b>
<b>Figure 6.</b>	Rendements des polysaccharides et des polyphénols.....	<b>28</b>
<b>Figure 7.</b>	Rendements en oses totaux.....	<b>30</b>
<b>Figure 8.</b>	Rendements en oses neutres.....	<b>30</b>
<b>Figure 9.</b>	Courbes représentant le pouvoir inhibiteur du radical DPPH des différents extraits	<b>36</b>
<b>Figure 10.</b>	Courbe représentant le pouvoir inhibiteur du radical DPPH° de l'acide ascorbique..	<b>38</b>

## Liste des photos

<b>Photo 1.</b>	Capsules ouvertes avec les fibres.....	<b>13</b>
<b>Photo 2.</b>	Broyat des graines du coton <b>A</b> : la partie interne ; <b>B</b> : l'écorce externe.....	<b>15</b>
<b>Photo 3.</b>	Aspects des différentes fractions utilisées.....	<b>29</b>
<b>Photo 4.</b>	Chromatogramme du Système 3, les spots révélés par le nigrum.....	<b>31</b>
<b>Photo 5.</b>	Chromatogramme du Système2 ; <b>A</b> : révélation par lampe UV-visible ; <b>B</b> :..... révélation par le nigrum	<b>32</b>
<b>Photo 6.</b>	Chromatogramme du Système1 ; <b>A</b> : révélation par lampe UV-visible ; <b>B</b> :..... révélation par le nigrum	<b>33</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b>	Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques utilisés	<b>14</b>
<b>Tableau II.</b>	Type et origine des appareils utilisés.....	<b>15</b>
<b>Tableau III.</b>	La gamme d'étalonnage du glucose.....	<b>19</b>
<b>Tableau IV.</b>	Rendements en oses totaux et en oses neutres des différentes fractions.....	<b>29</b>
<b>Tableau V.</b>	Spots révélés par le système 3 et leurs Rf.....	<b>31</b>
<b>Tableau VI.</b>	Spots révélés par le système 2 et leurs Rf.....	<b>32</b>
<b>Tableau VII.</b>	Spots révélés par le système 1 et leurs Rf.....	<b>33</b>
<b>Tableau VIII.</b>	Résultat de l'activité antibactérienne par méthode de diffusion.....	<b>35</b>
<b>Tableau IX.</b>	IC50 des différentes fractions et du l'acide ascorbique.....	<b>37</b>



# **INTRODUCTION**

Bien que cultivé depuis plus de 7000 ans, le cotonnier (*Gossypium spp.*) reste parmi les sources de fibres de textile naturelle et d'huile végétale les plus importantes au monde (1).

Très important sur le plan économique, le cotonnier est cultivé dans plus de 80 pays occupant 2,5 % des terres cultivables dans le monde, principalement pour la production de la fibre (2).

Le coton est décrit comme une plante médicinale en raison des composés chimiques qui en ont été isolés. Un certain nombre de composés trouvés dans le coton jouent des rôles pharmacologiques, y compris des rôles antimicrobiens, anti-inflammatoires, cytotoxiques, anticancéreux et contraceptifs chez les humains et les animaux. Les monoterpènes tels que le myrcène, le pinène, le camphène, le limonène et le sabinène isolés du coton possèdent des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydants et gastro-protectrices (1).

Bien que le coton contienne de nombreux composés chimiques importants, la composition phytochimique reste encore peu connue et les utilisations potentielles de ses autres parties n'ont pas été entièrement explorées.

Afin de valoriser les déchets de l'industrie du coton, plusieurs études ont commencé récemment à se concentrer sur les composés phytochimiques associés aux différentes parties du cotonnier et sur leurs activités biologiques (3).

Trois grandes classes de composés ont été identifiées dans les feuilles, les capsules et les tiges. Parmi ces composés, la plupart sont des terpènes et dérivés, des acides gras et des composés phénoliques tels les flavonoïdes et autres (1).

Parmi les déchets d'égrenage du coton, les graines ont fait l'objet de nombreuses études sur son huile, surtout le gossypol et les métabolites secondaires de ses tourteaux. Les métabolites primaires de la farine déshuilée des graines destinée à l'alimentation de bétail, essentiellement les protéines ont aussi été recherchés. Cependant, la fraction glucidique n'est que peu investiguée et aucune étude, à notre connaissance, n'a fait l'objet des polysaccharides ni des activités de ces co-produits.

Devant cette situation et compte tenu de l'importance des polysaccharides, nous nous sommes intéressées à la valorisation des graines de coton par la recherche de ces composés et l'évaluation de leurs activités antibactérienne et antioxydante.

Notre manuscrit est cindé en deux parties, dans la première, une synthèse bibliographique a été rapportée. La deuxième partie englobe les matérieles et la méthode utilisée dans

l'expérimentation, ainsi que les résultats et leurs discussion. Nous cloturons par une conclusion et les perspectives.

# Synthèse bibliographique

## I. Généralités sur le coton

Le mot « coton » vient de l'arabe « al qutn » qui est devenu « algodon » en espagnol. La plus ancienne preuve de l'utilisation du coton en tant que plante à fibres dans l'ancien monde a été découverte au Pakistan, on estime qu'elle date d'environ 2300 ans avant J.-C.

Comprenant environ 50 espèces, dans les régions arides et semi-arides et les régions tropicales et subtropicales, le cotonnier représente le plus important groupe de plantes à fibres au monde (3).

Le coton (genre *Gossypium* de la classe des *Gossypia*e, dans la famille des *Malvaceae*), peut être divisé en deux types : le coton cultivé et le coton sauvage. Parmi les cinquante espèces déjà citées, seules quatre sont cultivées, à savoir, *G. hirsutum*, *G. herbaceum*, *G. barbadense* et *G. arboreum*. Ces espèces, utilisées à d'autres fins, notamment la production alimentaire et les applications médicales, varient en termes de qualité de la fibre, définie par la longueur, la maturité, la résistance et le micronaire (épaisseur de la paroi cellulaire) de la fibre (2).

Naturellement, le cotonnier est une plante pérenne qui est maintenant cultivée commercialement comme une plante annuelle dans de nombreuses régions du monde. Le bourgeon du coton est la partie la plus utilisée de la plante et constitue la matière première de base pour une large gamme de produits, tels que les textiles, l'huile comestible, le papier, les aliments de bétails et les produits médicaux. Estimée pour ses caractéristiques positives (confort, rétention des couleurs, capacité d'absorption, résistance), la fibre de cette plante est à l'origine de nos habillements les plus appréciés (1,4).

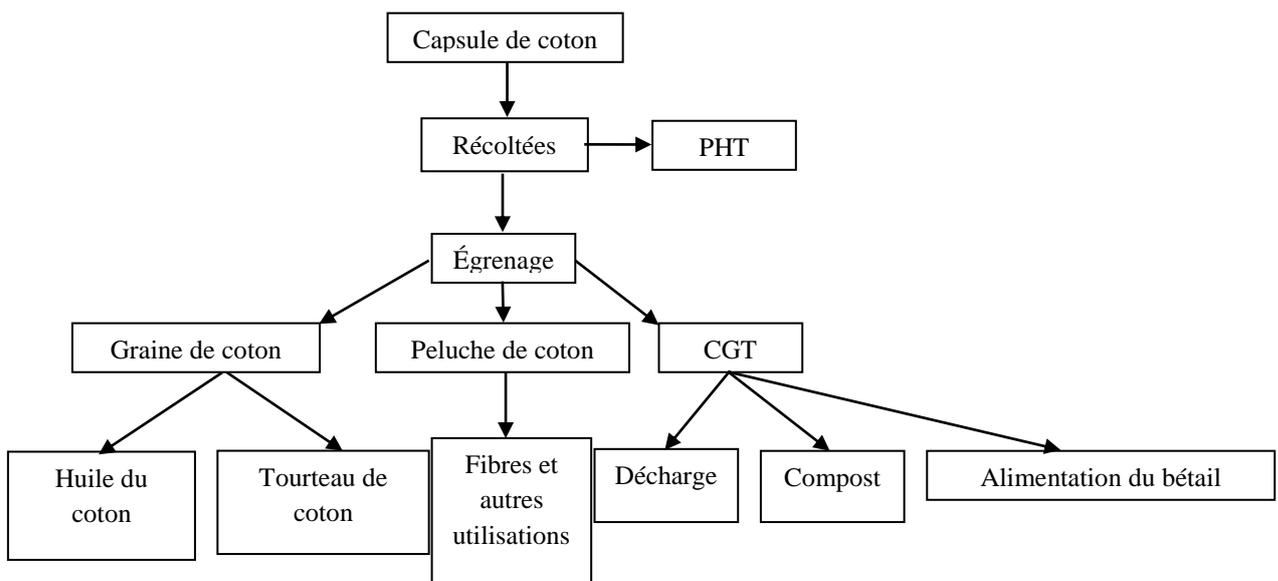
Le coton est composé de cellulose presque pure. Il est cultivé dans environ 80 pays et constitue l'une des cultures les plus répandues dans le monde ; environ 25 millions de tonnes chaque année. La production du coton est à la base de l'économie de plusieurs pays, où environ 10 millions de petits agriculteurs dépendent de ce secteur pour leurs revenus.

Depuis les années 1950, la superficie de la culture du coton est restée relativement constante entre 30 et 36 millions d'hectares. Cependant, sa production mondiale a augmenté de 400%, passant de 6,67 millions de tonnes métriques en 1950/1951 à 26,84 millions de tonnes métriques en 2012/2013. Près de 97% de la production mondiale de coton provient du coton de montagne, *G.*

*hirsutum*, le reste de la production étant constitué de *G. arboreum*, *G. herbaceum*, et *G. barbadense* (5).

## II. Déchets de l'industrie du coton et son utilité actuelle

L'augmentation de la production du coton a entraîné la production de tonnes de déchets après la récolte et le traitement (égrenage), ce qui a contribué à un défi croissant pour leur élimination. Les résidus de biomasse non fibreuse générés par la production et le traitement du coton comprennent les déchets d'égrenage du coton (CGT), les déchets de champ après récolte (PHT) et les graines écrasées dont l'huile a été extraite. Les déchets post-récolte (PHT) sont les parties restantes de la plante laissées sur le terrain, tandis que les CGT sont centralisées dans les égreneuses et se composent principalement de bâtons, de bavures (calice), de feuilles et de terre (Figure 1) (1).



**Figure 1.** Organigramme de la transformation du coton, du champ aux produits de l'égrenage

Les déchets d'égrenage du coton (CGT) sont considérés de moindre valeur avec peu de potentiel de valorisation. Leur gestion est perçue comme une charge financière pour la plupart des opérations d'égrenage. Le CGT a un profil nutritionnel raisonnable composé de matière sèche (90 %) dont 12 % de protéines brutes, 47 % de nutriments digestibles totaux, 11 % de calcium. Il contient également du sodium (121 ppm) et du fer (963 ppm), comme il contribue au bien-être du bétail. Malgré cela, son utilisation a été découragée (et carrément interdite dans certains pays) en

raison de la présence de produits chimiques résiduels utilisés pendant la culture. C'est pourquoi le CGT est largement utilisé comme complément d'engrais et comme composts pour maintenir l'humidité et la composition du sol, ce qui améliore la production agricole (1).

En dépit de leur abondance, les déchets des champs sont généralement considérés comme ayant un faible potentiel de valeur ajoutée et ne sont donc pas une ressource utilisée dans les pratiques agricoles standard. Cependant, ces sous-produits du coton ont apporté aux producteurs une valeur ajoutée, principalement sous la forme de compléments alimentaires pour le bétail et d'amendements du sol (3).

Les graines de coton constituent 55% du poids total du coton égrené, tandis que les fibres et le coton brut représentent respectivement 35%-40% et 10%. Bien qu'historiquement considérée comme un sous-produit de la transformation du coton, la graine du coton est maintenant considérée comme un co-produit de grande valeur et un élément important de la chaîne de transformation du coton. Elle est fractionnée en huiles de grande importance et en farines à haute teneur en protéines, qui ont toutes les deux des applications dans les industries de l'alimentation humaine et animale. Les graines sont utilisées pour obtenir des huiles alimentaires considérées de très bonne qualité dans la gamme d'huiles végétales (3).

*Gossypium arboreum* est couramment utilisé en médecine traditionnelle africaine. La racine est considérée comme emménagogue, utilisée pour provoquer des contractions utérines. Au Ghana et au Nigeria, l'extrait de racine ou d'écorce se prend pour ses vertus abortives, les extraits de graines sont utilisés contre la migraine, la fièvre intermittente, la dysenterie, et les brûlures. Ils ont été fréquemment cités dans les résultats d'une enquête menée auprès de 20 guérisseurs de la région Ashanti du Ghana sur les plantes utilisées par voie topique pour la cicatrisation des plaies. Les feuilles et les graines écrasées de *Gossypium arboreum* sont appliquées sur les plaies ou utilisées comme cataplasme pour les contusions, les blessures et les gonflements.(6)

### **III. Substances chimiques extractibles du cotonnier et leur distribution dans la plante**

L'ensemble du cotonnier peut être une source de composés précieux, tels que les terpènes, les composés phénoliques, les acides gras, les lipides, les glucides et les protéines. Ces composés, qui sont distribués dans les graines, les capsules, le calice, les feuilles, les tiges et les racines de la plante jouent des rôles biologiques essentiels chez l'Homme et les animaux (1).

La multitude de produits chimiques potentiellement précieux qui pourraient être dérivés des sous-produits de la production du coton n'a guère retenu l'attention. Par conséquent, l'exploitation de tout le potentiel des déchets de coton sera bénéfique à la fois pour l'industrie du coton et pour l'environnement local (1).

Les composés naturellement présents dans le coton comprennent des terpènes, des phénols, des protéines, des glucides, des acides gras et des lipides. Comme pour la plupart des plantes, la distribution de ces composés varie entre les différentes parties du cotonnier, certains composés étant concentrés dans des parties spécifiques de la plante. La distribution de ces composés chimiques est liée à leurs différentes propriétés et fonctionnalités dans la plante (1).

Le gossypol, un composé polyphénolique ayant des effets contraceptifs potentiels et le trans-caryophyllène, un terpénoïde ayant des propriétés anti-inflammatoires et cytotoxiques sont des exemples de composés présents dans le coton ayant un impact bénéfique sur les humains et les animaux (1).

Ainsi, les sous-produits générés par l'industrie du coton (CGT, PHT, et graines broyées) peuvent représenter une source potentielle d'extraits précieux en raison de la distribution des composés chimiques dans l'ensemble du cotonnier.

La fibre du coton elle-même est principalement composée de cellulose à des niveaux supérieurs à 94 % du poids. Le raffinose est un sucre mineur unique que l'on trouve principalement dans la graine du cotonnier (7,8).

Bien qu'elle représente environ 60% de la biomasse des capsules, la graine du coton ne contribue qu'à 15-25% de la valeur de sa culture, principalement par sa fraction huileuse. Ainsi, au cours des dernières années, les efforts de recherche ont porté sur la caractérisation et l'utilisation du tourteau de coton dégraissé, dont les deux principaux composants sont les protéines et les glucides (9).

Koji *et al.* (1979) ont obtenu deux types de nouveaux tétrasaccharides à partir de graines de coton au cours d'études sur les oligosaccharides dans les graines oléagineuses. Ils ont été élués avec presque les mêmes volumes de rétention sur une chromatographie sur colonne de carbone, et se situaient entre le raffinose et le stachyose sur les chromatogrammes sur papier avec des valeurs de Rf identiques (10). La présence signalée de flavonoïdes biologiquement actifs dans *Gossypium arboreum* pourrait être à l'origine des effets observés sur la cicatrisation des plaies (6).

#### **IV. Propriétés phytochimiques potentielles qui peuvent être utiles aux secteurs pharmaceutique et agricole**

Le coton est décrit comme une plante médicinale en raison des composés chimiques qui en ont été isolés. Un certain nombre de composés trouvés dans le coton jouent des rôles pharmacologiques, y compris des rôles antimicrobiens, anti-inflammatoires, cytotoxiques, anticancéreux et contraceptifs chez les humains et les animaux. Les monoterpènes tels que le myrcène, le pinène, le camphène, le limonène et le sabinène isolés du coton possèdent des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydants et gastro-protectrices (1).

Des activités biologiques, telles que des activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires sont associées à certains de ces composés phytochimiques. Par exemple, l'alpha -bisabolol, un sesquiterpénoïde enrichi dans les fleurs du cotonnier, pourrait avoir une application dans les produits anti-inflammatoires (1).

Des études *in vitro* et *in vivo* sur les composés dérivés du coton ont montré qu'ils provoquaient divers effets sur la plupart des cellules expérimentales et des animaux. Les monoterpènes tels que le pinène présent dans les feuilles de coton possède une activité antimicrobienne contre les champignons et les bactéries. Des concentrations aussi faibles que 5 g/mL et 117 g/mL ont été signalées comme ayant une activité antimicrobienne contre les bactéries et les champignons, respectivement. Seuls les énantiomères positifs du composé ont induit cet effet (1).

Des composés chimiques, tels que le trans-caryophyllène, l'oxyde de caryophyllène, l'humulène et l-amyrine, sont des composés qui exercent différentes propriétés anti-inflammatoires. L'humulène et le trans-caryophyllène préviennent l'œdème de la patte induit par les produits chimiques chez les rats, 50 mg/kg des deux composés ayant les mêmes effets anti-inflammatoires que 0,5 mg/kg de dexaméthasone (un médicament anti-inflammatoire stéroïdien).

Malgré ses vertus, le coton contient des composants qui peuvent nuire à la santé humaine. Les activités cytotoxiques associées aux composés isolés du coton sont principalement rapportées en relation avec des lignées de cellules cancéreuses. Le bisabolol, un composé commun présent dans le coton, possède la capacité d'induire l'apoptose dans des lignées cellulaires de carcinome malin sans affecter la viabilité des cellules saines. Le gossypol est un composé majeur présent dans l'huile de graine de coton et dans d'autres parties du cotonnier et on lui a trouvé des propriétés contraceptives chez les mammifères. Chez les mâles humains, une concentration de 0,3 mg/kg de poids corporel peut induire une azoospermie en fonction du temps, alors que chez les rats mâles, une concentration de 30 mg/kg induit un effet équivalent. La propriété contraceptive du gossypol n'est pas limitée aux mâles comme l'indique une étude de Randel, Chase, et Wyse, elle a indiqué que ce composé, s'il est administré à une dose de 40 mg/kg de poids corporel chez les mammifères

femelles, induit des anomalies de la croissance et du développement. Il induit aussi des cycles œstraux anormaux et des taux de grossesse réduits (1).

## **V. Généralités sur les polysaccharides**

Les polysaccharides sont des macromolécules de poids moléculaire élevé. Ce sont des polymères formés de diverses unités monosaccharidiques et de leurs dérivés. Ils peuvent être synthétisés ou d'origine naturel ; ces derniers sont largement répandus dans les micro-organismes, les cellules animales et les parois cellulaires de diverses plantes. En outre, ces polysaccharides naturels peuvent être facilement séparés en utilisant de l'eau dans des conditions appropriées (11,12).

## **VI. Applications dans le domaine agro-alimentaire**

Les polysaccharides ont tendance à retenir l'eau et à former des hydrogels, ce qui leur permet d'assurer diverses fonctions dans l'industrie agro-alimentaire, notamment comme agents d'épaississement, de gélification, de revêtement et de contrôle de la synérèse (4,13).

Ces dernières années, les études sur l'extraction des polysaccharides des ressources naturelles ont suscité une attention croissante car ils peuvent moduler les propriétés rhéologiques des aliments où ils sont employés comme modificateurs de texture, émulsifiants et stabilisateurs alimentaires naturels (4,11).

Ces polysaccharides sont également utilisés comme agents d'enrobage, composants de films d'emballage biodégradables et comestibles et pour diverses autres applications (11).

## **VII. Applications dans le domaine pharmaceutique et biomédicale**

En dehors des applications alimentaires, les polysaccharides sont utilisés dans des applications pharmaceutiques et biomédicales en raison de leur biocompatibilité, et leur « non-toxicité ». D'après diverses données de recherche, l'origine du polysaccharide a un rôle dans ses propriétés fonctionnelles et il s'avère que les polysaccharides extraits de plantes ont le potentiel d'agir comme un antioxydant. De nombreux polysaccharides dérivés de plantes et d'autres sources naturelles ont été signalés comme ayant des activités antioxydantes marquées (4).

Ces dernières années, la demande d'antioxydants naturels a été énorme, principalement en raison des rapports toxicologiques défavorables sur de nombreux composés synthétiques tels que le BHA (ButylHydroxyAnisole), le BHT (ButylHydroxyToluène) et les gallates, qui ont été introduits dans les années 1940. Ainsi, la plupart des recherches récentes ont été axées sur l'identification de nouveaux antioxydants provenant de sources naturelles (14).

Une autre capacité des polysaccharides qui a attiré aussi l'attention de nombreux chimistes, pharmacologues et biologistes est leur capacité à être facilement modifiés par diverses méthodes

telles que les modifications microbiennes, physiques et chimiques(4). Il a été largement décrit que des groupes spécifiques tels que sulfate, amino, hydroxyle et carboxyle étaient responsables des effets antioxydants des polysaccharides (15).

Elboutachfaiti, Petit, *et al.* en 2011 ont confirmé que l'oxydation régiosélective des polysaccharides pouvait considérablement augmenter les activités antioxydantes. En effet, comme ils ont déjà montré, il a été rapporté que la présence de groupes carboxylates des polysaccharides oxydés pouvait activer l'atome d'hydrogène du carbone anomérique et ainsi augmenter leur capacité à donner de l'hydrogène (16).

Néanmoins, selon des rapports précédents, l'activité antioxydante pourrait être liée non seulement aux groupes fonctionnels des polysaccharides, mais aussi au poids moléculaire (15).

En raison de leur forte activité antioxydante et de leur capacité à piéger les radicaux libres, de nombreux polysaccharides ont été étudiés pour être transformés en médicaments sûrs et efficaces (12).

### **VIII. Les polysaccharides, un moyen de valorisation des sous-produits agricoles**

De nos jours, l'élimination des sous-produits et des déchets agricoles des usines de transformation des aliments peut poser de graves problèmes environnementaux.

À cet égard, **les cosses de pois verts**, qui ont comme rôle de protéger les petit-pois des attaques extérieures, sont considérées comme des déchets biologiques, et leur transformation en composés précieux, tels que **les polysaccharides**, permet non seulement de réduire le fardeau d'éliminer proprement ces déchets, mais aussi de fournir une ressource alternative économiquement viable pour la production de polysaccharides naturels. Il est à noter que selon les statistiques de la FAO (Food and Agriculture Organisation), L'**Algérie** était l'une des principaux producteurs de pois vert au monde en 2013 où la production mondiale était d'environ 18,5 millions de tonnes (11).

De plus, des recherches sur les polysaccharides de la farine de **graines de coing chinois** ont fournis une base scientifique pour l'utilisation des sous-produits du traitement de l'huile de graines de coing, notamment comme ingrédient dans les aliments fonctionnels et les médicaments (12).

En outre, Les graines de coton contiennent une quantité importante de polysaccharide qui a une large gamme d'applications dans l'alimentation, la fabrication de produits alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques non encore évaluée. Le secteur agroalimentaire et pharmaceutique bénéficierait économiquement du développement d'une méthode optimale pour l'extraction et la récupération des polysaccharides des graines de coton (4).

# **Materiels et méthodes**

## I. Principe de l'étude

L'étude porte sur l'extraction des polysaccharides hydrosolubles issus des graines du coton, la caractérisation biochimique de ces composés par des méthodes colorimétriques, à savoir la détermination des teneurs en oses totaux et en oses neutres et l'analyse qualitative des résidus glycosidiques constitutifs par chromatographie sur couche mince. Les propriétés biologiques de cet extrait polysaccharidique dont l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante sont également recherchées.

## II. Matériels

### II.1. Matériels biologique

#### II.1.1. Matériel végétal

L'échantillon végétal est cueilli le mois de Décembre 2020 à partir des cotonniers de la région Ouargla (Sud-est de l'Algérie).



**Figure 2.** Situation géographique de la zone de récolte

L'affiliation taxonomique de la plante est précisée par M. Halis Youcef, un chercheur du centre des recherches scientifiques et techniques des zones arides à Touggourt.

- **Systematique**

Royaume : *Plantae*

Embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Eudicotylédones*

Ordre : *Malvales*

Famille : *Malvaceae*

Genre : *Gossypium*

Espèce : *Gossypium arboreum. L*

Les capsules matures ouvertes sont divisées en 3 à 5 loges à l'intérieur de celui - ci, se développe une trentaine de graines noires verdâtres sur le tégument desquelles croissent les fibres



du coton (Photo 1) (annexe 1).

**Photo 1.** capsules ouvertes avec les fibres

### II.1.2. Bactéries

Les souches bactériennes référenciées utilisées sont montrées ci-dessous :

<b>Bactéries Gram positif</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 14028 <i>Bacillus spp</i> ATCC 14581
<b>Bactéries Gram négatif</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 <i>Echerichia coli</i> ATCC 25922

### II.2. Produits, appareillages et consommables :

Différents produits et instruments ont été utilisés dans notre travail. Parmi les consommables, les ambouts, les boîtes de Petri, les tubes ... ; des milieux de culture : Muller Hinton ; les becs benzen ; disques de papier Whatman 3.

Tous les solvants et les produits chimiques utilisés sont consignés dans le tableau I. Les appareils et les instruments sont regroupés dans le tableau II.

**Tableau I.** Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques utilisés

Produit	Fournisseur	Caractéristiques				
		Forme	Formule chimique	M. molaire g/mol	Densité g/cm <sup>3</sup>	Pureté%
<b>Acétonitrile</b>	MERCK PROLABO	Liquide	CH <sub>3</sub> CN	41,05	0,78	99
<b>Acétone (HPLC)</b>	HONEYWELL	Liquide	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58,08	0,791	99,8
<b>Acide acétique</b>	SIGMA-ALDRICH	liquide	CH <sub>3</sub> COOH	60,05	1,049	99-100
<b>Acide ascorbique</b>	/	/	/	/	/	/
<b>Acide chloro-hydrique</b>	/	Liquide	HCl	36,46	/	/
<b>Acide ortho-phosphorique</b>	GPR RECTAPUR	Liquide	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	98	1,680	85
<b>Acide sulfurique</b>	FLUKA™	liquide	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98,08	1840 (20°C)	95-97
<b>Acide tri-fluoro-acétique</b>	/	Liquide	CF <sub>3</sub> COOH	114,02	/	/
<b>Aniline</b>	BIOCHEM Chemopharma	Liquide	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N	93,13	1,020-1,025	99
<b>Butanol</b>	SIGMA ALDRICH	Liquide	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	74,12	81	>99,5
<b>Chloroforme</b>	BIOCHEM Chemopharma	Liquide	CHCl <sub>3</sub>	119,38	/	99
<b>D(-) Xylose</b>	BIOCHEM Chemopharma	poudre	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	150,13	/	/
<b>D(+) Galactose</b>	AppliChem GmbH	poudre	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180,16	/	/
<b>D(+) Glucose anhydre</b>	AnalaR NORMAPUR	poudre	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180,16	/	/
<b>Diphénylamine</b>	BIOCHEM Chemopharma	poudre	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N	169,23		99
<b>DPPH</b>	SIGMA-ALDRICH	poudre	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>	394,32	/	/
<b>D-Mannose</b>	BIOCHEM Chemopharma	Poudre	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180,16		99
<b>Ethanol</b>	HONEYWELL	Liquide	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	46	0,790-0,791	96
<b>Ether de petrol</b>	SIGMA-ALDRICH	Liquide	/	/	/	40-60°C
<b>Isopropanol</b>	BIOCHEM Chemopharma	Liquide	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	60,10	/	98
<b>L-Rhamnose monohydrate</b>	BIOCHEM Chemopharma	Poudre	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> .H <sub>2</sub> O	182,19	/	99
<b>Methanol</b>	GPR RECTAPUR	Liquide	CH <sub>4</sub> O	32,04	0,79	100
<b>Phenol</b>	FLUKA™	Liquide	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O			90
<b>Resorcinol</b>	EDEN LABO	Poudre	1,3-dihydroxybenzène	110,11	/	99,7

**Tableau II.** Type et origine des appareils utilisés

Appareil	Fournisseur	Type	Lieu de fabrication
Lampe UV	Analytik Jena	UVLS-28 EL ;8W ; 254/365nm ;230V ;50-60Hz	USA
Evaporateur rotatif	DLAB®	RE100-Pro; Tpm : 20 à 200 ; T° :25°C à +180°C ;P:1100; IP20	/
Agitateur magnétique chauffant	VELP® scientifica	Heating magnetic stirrer T° :0-370°C ; RPM :0-1500	Italy
Chauffe ballon	FALC	MOD: MQ500ml ;220-240V ;50-60Hz ;250W ;T :0-350°C	Italy
Autoclave	RAYPA	Steam sterilizer ;Model:AE28.DRY;Pres:min-1 bar, max 2.3bar; Temp.max: 137°C; 2000W;50/60Hz	Spain
Sonicateur/ Bain marie	Elma®	Elmasonic P120H. U: 230-240V; f: 50/60Hz ;Pmax:1330W; IP:20	GERMANY
Vortex	BENCHMARK	BenchMixer™ Multi-TUBE VORTEXER ; RPM 500-2500 ; 100-240V ; 50-60HZ ; 60W ; 1 min – 99h.59min	USA
Balance	OHAUS	ADVENTURER™ ; Model: AX324	USA
Centrifugeuse	HETTICH	ROTINA 380 R;Max RPM/RCF 15000/24000; Temperature control -20 to +40; Max.Capacity 4x290 mL	USA
Plaque CCM	FLUKA	Gel de silice sur feuille d'aluminium, 254nm, 60Å	GERMANY
Etuve	MEMMERT	Typ:V029;230V;50/60HZ;3,6A;820W;20-200°C	GERMANY
Lyophilisateur	CHRIST	CHRIST.ALPHA 2-4 LSCbasic.	GERMANY
Micropipette	Accumax PRO	100-1000µL ; HA393830 CE	/
Agitateur incubateur	IKA®	IKA® KS 3000 ic control ;RPM 10-500; RT+5°C to 80°C	GERMANY
Spectrophotomètre	Agilent Technologies	Cary 100 UV-Vis Spectrophotometer	CHINA

### III. Méthodes

#### III.1. Préparation de l'échantillon

Les graines de cotonier sont séparées des fibres « égrenage », puis séchées à l'ombre pendant 3 mois.

Après séchage, les graines sont broyées en utilisant un broyeur de cuisine (moulin à café électrique), le broyage a aboutit à deux fractions, l'écorce externe (EE) et la partie interne (PI) de la graine, d'aspect et de granulation différente (Photo 2).



**Photo 2.** Broyats des graines de coton. **A** : Partie interne ; **B** : Ecorce externe

Les rendements de chaque partie de la fleur sont calculés par rapport à la masse totale des fleurs cueillies (m/m).

### **III.2. Extraction des polysaccharides des graines du coton**

Le protocole utilisé est largement décrit dans la littérature (17) avec de légères modifications suivant l'optimisation faite par Prakash *et al.* concernant l'extraction des polysaccharides à partir des graines du coton(4).

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des deux fractions des graines du coton a été menée sur deux étapes : une étape de délipidation et dépigmentation suivie par l'extraction proprement dite des polysaccharides par macération à l'eau distillée. Les étapes sont les mêmes pour la partie interne et externe des graines. Les quantités des solvants, la température et le temps de macération diffèrent en fonction de la texture et de la granulométrie.

#### **III.2.1. Etape de délipidation et dépigmentation**

La délipidation se fait par des extractions successives à l'aide des solvants de polarités croissantes (18).

Notre échantillon est dégraissée par l'éther de pétrole (40-60°C) pendant 6 jours sous agitation constante et à température ambiante afin d'éliminer les pigments et les composés lipophiles (19).

Après une filtration sous vide, le résidu est mis entre deux papier absorbant et laissé séché à température ambiante. Le résidu séché subit un autre prétraitement avec de l'éthanol à 96 % sous reflux pendant 3 heures pour se débarrasser des acides aminés, de certains oligosaccharides et des composés de faible poids moléculaire (4).

#### **III.2.2. Extraction aqueuse des polysaccharides**

L'extraction est réalisée à l'eau distillée dans diverses conditions, à savoir la durée d'extraction (2-3h) et la température d'extraction (60-80°C). Après l'extraction à l'eau chaude, la bouillie eau/graines est filtrée ; cette étape est répétée trois fois ; le filtrat concentré par le rotavap et laissé précipité pendant 24 à 48 h par l'ajout de trois fois le volume d'éthanol à 96 % (v/v) à 4 °C.

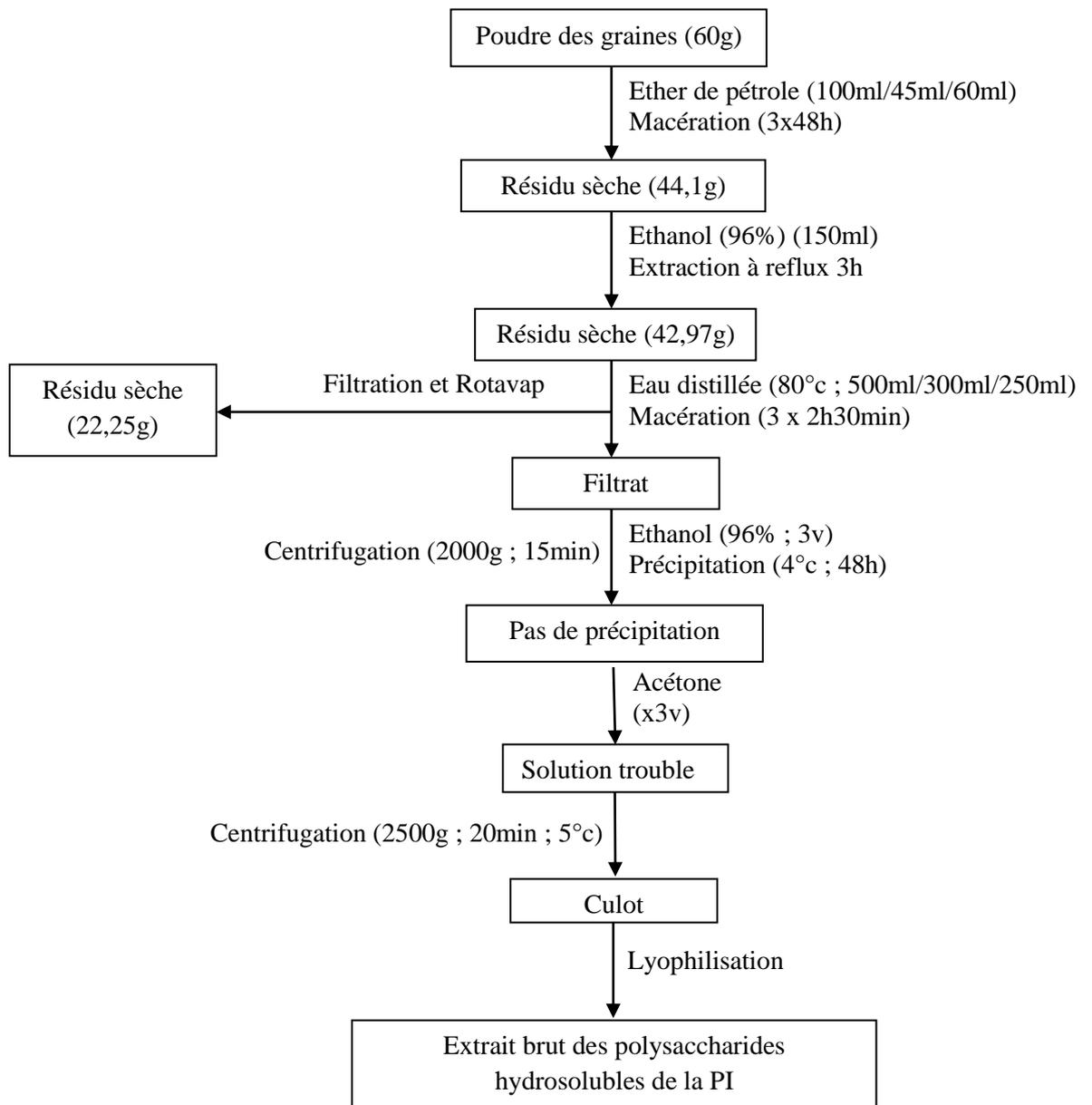
La séparation des résidus insolubles du surnageant est effectuée par centrifugation à 2000g pendant 15 minutes, mais aucun précipité n'a été remarqué. Le concentré est mélangé ensuite à 3 volumes d'acétone où on remarque l'apparition d'une turbidité blanchâtre. Une centrifugation à

2500g et à froid (5°C) est lancée pendant 20min. Le culot est séché sous vide dans un lyophilisateur selon le programme suivant : une congélation pendant 4h ; une dessiccation primaire pendant 72h à (-90°C) et 0,03 mbar ; une dessiccation secondaire pendant 48h à (-90°C) et 0,002 mbar. Le lyophilisat obtenu représente l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles (Figure 3 et 4).

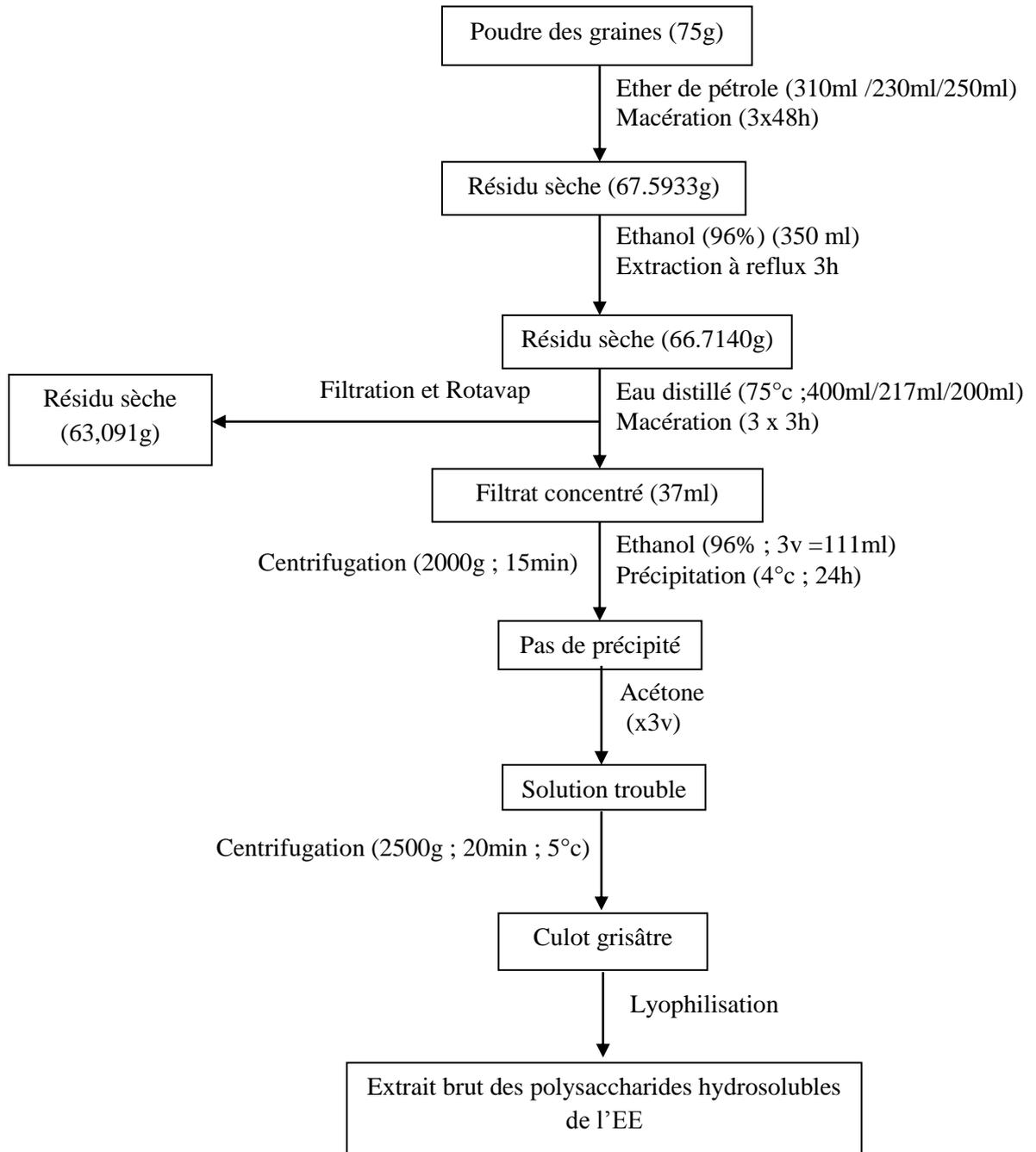
**Remarque :** Il est à noter que :

- Lors de l'extraction, la **phase éthanolique** était aussi prise en considération, en la mélangeant, après avoir été concentrée, avec un tiers de son volume d'eau distillée et précipitée par l'ajout d'acétone. Le précipité formé est aussi lyophilisé et inclus dans le calcul des rendements après un lavage par l'acétate d'éthyle pour séparer les polyphénols présents en quantité considérable dans cette fraction d'où l'intérêt du prétraitement par l'éthanol en premier lieu.

### Protocoles d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des graines du coton



**Figure 3.** Protocoles d'extraction à partir de la fraction interne des graines



**Figure 4.** Protocoles d'extraction à partir de la fraction externe des graines

### III.2.3. Calcul du rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des polysaccharides bruts sont calculés selon la formule

suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{\text{poids de l'extrait des polysaccharides (g)}}{\text{poids de la poudre sec de plante (g)}} \times 100$$

### III.3. Caractérisation biochimique des polysaccharides

La caractérisation biochimique consiste à l'étude de la composition de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles. La détermination de la teneur en oses totaux et en oses neutres par des méthodes colorimétriques est effectuée. Les monosaccharides constitutifs sont identifiés par chromatographie sur couche mince.

#### III.3.1. Dosage des oses totaux

La méthode de dosage colorimétrique développée par Dubois *et al.* (1956) est adoptée pour la détermination de la composition en sucres totaux constitutifs des différentes fractions polysaccharidiques (20).

La quantification des oses constitutifs des polysaccharides s'effectue par des dosages colorimétriques. Sous l'action d'acide sulfurique concentré à chaud, les liaisons glycosidiques des polysaccharides subissent une hydrolyse. La déshydratation poussée des unités osidiques libérées suivie d'une cyclisation conduit à la formation des dérivés furfuriques et des dérivés d'acide 5-hydroxyméthylfurfural. Ces derniers peuvent réagir par condensation avec le phénol. L'apparition des complexes jaune orangés est suivie en mesurant l'absorbance à 490 nm (dans notre expérimentation, et après balayage, on a choisis 488nm pour la lecture) qui permet de déterminer la concentration en oses totaux de l'échantillon analysé en se référant par extrapolation à une courbe d'étalonnage de glucose.

- **Mode opératoire :**

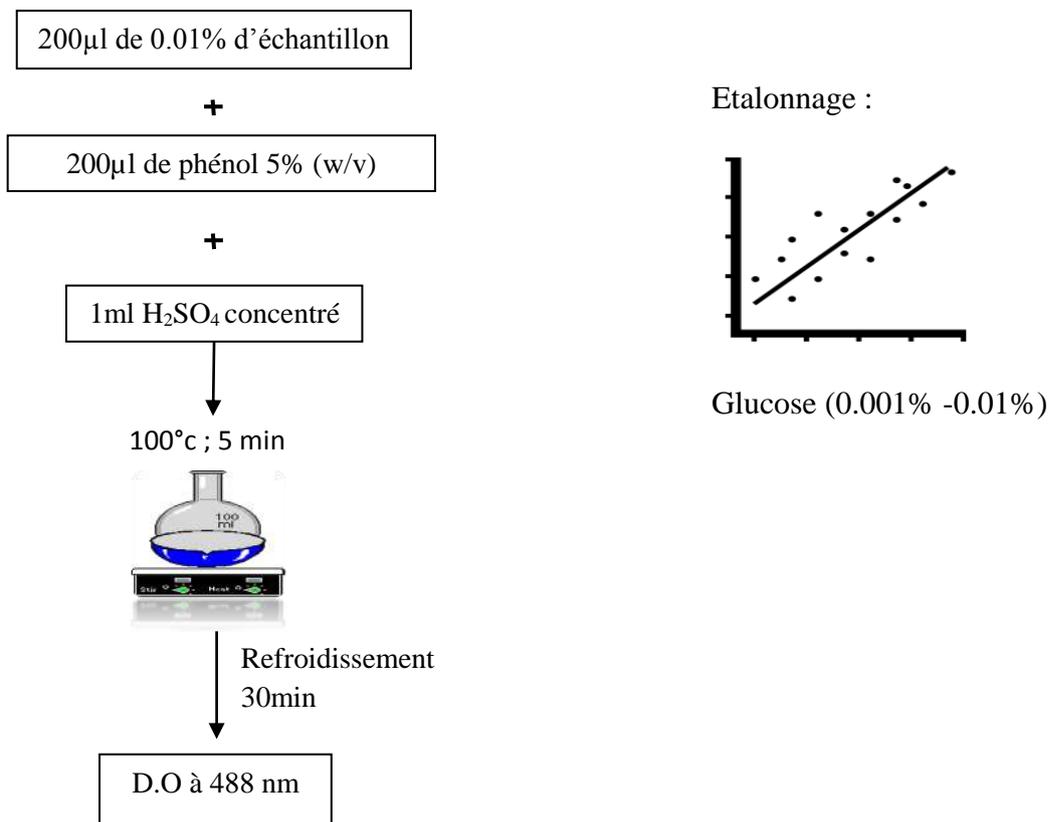
- Préparation de la solution du phénol 5% : 1g du phénol est introduit dans 20ml d'eau distillée selon la méthode de DUBOIS *et al.* (1956) modifiée.
- Préparation de la solution de l'extrait polysaccharidique 0,01% : Elle s'effectue en introduisant 10mg d'extrait lyophilisé dans 100ml d'eau distillée.
- Préparation de la solution étalon de glucose 0,01% et la gamme d'étalonnage : Notre gamme d'étalonnage est de [0,001%-0,01%] avec 10 dilution, chaque dilution répétée deux fois comme dans le tableau III.

**Tableau III.** La gamme d'étalonnage du glucose

%	0,01	0,009	0,008	0,007	0,006	0,005	0,004	0,003	0,002	0,001	Blanc
<b>Glucose 0,01% (ml)</b>	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
<b>Eau distillée (ml)</b>	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1

Dans des tubes de dosage en verre, introduire 0,4 ml d'échantillon et placer les tubes dans un bain de glace. On ajoute ensuite 0,4 ml de la solution aqueuse de phénol 5%. Après homogénéisation, on ajoute avec précaution 2 ml d'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (96%). Les tubes sont ensuite incubés à l'obscurité pendant 30 mn. L'absorbance est mesurée à  $\lambda=488\text{nm}$  après balayage. (Les volumes ont été doublés pour correspondre au volume de la cuvette du spectrophotomètre).

### Méthode de DUBOIS (1956)



### III.3.2. Dosage des oses neutres

le dosage des oses neutres constitutifs se base sur la réaction des dérivés furfuriques obtenus par action à chaud d'un acide concentré comme l'acide sulfurique, en présence d'un composé

aromatique, le résorcinol (1,3-dihydroxybenzène), donnant un chromophore de couleur brun-orangée dont l'absorbance est mesurée à 480nm. Les quantités des oses neutres en solution peuvent être estimées en comparaison avec une gamme étalon du glucose de concentration 0,001% à 0,01% (21).

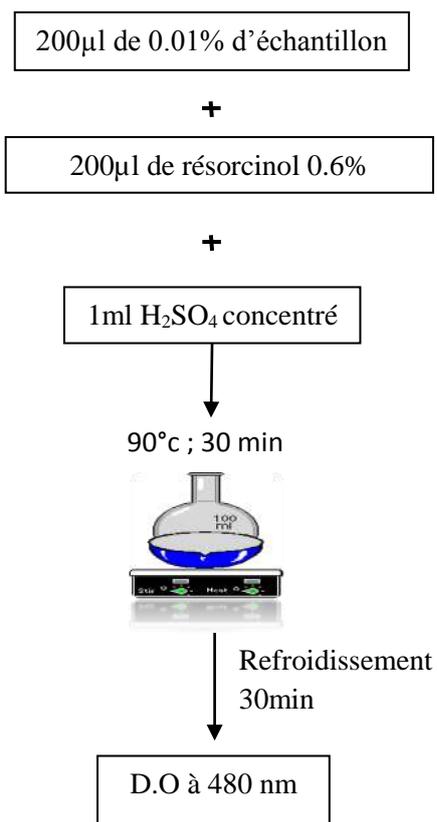
• **Mode opératoire :**

- Préparation de la solution du résorcinol 0,6%  
La solution est préparée avec 0,3g du résorcinol dans 50ml d'eau distillée selon la méthode de MONSIGNY *et al.* (1988) modifiée.
- Préparation de la solution de l'extrait polysaccharidique 0,01%, de la solution étalon de glucose 0,01% et la gamme d'étalonnage (Idem que celle des oses totaux).

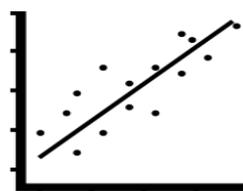
**Les étapes à suivre sont les suivantes :**

- Introduire dans les tubes de dosage 0,4ml d'échantillon et de l'étalon.
- Ajouter 0,4ml de la solution de résorcinol.
- Après l'agitation de mélange, déposer 2 ml d' $H_2SO_4$  dans chaque tube.
- Vortexer les tubes (5 secondes).
- Incuber les tubes 30 minutes dans un bain marie à 90 °C.
- Laisser refroidir dans un bain de glace et à l'obscurité pendant 30 min.
- Mesurer l'absorbance à 480 nm.

**Méthode de MONSIGNY *et al.* (1988)**



Etalonnage :



Glucose (0.001% -0.01%)

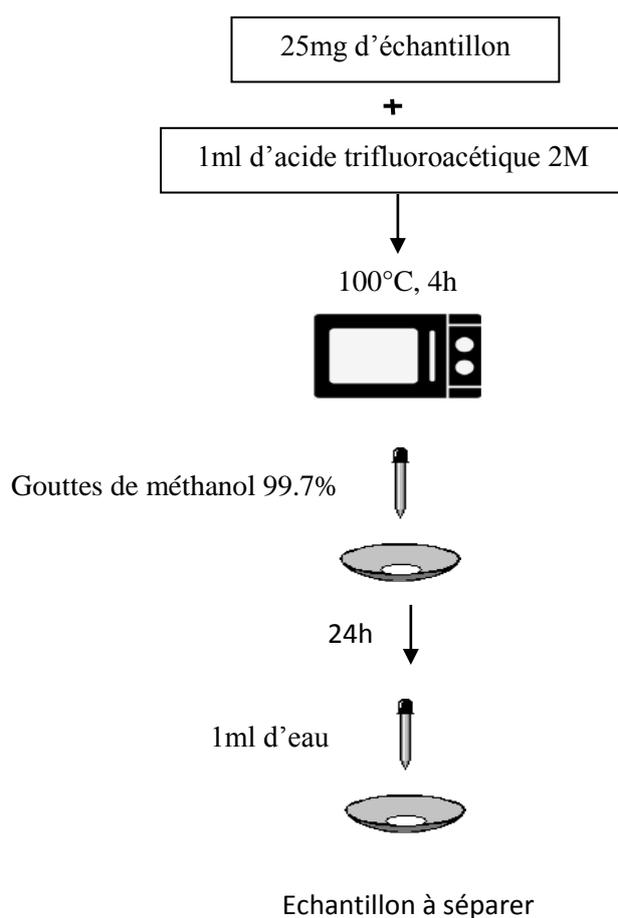
### III.4. Caractérisation des monosaccharides par chromatographie sur couche mince (CCM)

La rupture de toutes les liaisons glycosidiques est nécessaire pour l'identification des monosaccharides constitutifs des polysaccharides, ces monosaccharides une fois libérés sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) (22,23).

#### III.4.1. Hydrolyse des liaisons glycosidiques

Les composants monosaccharides ont été analysés par chromatographie sur couche mince (CCM). Une hydrolyse acide des liaisons glycosidiques a été réalisée.

25 milligrammes d'échantillon de polysaccharides sont mélangés avec 1ml d'acide trifluoroacétique (TFA) 2M ; et ils sont laissés dans un four de laboratoire (100°C, 4 h). Ensuite, quelques gouttes de méthanol à 99,7% sont ajoutées aux surnageant. Après 24h et évaporation totale du TFA, 1ml d'eau distillée est utilisée pour dissoudre les produits secs (24). Les trois systèmes choisis comprennent des phases de développement différentes (25). Le Nigrum a été utilisé comme révélateur (26,27).



### III.4.2. Séparation par CCM

#### Principe :

Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption - désorption ; la phase mobile (un solvant ou un mélange de solvants) progresse le long d'une phase stationnaire (silica gel, polyamide, cellulose...) fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille d'aluminium.

Les substances vont migrer à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant car chacune d'elles est soumise à une force de rétention par adsorption et une force d'entraînement par la phase mobile (23).

L'équilibre qui en résulte entre la force de rétention et la force d'entraînement aboutit à une migration différente des composés de l'échantillon à analyser, donc à leur séparation et même à leur identification comparée aux étalons.

Dans notre travail on a utilisé les phases et les systèmes suivants pour séparer les constituants de notre extrait :

- **Phase stationnaire** : Des plaques en gel de silice (silica-gel) prêtes à l'emploi, sont utilisées comme phase stationnaire (28).

- **Phase mobile** :

Trois systèmes de séparation sont utilisés :

-Système 1 : Acétonitrile/ acétate d'éthyle/ propanol/ eau (29)

(8.5-2-2-1.5)

-Système 2 : chloroforme/ n-butanol/ méthanol/acide acétique/eau (29)

(4.5-12.5-5-1.5-1.5)

-Système 3 : Acétate d'éthyle/ méthanol/ n-butanol/ eau (30)

(16-3-3-2)

- **Révélation** : après la lecture de la plaque sous une lampe UV-Visible ; le Nigrum est le réactif utilisé comme révélateur des spots.
- **Etalons utilisés** : cinq étalons ont été utilisés, à savoir, le galactose, le glucose, le mannose, le rhamnose et le xylose avec une concentration de 10mg/ml (28).

### III.4.3. Calcul des facteurs de rétention

Le rapport frontal (Rf) est calculé pour chaque spot obtenu. Ceci permet la détermination de la composition des extraits en monosaccharides (31).

$$Rf = \frac{\text{La distance parcourue par la substance}}{\text{La distance parcourue par le solvant}}$$

### **III.5. Etude des activités biologiques**

Notre évaluation des activités biologiques des polysaccharides bioactifs constitutifs des graines du coton a porté sur l'étude de l'activité antibactérienne et l'activité anti-oxydante.

#### **III.5.1 Activité antibactérienne**

Pour tester l'activité antibactérienne des polysaccharides issus des grains du coton, nous préparons :

- Des solutions de 0,1% de chacun de nos extraits.
- Une suspension d'une turbidité entre 0,2 à 0,5 de Mac Farland est préparée à partir de cinq souches bactériennes référencées ; deux bactéries Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* et *Echerichia coli*, en plus de trois bactéries Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus spp.*
- L'ensemencement des bactéries dans les boites de Pétri est effectué par la méthode d'immersion sur le milieu Muller Hinton.
- Après une durée de 4h au réfrigérateur, nous récupérons les boites et nous déposons dans chacune d'elles des disques faits de papier Whatman 3 ; chaque disque est ensuite imbibé par 20µl de la solution à tester sans oublier un disque témoin négatif imbibé par de l'eau distillée stérile dans notre cas.( Essai par diffusion sur gélose)
- Toutes les préparations sont faites en respectant les mesures de stérilité devant un bec benzen. Chaque boite est répétée deux fois, et sont incubées à 37°C pendant 24h.

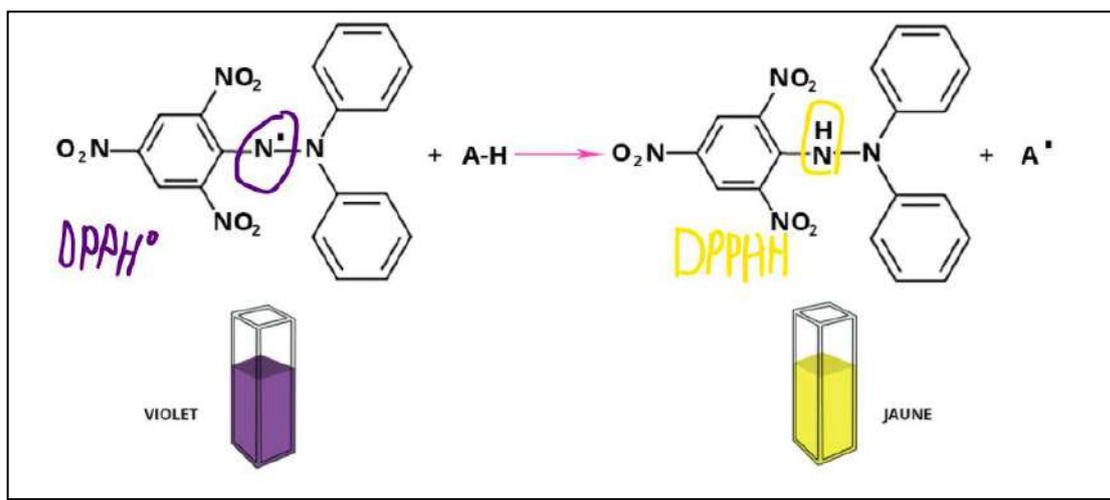
L'apparition d'un halo clair autour du disque témoigne d'une activité antibactérienne probable de l'extrait concerné contre la bactérie ensemencée, tandis que son absence signifie que cet extrait ne présente pas d'activité contre la bactérie étudiée.

#### **III.5.2. Activité anti-oxydante**

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des plantes. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude on a eu recours au mesure du pourcentage du piégeage du radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH°).

Le DPPH° est largement utilisé comme substrat pour évaluer l'efficacité des composés antioxydants. C'est un radical libre organique qui présente une couleur violette typique et une absorption caractéristique de 515-520 nm, qui diminue de manière significative en variant vers le jaune lors de l'exposition au piègeur de radicaux protoniques. En interagissant avec le DPPH°, les antioxydants transfèrent soit un électron, soit un atome d'hydrogène au DPPH°, le transformant ainsi en un produit stable (9,14).

Sur la base de ce principe, l'activité antioxydante des polysaccharides peut être exprimée par leur capacité à piéger les radicaux libres DPPH°. Une absorbance plus faible du mélange réactionnel indique une activité de piégeage des radicaux libres plus élevée (11).



<http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>

**Figure 5.** Réduction de radical libre DPPH° par l'agent antioxydant

- **Mode opératoire :**

L'activité anti-oxydante de l'extrait polysaccharidique est mesurée comme suit (11,15,32) :

- Les fractions polysaccharidiques sont préalablement dissoutes à différentes concentrations (1, 4, 6, 8 et 10 g/l) dans de l'eau distillée.
- 2,0 ml de l'échantillon est soigneusement mélangé avec 2,0 ml de solution de DPPH° (0,1 mM dans de l'éthanol à 96 %).
- Le mélange est secoué vigoureusement et incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante (25 °C).
- L'absorbance est mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre UV-visible.

Il est à noter que : 1° le blanc : 2ml H<sub>2</sub>O + 2ml EtOH 96 %

2° le contrôle : 2ml H<sub>2</sub>O + 2ml DPPH°

3° le standard positif : l'acide ascorbique, avec une gamme de [0,1-2,5 g/l] (15).

- **L'inhibition du DPPH° (%)**

Elle a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du DPPH}^\circ (\%) = \left(1 - \frac{A \text{ éch}}{A \text{ contrôle}}\right) \times 100$$

Où A éch : absorbance à 517 nm de l'échantillon / l'acide ascorbique

A contrôle : absorbance à 517 nm du contrôle suscit.

## Résultats et discussions

# I. Rendements

## 1. Rendements d'égrenage

- Rendement des fibres : 24.59%
- Rendement des capsules 31%
- Rendement des graines : 44.42%
- Masse des graines après égrenage et séchage : 191 g
- Après broyage : Masse de l'EE: 115g  
Masse de la PI : 76g

Cela confirme la quantité importante que les sous produits d'égrenage représentent par rapport au rendement en fibres recherché par les industriels du textile, d'où l'importance de sa valorisation (3).

## 2. Rendements d'extraction des polysaccharides

Le rendement massique total de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles issus des graines du coton, y compris l'écorce externe et la partie interne, par rapport à la matière sèche ayant servi à l'extraction est de **12,16%**. Alors qu'on note une différence remarquable entre le rendement des polysaccharides extraits de l'EE et la PI qui est de **5,67%** et **20,26%** respectivement. (Figure 6)

Cette différence peut être attribuée à la nature hétérogène des glucides contenus dans l'EE, soient des hétérosaccharides liés à des fractions non glucidiques notamment les flavonoïdes et donc extractibles par d'autres protocoles ciblant les métabolites secondaires, cela concorde avec les cristaux obtenus par **RAHIM et al.**, en **2015** après recristallisation fractionnée de l'extrait n – butanolique et d'acétate d'éthyle des graines de *G.arboreum L* (33).

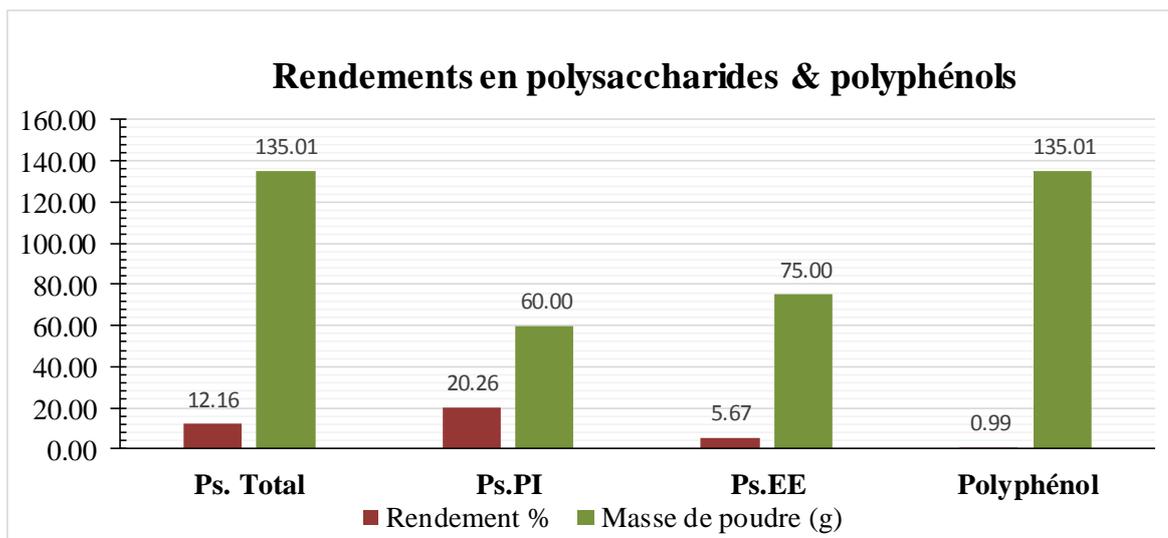
D'autre part le rendement issu de la PI des graines de *G.arboreum L* est supérieur à celui signalé par **PRAKASH et al.**, en **2016** pour la même fraction, soit 8.67% (4).

Dans la famille des malvacées, précisément l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parviflora*, **BOUAL et al.** ont eu un rendement de 1,46% en **2013** (28).

En **2017** et dans la même classe celle des dicotylédones, **CHAKOU et al.** ont rapporté un rendement **très proche** du nôtre, soit 11,05% d'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Alhagi maurorum Boiss* ; et trois fractions de polysaccharides ont été obtenues à partir des graines de coing chinois par **WANG et al.** présentant un rendement de 31,5 %, 20,3 % et 18,1 % (12,29).

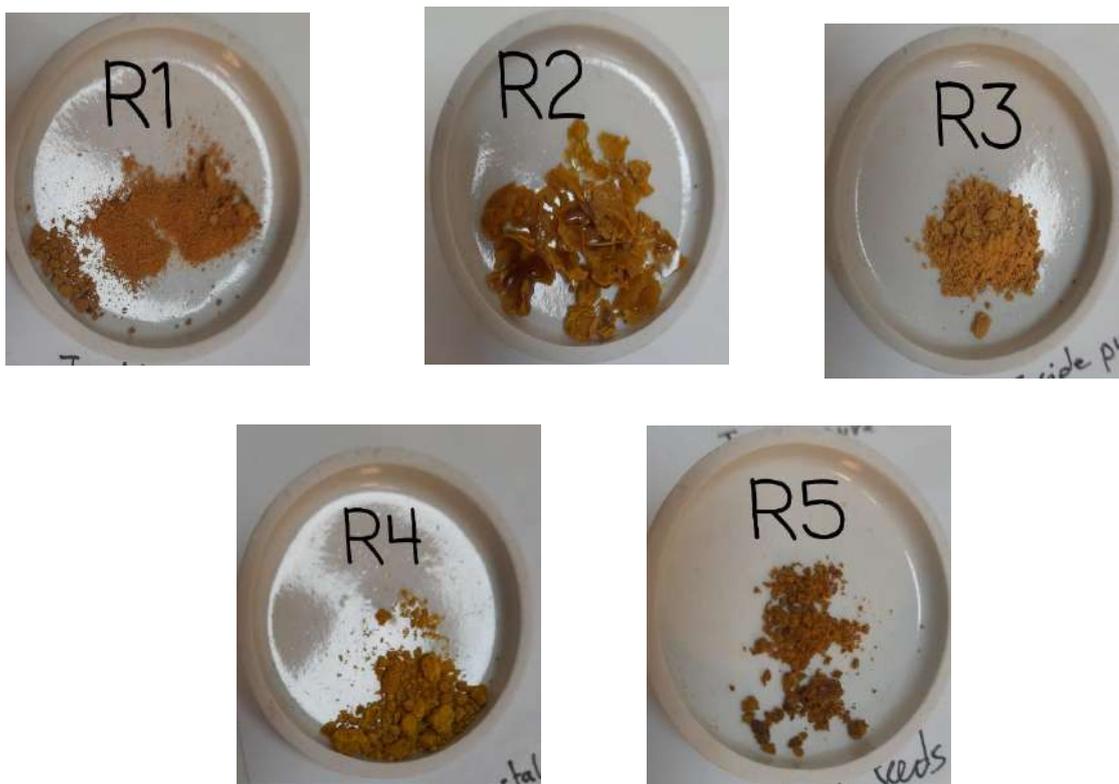
Ces variations des rendements sont argumentées par l'influence que les facteurs et les paramètres tels que la température d'extraction, la quantité du solvant utilisé par rapport à la matière première peuvent induire. De plus, le type de polysaccharide, le type du solvant utilisé et la procédure d'extraction comme la décoction et la macération, peuvent modifier le rendement massique des polysaccharides (29).

**Un rendement des polyphénols** extraits par l'acétate d'éthyle est aussi calculé et il est de **0,99%**. (Figure 6)



**Figure 6.** Rendements des polysaccharides et polyphénols

- 1- Après l'extraction solide - liquide par l'eau, la phase aqueuse de l'EE et la PI des graines était trouble et de couleur marron. Une tentative de séparation par décantation a amené à deux parties : un précipité qui a été séparé et un surnageant, les deux sont concentrés et traités par l'acétone aboutissant à plusieurs fractions.
- 2- Cinq fractions sont utilisées dans les essais de caractérisation biochimique et de l'activité biologique (Photo 3) :
  - Quatre fractions issues de la PI, à compter, trois de la phase aqueuse (R1 ; R2 ; R3) et une de la phase éthanolique (R4).
  - Une fraction issue de la phase aqueuse d'EE, nommée, (R5)



**Photo 3.** Aspects des différentes fractions utilisées

## II. Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble

Le tableau IV donne la composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble de chaque fraction en précisant les rendements en oses totaux et en oses neutres.

**Tableau IV.** Rendements en oses totaux et en oses neutres des différentes fractions

Fraction	Rendement en sucres totaux %	Rendement en sucres neutres %
R1	1,26±0,06	8,95±0,93
R2	0,47±0,01	26,52±5,78
R3	1,09±0,4	21,73±1,85
R4	3,13±0,49	25,84±8,53
R5	0,29±0,07	0,15±0

D'après la figure 7 et 8 nous remarquons que l'extrait R5 issu de l'écorce externe présente le moindre rendement en oses totaux et en oses neutres, d'autre part, parmi les extraits de la partie internes des graines, le R4 présente le taux le plus élevé en oses totaux qui est de  $3,13 \pm 0,49$  %.

En revanche, les rendements en oses neutres de R2, R3 et R4 sont proches  $26,52 \pm 5,78$ ,  $21,73 \pm 1,85$  et  $25,84 \pm 8,53$  % respectivement.

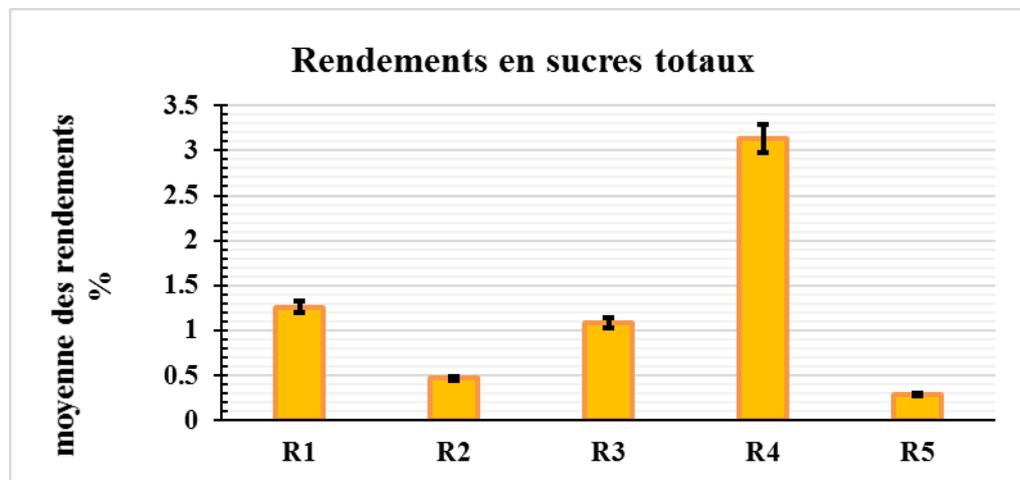


Figure 7. Rendements en oses totaux

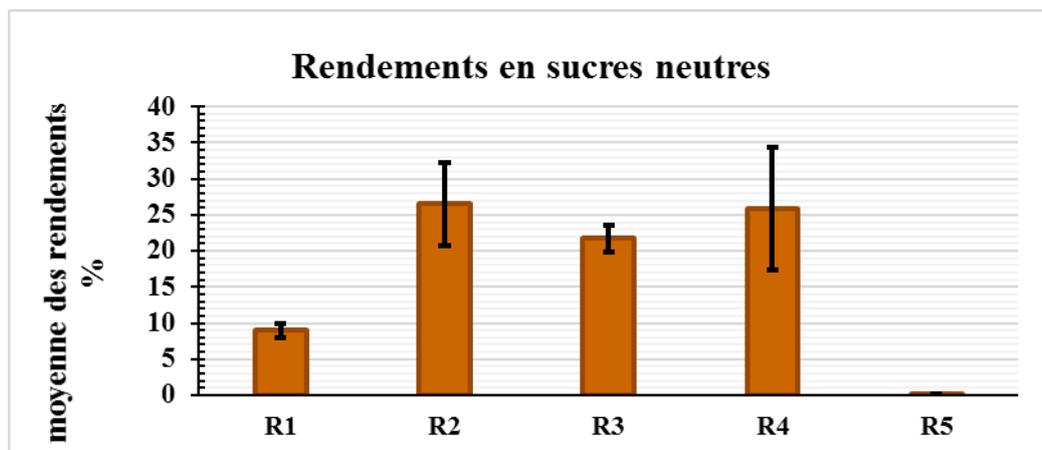


Figure 8. Rendements en oses neutres

Les rendements en oses totaux sont faibles comparés à ceux trouvés par BOUAL *et al.* dans les feuilles du *M.parliflora* soit  $68,18 \pm 0,94$  % et ceux dans les graines d'*Alhagi maurorum* BOISS ,soit  $58,63 \pm 0,17$  % rapporté par CHAKOU *et al.*. Cependant la différence en matière d'oses neutres n'est pas aussi marquée comparant aux mêmes études suscitées, de rendements  $55 \pm 0,62$  % et  $48,25 \pm 0,05$  % respectivement (28)(29).

### III. Caractéristiques des polysaccharides révélés par CCM

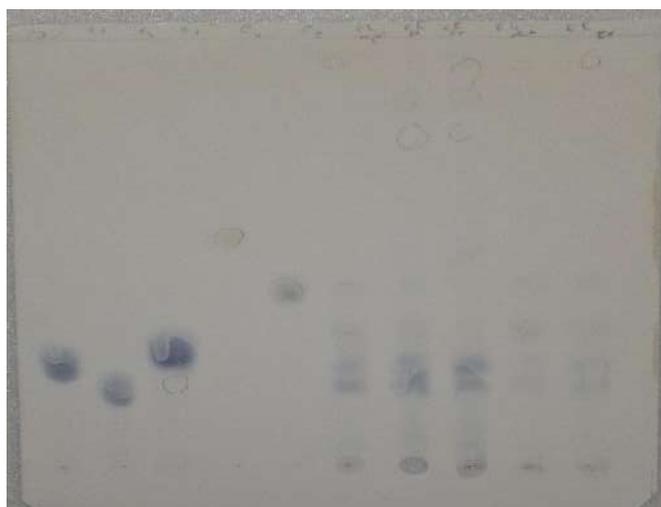
La comparaison des rapports frontaux (Rf) des tâches apparues, après révélation des plaques CCM, avec ceux des étalons permet d'identifier partiellement les principaux monosaccharides constitutifs de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles.

Les Rf des spots révélés par chaque système sont résumés comme suit : (Tableau V,VI,VII)

**Système 3** : **Et1** : Glucose 0,24 ; **Et2** : Galactose 0,19 ; **Et3** : Mannose 0,31 ; **Et4** : Rhamnose 0,55 et **Et5** : Xylose 0,43.

**Tableau V.** Spots révélés par le système 3 et leurs Rf

		Système 3					
		temps de saturation 1h30; temps d'évaluation 1h25					
Spots révélés par le Nigrum	R1	R2	R3	R4	R5	Etalon	
		0,04		0,04			
				0,10			
	0,19	0,19	0,19	0,19		Galactose	
	0,24	0,24	0,24	0,24		Glucose	
		0,30	0,30				
	0,32	0,32	0,32		0,32		
	0,43	0,43	0,43		0,43	Xylose	
				0,48			
				0,55		Rhamnose	
Lampe UV-Visible			0,79	0,79			
			0,86	0,86			
	0,94			0,94	0,94		
		0,96					



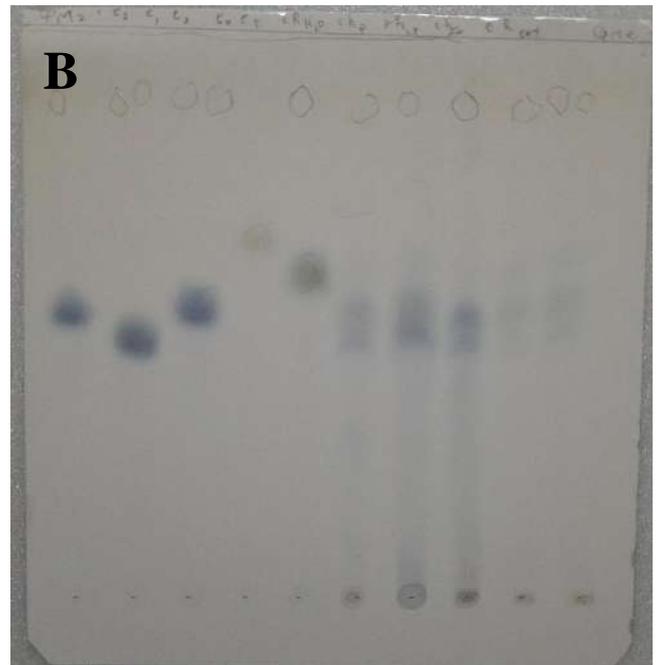
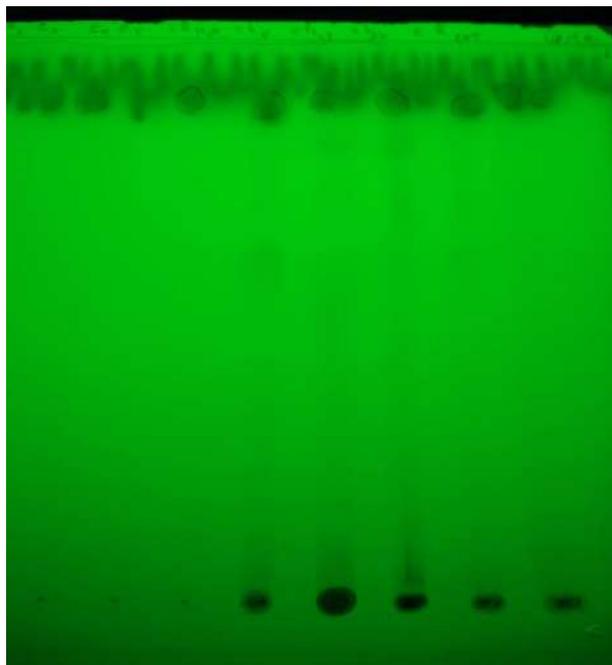
Et1 Et2 Et3 Et4 E5 R2 R3 R4 R1 R5

**Photo 4.** Chromatogramme du Système 3, les spots révélés par le Nigrum

**Système 2** : Glucose 0,51 ; Galactose 0,46 ; Mannose 0,54 ; Rhamnose 0,65 et Xylose 0,59.

**Tableau VI.** Spots révélés par le système 2 et leurs Rf

		Système 2					
		temps de saturation 1h30; temps d'évaluation 3h					
Spots révélés par le Nigrum	R1	R2	R3	R4	R5	Etalon	
		0,28					
	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	Galactose	
			0,51			Glucose	
	0,54	0,54	0,54		0,54	Mannose	
			0,56				
	0,59				0,59	Xylose	
			0,61				
		0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	



--	--	--	--	--	--	--

**A**  
**Photo 5.** Chromatogramme du Système2 ; **A** : révélation par lampe UV-visible ; **B** : révélation par le nigrum

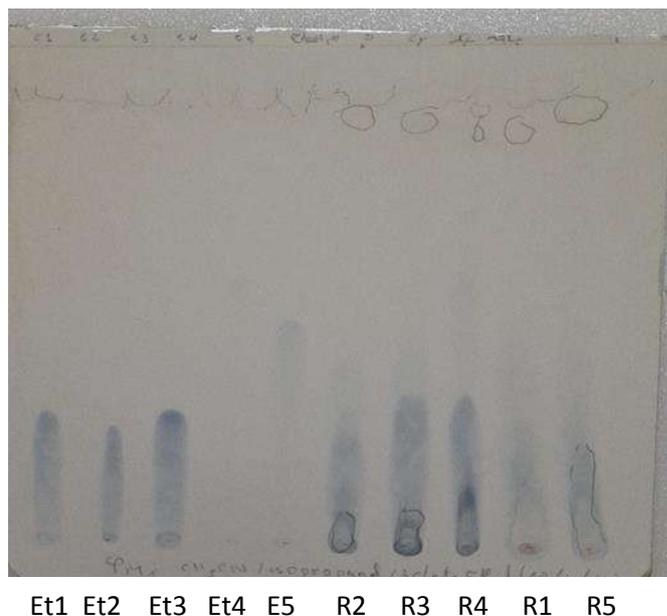
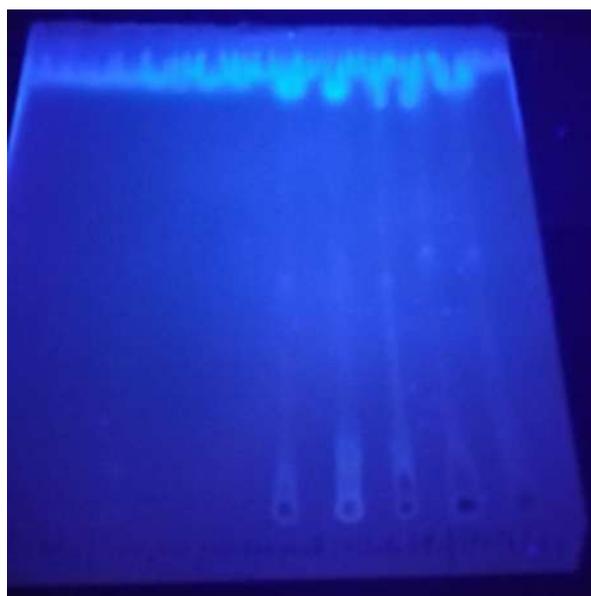
**Systeme 1** : cette phase mobile n'a pas abouti à une bonne séparation, car tous les extraits à séparer ainsi que les étalons présentent des trainées. (Photo 6)

Cependant, elle montre la présence d'un composé très polaire sous la lampe UV-visible avec un Rf de 0,88.

**Tableau VII.** Spots révélés par le système 1 et leurs Rf

		Système 1 temps de saturation 1h30; temps d'évaluation 1h					Etalon
		R1	R2	R3	R4	R5	
<b>Spots révélés par le Nigrum</b>		0,39				0,39	<b>Xylose</b>
					0,51		<b>Rhamnose</b>
				0,68			
<b>Lampe UV-Visible</b>				<b>B</b> 0,82			
				0,88			

**A**



**Photo 6.** Chromatogramme du Système1 ; **A** : révélation par lampe UV-visible ;

**B** : révélation par le nigrum

Après comparaison des rapports frontaux des tâches apparues avec ceux des étalons dans les différents systèmes, il apparaît que :

Les extraits **R1**, **R2**, **R3** contiennent : **glucose** – **galactose** – **xylose** – **mannose**.

L'extrait **R4** contient : **glucose** – **galactose** – **rhamnose**.

L'extrait **R5** contient : **galactose** – **xylose** – **mannose**.

Des tâches inconnues sont apparues, une analyse plus poussée est nécessaire pour révéler plus d'information sur la composition saccharidique de ces extraits.

Comme a rapporté BOUAL *et al.*, la chromatographie haute performance sur échangeurs d'anions des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parviflora* indique la présence du **galactose** (56,86%), du **rhamnose** (8,46%) et du **mannose** (5,05%) (28).

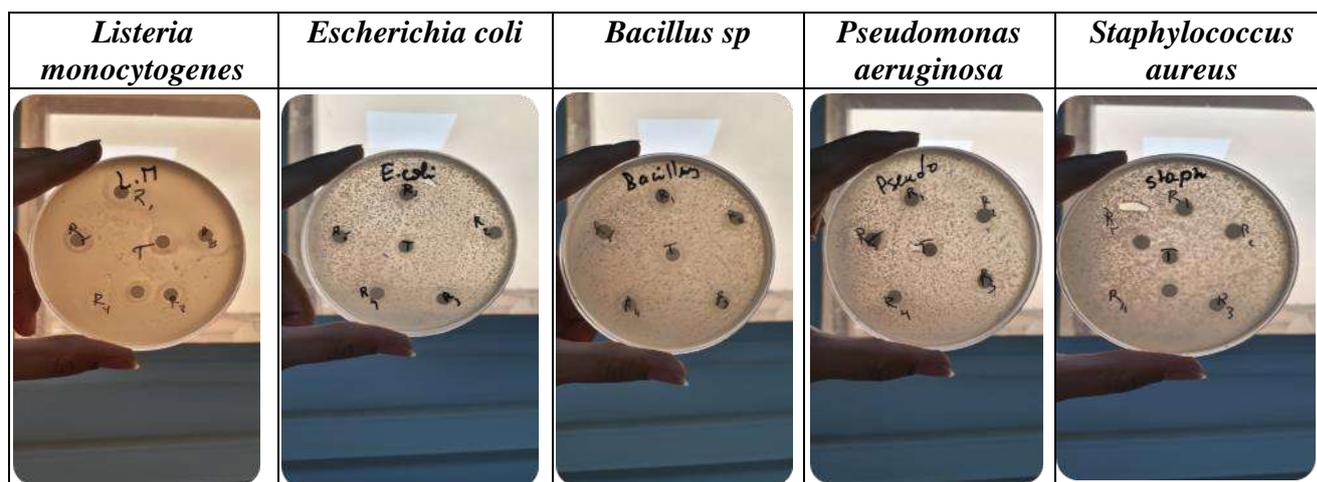
Le **xylose**, le **glucose**, le **galactose** et le **mannose** sont parmi les constituants principaux de l'extrait polysaccharidique des graines *Alhagi maurorum* Boiss, rapporte CHAKOU *et al.*(29).

Du même, les résultats du Wang, L. et ces collègues sur la farine de graines de coing chinois suggèrent que le **galactose**, **xylose**, **mannose**, le **glucose** et l'arabinose sont les monosaccharides prédominants dans leurs extraits (12).

### III. Activités biologiques des polysaccharides

#### 1) Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des cinq extraits est réalisée et elle a donné les résultats démontrés dans le tableau VIII ci- dessous :



**Tableau VIII.** Résultats de l'activité antibactérienne par méthode de diffusion

Comme on peut constater à partir des photos ci-dessus, **aucune activité antibactérienne** n'est signalée, avec absence totale des halos d'inhibition aux alentours des disques des extraits testés contre tous les bactéries sur lesquelles on a fait l'étude.

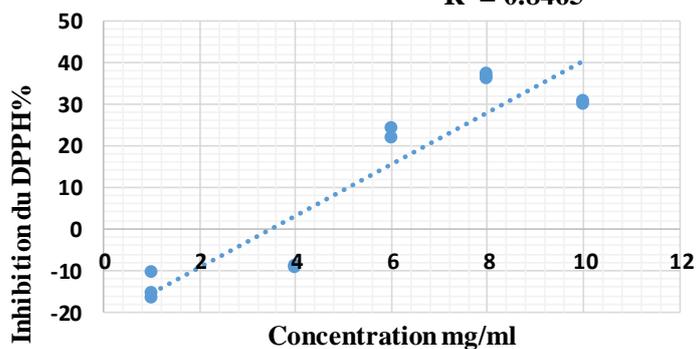
L'étude faite par RAHIM *et al.*, sur l'activité antibactérienne des extraits à l'éther de pétrole, l'acétate, et le chloroforme **des graines du coton** a révélé une efficacité moyenne avec 5 souches de bactéries pathogènes : *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Un pouvoir inhibiteur moyen à faible de l'extrait au butanol avec *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*; et sans effets sur les autres souches (33).

En effet, ces résultats n'excluent pas le fait que ces extraits peuvent présenter une activité vis-à-vis des bactéries ; cela est confirmé par l'étude de BOUAL *et al.*, sur **l'activité prébiotique** de la plante appartenant aussi à la famille des malvacées, où il précise : « *Les oligosaccharides provenant de l'hydrolyse partielle des polysaccharides hydrosolubles stimulent de manière significative la croissance de Bifidobacterium longum. Ainsi, l'effet prébiotique de ces oligosaccharides sur cette souche est notable* »(28).

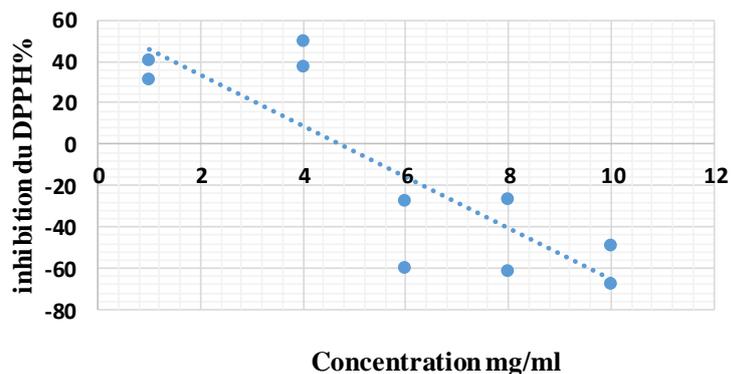
## 2) Activité anti-oxydante

L'activité anti radicalaire des différents extraits est estimée par le test DPPH°. Des courbes,

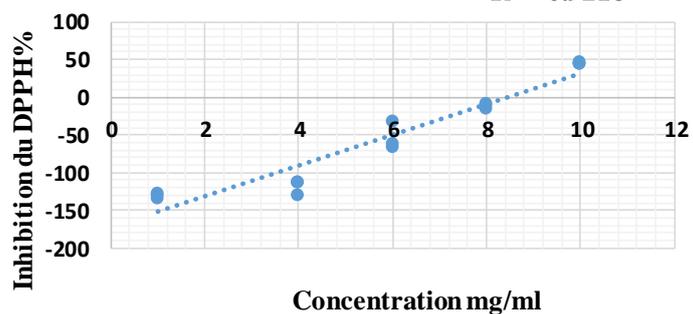
**R1**  $y = 6.1939x - 21.592$   
 $R^2 = 0.8465$



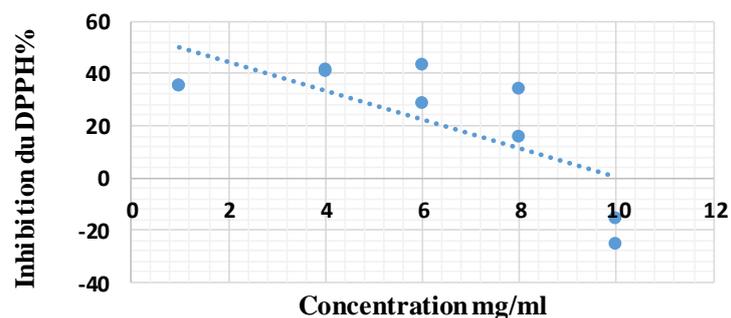
**R2**  $y = -12.325x + 58.018$   
 $R^2 = 0.7236$



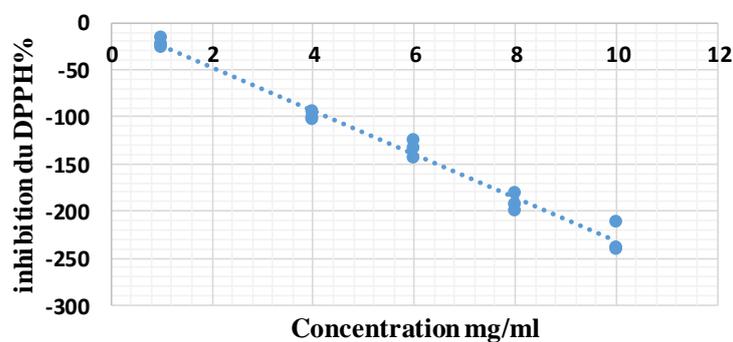
**R3**  $y = 20.334x - 172.16$   
 $R^2 = 0.9216$



**R4**  $y = -5.4908x + 55.301$   
 $R^2 = 0.5458$



**R5**  $y = -23.222x - 0.5297$   
 $R^2 = 0.9836$



de concentration en fonction du pourcentage d'inhibition de différents extraits, sont tracées (Figure 9).

**Figure 9.** Courbes représentant le pouvoir inhibiteur du radical DPPH° des différents extraits

L'IC50 est la concentration de l'extrait qui inhibe 50% des radicaux libres, cette valeur est calculée d'après la régression linéaire en remplaçant la valeur d'inhibition « y » par 50.

Les résultats sont exprimés par la valeur IC50, cette valeur est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante, c'est-à-dire, que plus la valeur IC50 est petite plus que l'activité antioxydante est élevée. Les valeurs d'IC50 des cinq fractions étudiées ainsi que le standard sont résumées dans le tableau IX.

**Tableau IX.** IC50 des différentes fractions et de l'acide ascorbique

IC50 mg/ml	
R1	11,56
R2	0,65
R3	10,93
R4	0,97
R5	-2,18
Acide ascorbique	0,23

La plus basse valeur IC50, correspondant à la meilleure activité anti radicalaire, est celle de **R2** et **R4** soit de 0,65 et 0,97 mg/ml respectivement, mais les deux restent supérieurs à celle du standard.

La valeurs d'IC50 du la fraction **R5** qui correspond à l'extrait de l'écorce externe de la graine est non interprétable (-2,18 mg/ml).

Les valeurs d'IC50 sont classées selon l'ordre croissant : **Vit C < R2 < R4 < R3 < R1** ; Tous les extraits ont montré une activité inférieure à l'acide ascorbique.

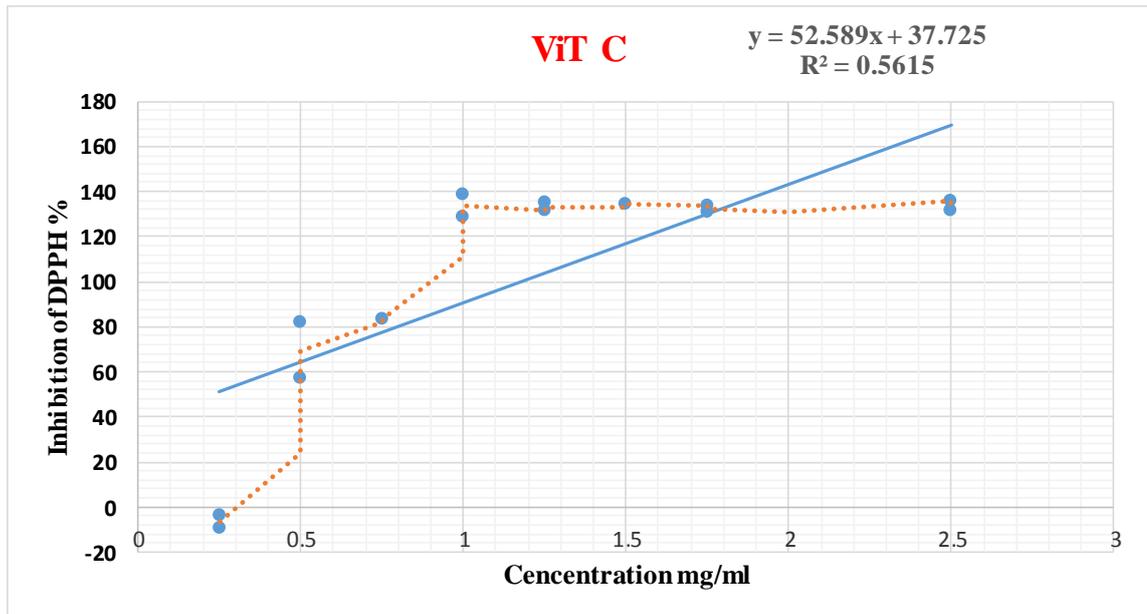
Seuls le **R1** et le **R3** ont démontré une activité de piégeage dépendante de la concentration contre le DPPH° dans la gamme de concentration testée, cependant, le pourcentage d'inhibition de **R2** et de **R4** est inversement proportionnel à la concentration dans cette gamme.

Le **R4** issu de la partie interne, plus précisément de la fraction éthanolique, présente une inhibition remarquable, ce qui peut être attribué aux polyphénols antioxydants contenus dans l'extrait (12).

Dans cette expérience, nous avons observé que les extraits ne sont pas complètement dissous, même si, en théorie, ils sont solubles dans l'eau. Il y avait quelques précipités ou suspensions avec la solution aqueuse. Cette observation pourrait avoir contribué en partie aux augmentations non linéaires de l'activité avec la concentration (9).

Nos résultats ne concordent pas avec celle de Kofi *et al.* où le test quantitatif du DPPH° sur les deux extraits des plantes a révélé qu'ils avaient tous des propriétés antioxydantes à différents degrés, avec des IC50 de 35,7 g/ml et 237 g/ml pour *Gossypium arboreum* et *Ficus asperifolia*,

respectivement. L'acide ascorbique, qui a été utilisé comme contrôle positif, a enregistré une valeur IC50 de 21,1 g/ml. Cette valeur se compare favorablement avec la valeur de la littérature de 21,04 g/ml pour l'acide ascorbique (6).



On constate d'après le graphe ci-dessous (Figure 10) que la valeur d'inhibition du radical DPPH° par la vitamine C est proportionnelle à la concentration jusqu'à sa stabilisation à partir d'une concentration d'environ 1 mg/ml.

**Figure 10.** Courbe représentant le pouvoir inhibiteur du radical DPPH° de l'acide ascorbique

# Conclusion et perspectives

Le coton (*Gossypium* spp.) est essentiellement produit pour sa fibre, qui est universellement utilisée comme matière première du textile. Le coton est un produit de base important dans l'économie mondiale. Cultivé dans plus de 100 pays, il fait l'objet d'un commerce intense, plus de 150 pays étant impliqués dans les exportations ou les importations de coton.

Le coton est également une culture très politique en raison de son importance dans le commerce mondial et pour les économies de nombreux pays en développement. Dans de nombreux pays, les exportations de coton constituent non seulement une contribution essentielle aux recettes en devises, mais représentent également une part importante du PIB (produit intérieur brut) et des recettes fiscales. Le coton joue un rôle majeur dans le développement économique de l'Afrique : 37 des 53 pays africains produisent du coton et 30 sont exportateurs.

Mais le cotonnier est bien plus qu'une simple source de fibres. Alors que la fibre est tissée pour fabriquer des vêtements et des textiles d'intérieur, les graines sont utilisées comme nourriture de haute qualité pour les bovins. Les graines peuvent également être pressées et transformées en huile de coton qui peut être utilisée dans la cuisine, ainsi que dans les cosmétiques, les savons et les produits alimentaires tels que les chips et les sauces pour salade.

Les peluches, laissées après le processus d'égrenage, sont souvent utilisées pour les fournitures médicales. Même les parties de la plante de coton qui seraient autrement considérées comme des déchets ont de nouvelles utilisations comme pour créer un emballage biodégradable qui peut être composté après usage.

Notre étude entre dans le cadre de valorisation d'un de ces sous-produits, les graines du coton, plus précisément la recherche des polysaccharides dans le tourteau dégraissé et mettre en évidence leurs importance par évaluation de leur activité antibactérienne et anti oxydante.

Elle a porté sur trois grands volets :

1- l'extraction a révélé un rendement de **12,16%** de polysaccharides dans les graines du coton avec une concentration dans la partie interne des graines de **20,26%**. Cela confirme que les polysaccharides des graines de coton méritent d'être exploités et introduits dans la gamme d'applications alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

2- la caractérisation biochimique a confirmé la nature des composants des extraits étudiés en montrant la quantité importante des oses neutres et précisant les différents monosaccharides constitutifs, tels que le glucose, le galactose, le xylose et le mannose.

3- l'exploration de l'activité biologique des différentes fractions nous a permis de tester l'effet anti bactérien qui est revenu négatif sur toutes les souches testées, en plus du pouvoir anti oxydant qui a donné des résultats prometteurs, tels que l'IC50 du **R2** soit de 0,65 mg/ml.

## **Perspectives**

Afin de confirmer les résultats obtenus par CCM et identifier les spots inconnus, un appel à des techniques plus avancées comme la HPLC couplée au réfractomètre ou HPAEC-PAD est suggérée pour caractériser précisément les résidus glycosidiques constituant les polysaccharides des graines de coton.

Cette caractérisation couplée avec une purification des extraits est très importante afin de pouvoir connaître les composés responsables des effets biologiques étudiés, cela permettra une meilleure évaluation des activités biologiques tels que l'activité prébiotique probable de nos extraits.

# Références bibliographiques

1. Egbuta MA, McIntosh S, Waters DLE, Vancov T, Liu L. Biological importance of cotton by-products relative to chemical constituents of the cotton plant. *Molecules*. 2017;22(1):12–4.
2. Naznin Nahar MST, Shamsi S. In vitro screening of fungicides and plant extracts against six pathogenic fungi isolated from cotton (*Gossypium arboreum* L.) seed. *Bangladesh J Bot*. 2020;49(2):197–204.
3. Rahim O, Guerrah S, Hamra H. Contribution à l'Etude des Extraits de Graines de *Gossypium Arboreum* et Leur Effet Antimicrobien sur Certaines Bacteries Pathogenes = Contribution to the Study of *Gossypium Arboreum* Seed Extracts and Their Antimicrobial Effect on Certain Pathogenic Bacteria. *Rev des Bioressources*. 2015;5(1):18–28.
4. Maran JP, Nivetha CV, Priya B, Al-Dhabi NA, Ponmurugan K, Manoj JJB. Modeling of polysaccharide extraction from *Gossypium arboreum* L. seed using central composite rotatable design. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2016;86:857–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.094>
5. Nix A, Paull C, Colgrave M. Flavonoid profile of the cotton plant, *Gossypium hirsutum*: A review. *Plants*. 2017;6(4).
6. Annan K, Houghton PJ. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of aqueous extracts of *Ficus asperifolia* Miq. and *Gossypium arboreum* L., wound-healing plants of Ghana. *J Ethnopharmacol*. 2008;119(1):141–4.
7. I. A. Ivanova HTT, Shakirov and TT. ISOLATION OF RAFFINOSE FROM COTTONSEED MEAL. *Plenum Publ Corp*. 1984;(6):695–8.
8. Kuo TM, VanMiddlesworth JF, Wolf WJ. Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. *J Agric Food Chem*. 1988;36(1):32–6.
9. He Z, Zhang D, Olanya OM. Antioxidant activities of the water-soluble fractions of glandless and glanded cottonseed protein. *Food Chem* [Internet]. 2020;325(October 2019):126907. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126907>
10. Kato K, Abe M, Ishiguro K, Ueno Y. Isolation and characterization of new tetrasaccharides from cottonseed. *Agric Biol Chem*. 1979;43(2):293–7.
11. Safaryan MJ, Ganjloo A, Bimakr M, Zarringhalami S. Optimization of ultrasound-assisted extraction, preliminary characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from green pea pods. *Foods*. 2016;5(4):1–15.
12. Wang L, Liu HM, Qin GY. Structure characterization and antioxidant activity of polysaccharides from Chinese quince seed meal. *Food Chem* [Internet]. 2017;234:314–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.002>
13. Redouan E, Emmanuel P, Christine B, Bernard C, Josiane C, Cédric D. Development of new ulvan-like polymer by regioselective oxidation of gellan exopolysaccharide using TEMPO reagent. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2010;80(2):485–90. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.12.007>

14. Chen J, Zhang T, Jiang B, Mu W, Miao M. Characterization and antioxidant activity of Ginkgo biloba exocarp polysaccharides. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2012;87(1):40–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.083>
15. Delattre C, Pierre G, Gardarin C, Traikia M, Elboutachfai R, Isogai A, et al. Antioxidant activities of a polyglucuronic acid sodium salt obtained from TEMPO-mediated oxidation of xanthan. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2015;116:34–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.054>
16. Redouan E, Emmanuel P, Michelle P, Bernard C, Josiane C, Cédric D. Evaluation of antioxidant capacity of ulvan-like polymer obtained by regioselective oxidation of gellan exopolysaccharide. *Food Chem* [Internet]. 2011;127(3):976–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.067>
17. Malika S, Zakaria B, Philippe M, Hadj EL, Didi M. EXTRACTION ET CARACTÉRISATION PARTIELLE DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES DE FEUILLES DE L'ESPÈCE DE *Zygophyllum album* L. RÉCOLTÉE AU SAHARA ALGÉRIEN. 2017;(Polysac):44–52.
18. Diallo D, Sanogo R, Yasambou H, Traoré A, Coulibaly K, Maïga A. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes Rendus Chim.* 2004;7(10–11):1073–80.
19. Guo R, Cao N, Wu Y, Wu J. Optimized extraction and molecular characterization of polysaccharides from *Sophora alopecuroides* L. seeds [Internet]. Vol. 82, *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V.; 2016. 231–242 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.002>
20. Dubois M, Gilles K, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. A colorimetric method for the determination of sugars. *Nature.* 1951;168(4265):167.
21. Monsigny M, Petit C, Roche AC. Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acid micromethod. *Anal Biochem.* 1988;175(2):525–30.
22. Ruiz G. Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse Dr ,Université Limoges. 2005;
23. Delattre C. Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Amiens; 2005.
24. Niu Y, Wang H, Xie Z, Whent M, Gao X, Zhang X, et al. Structural analysis and bioactivity of a polysaccharide from the roots of *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao. *Food Chem* [Internet]. 2011;128(3):620–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.055>
25. Yang C, Guan J, Zhang JS, Li SP. Use of HPTLC to differentiate among the crude polysaccharides in six traditional Chinese medicines. *J Planar Chromatogr - Mod TLC.* 2010;23(1):46–9.
26. Pediatrica C. Q Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam - Printed in The Netherlands CHREV. 95 THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY OF CARBOHYDRATES M. GHEBREGZABEIER, S. RUFINI, B. MONALDI and M. LATO. 1976;127(5):133–62.
27. Partir PAÀ, Graines DES. Séminaire International Polysaccharides de plantes de milieux arides ( POLYSAC 2017 ) EXTRACTION AND PRELIMINARY CHARACTERIZATION

OF ALKALI-SOLUBLE POLYSACCHARIDES FROM *Plantago cili* ... EXTRACTION AND PRELIMINARY CHARACTERIZATION OF ALKALI-SOLUBLE POLYSACCHARIDES FROM *Plantago ciliata* DESF . SEEDS. 2020;(February).

28. Boual Z, Kemassi A, Oudjana AH, Michaud P. C ARACTÉRISATION P ARTIELLE DES P OLYSACCHARIDES H YDROSOLUBLES DES F EUILLES DE M ALVA PARVIFLORA L . Leban Sci J. 2013;14(2):41–51.
29. CHAKOU Fatma Zohra, BOUAL Zakaria, MEHELLOU Zineb AN et OEHMD. CARACTERISATION PARTIELLE DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES ISSUS DE GRAINES D'Alhagi maurorum BOISS. 2017;(November).
30. Ghania A, Zakaria B, KHELIL A. EXTRACTION, CARACTERISATION PARTIELLE ET L'ACTIVITES ANTIOXYDANTES DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES DES NOYAUX DES DATTES: VARIETE GHARS. 2017;(Polysac):115–21.
31. DAVID JH, HAZEL P. Analytical biochemistry, 3ème Edition. Ed. Prentice Hall, Angleterre, 336p; 1998.
32. Chouana T. Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d ' Astragalus gombo bunge To cite this version : HAL Id : tel-02414068 Thèse polysaccharides d ' Astragalus gombo bunge . 2019;
33. Oumelkheir R, Messaouda A, Amel B. BIOLOGICAL AND PHYTOCHEMICAL EVALUATION OF NATURAL SUBSTANCES IN BUTANOL AND ACETATE EXTRACTS OF *Gossypium arboreum*. 2017;(Polysac):2017.

# Annexe 1

Des photos montrant l'arbuste d'où nous avons pris notre échantillon, ainsi que l'aspect de sa fleur, sa capsule et ses feuilles.



## ملخص

من أجل تقييم المخلفات الناتجة عن صناعة القطن ، بدأت العديد من الدراسات مؤخرًا في التركيز على المواد الكيميائية النباتية المرتبطة بأجزاء مختلفة من نبات القطن وعلى أنشطتها البيولوجية. اهتمنا بتقدير قيمة بذور القطن من خلال البحث عن السكريات وتقييم أنشطتها المضادة للبكتيريا والأوكسدة. بعد إزالة الدسم بإيثانول والمعالجة بالإيثانول ، تم الاستخلاص بالماء المقطر تحت ظروف مختلفة ، زمن الاستخلاص (2-3 ساعات) ودرجة حرارة الاستخلاص (60-80 درجة مئوية) ، تم الترسيب باستعمال الأسيتون. إجمالي ناتج الكتلة لمستخلص عديد السكاريد القابل للذوبان في الماء هو 12.16% و 5.67% ، 20.26% من الجزء الداخلي والخارجي للبذور ، على التوالي. من بين الأجزاء الخمسة التي تمت دراستها ، كان لـ R4 أعلى محصول في إجمالي السكريات ، أي  $3.13 \pm 0.49\%$  ، في حين أن العائد في السكريات المحايدة كان مرتفع بشكل ملحوظ في R2 و R3 و R4 ، أي  $26.52 \pm 5.78\%$  ،  $21.73 \pm 1.85\%$  و  $25.84 \pm 8.53\%$  على التوالي. كشف كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عن السكريات الأحادية التالية: الجلوكوز والجالكتوز والكزيلوز والمانوز ورامنوز. لم تظهر المستخلصات نشاطًا مضادًا للبكتيريا ضد خمس سلالات جرثومية مسجلة. نوعان من البكتيريا سالبة الجرام: *Pseudomonas aeruginosa* و *Echerichia coli* ، وثلاث بكتيريا موجبة الجرام: *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* و *Bacillus spp.* كما تم تقدير النشاط المضاد للجذور الحرة للمستخلصات بواسطة اختبار DPPH° ، وأقل قيمة IC50 تقابل تلك الخاصة بـ R2 و R4 ، أي 0.65 و 0.97 مجم / مل على التوالي. أكدت نتائج هذا العمل أن السكريات المتعددة من بذور القطن تستحق المزيد من الاستغلال وإدخالها في مجموعة من التطبيقات الغذائية والصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: قطن، بذور، السكريات، مضادات الأوكسدة، مضاد البكتيريا

## Abstract

In order to valorize the waste products of the cotton industry, several studies have recently started to focus on the phytochemical compounds found in the different parts of the cotton plant and on their biological activities. We are interested in the valorization of cotton seeds by the research of polysaccharides and the evaluation of their antibacterial and antioxidant activities. After being defatted with petroleum ether and treated with ethanol, the extraction is carried out with distilled water under various conditions, ie. extraction time (2-3 h) and extraction temperature (60-80°C), the precipitation is carried out by adding acetone. The total mass yield of the extract of water-soluble polysaccharides was 12.16%, with 5.67% and 20.26% of the internal and external part of the seeds, respectively. Among the 5 fractions studied, R4 had the highest yield of total oses i.e.  $3.13 \pm 0.49\%$ , while the yield of neutral oses is remarkably high in R2, R3 and R4 of  $26.52 \pm 5.78\%$ ,  $21.73 \pm 1.85\%$  and  $25.84 \pm 8.53\%$  respectively. Thin layer chromatography revealed the following monosaccharides: glucose, galactose, xylose, mannose and rhamnose. The extracts showed no antibacterial activity against five referenced bacterial strains; two Gram-negative bacteria: *Pseudomonas aeruginosa* and *Echerichia coli*, and three Gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus spp.* The anti-radical activity of the extracts was estimated by DPPH° test, the lowest IC50 value corresponds to that of R2 and R4, 0.65 and 0.97 mg/ml respectively. The results of this work confirmed that the polysaccharides obtained from cotton seeds deserve to be exploited in a more advanced way and introduced in the range of food and pharmaceutical applications.

**Keywords:** cotton; seeds; polysaccharides; antioxidants; antibacterial

## Résumé

Afin de valoriser les déchets de l'industrie du coton, plusieurs études ont commencé récemment à se concentrer sur les composés phytochimiques associés aux différentes parties du cotonnier et sur leurs activités biologiques. Nous nous sommes intéressés à la valorisation des graines de coton par la recherche des polysaccharides et l'évaluation de leurs activités antibactérienne et antioxydante. Après une délipidation à l'éther de pétrole et un traitement par l'éthanol, l'extraction est réalisée à l'eau distillée dans diverses conditions, à savoir la durée d'extraction (2-3 h) et la température d'extraction (60-80°C), la précipitation est effectuée par l'ajout de l'acétone. Le rendement massique total de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles est de 12,16%, avec 5,67% et 20,26% de la partie interne et externe des graines, respectivement. Parmi les 5 fractions étudiés, le R4 avait le rendement le plus élevé en oses totaux soit  $3,13 \pm 0,49\%$ , tandis que le rendement en oses neutres est remarquablement élevé dans R2, R3 et R4 soit  $26,52 \pm 5,78\%$ ,  $21,73 \pm 1,85\%$  et  $25,84 \pm 8,53\%$  respectivement. La chromatographie par couche mince a révélé les monosaccharides suivant : glucose, galactose, xylose, mannose et rhamnose. Les extraits n'ont pas montré d'activité antibactérienne contre cinq souches bactériennes référencées ; deux bactéries Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* et *Echerichia coli*, et trois bactéries Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus spp.* L'activité anti radicalaire des extraits a été estimée par le test DPPH°, la plus basse valeur IC50 correspond à celle de R2 et R4 soit de 0,65 et 0,97 mg/ml respectivement. Les résultats de ce travail ont confirmé que les polysaccharides issus des graines du coton méritent d'être exploité d'une manière plus poussée et introduite dans la gamme d'applications alimentaires et pharmaceutiques.