

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université Badji Mokhtar Annaba

Badji Mokhtar University
Annaba

جامعة باجي مختار
عنابة



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie appliquée

Thèse
Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD (3^{ème} Cycle)
Option : Biochimie Appliquée
Présentée Par

CHIDOUH AMINA

Thème

**Caractérisations chimiques et physico-chimiques des extraits
hydrosolubles du myrte (*Myrtus communis*)**

Devant le jury :

Président : Mr : **LADJAMA A** (Prof) Université Badji Mokhtar - Annaba
Directeur de thèse: Mr : **AOUADI S** (MC A) Université Badji Mokhtar - Annaba
Examineur : Mr : **MESSARAH M** (Prof) Université Badji Mokhtar - Annaba
Examinatrice : Mme : **SOUIKI L** (MC A) Université 8 Mai 1945 - Guelma
Examineur : Mr : **HAOUAM A** (Prof) Université Constantine 1

2013-2014

Remerciements

"L'Homme est un Homme avec l'autre" selon Nietzsche. Cette citation prend tout son sens quand il s'agit de présenter en son nom le travail d'une équipe et l'aboutissement d'un effort intellectuel et technologique partagé. Je tiens à remercier ici tous ceux qui ont contribué, de très près comme d'un peu plus loin, à ce que le fruit mûrisse à la lumière des points de vue propres à chacun.

Je remercie le directeur de thèse: docteur AOUADI Saoudi, maître de conférences du département de Biochimie, Université Badji Mokhtar Annaba pour avoir accepté de m'encadrer et pour ses conseils et ses précieuses orientations qu'elle n'a cessé de m'apporter tout au long de ce travail.

J'adresse ensuite toute ma reconnaissance à Monsieur LADJAMA Ali, professeur du département de Biochimie, Université Badji Mokhtar Annaba et directeur de laboratoire de Biochimie et Microbiologie appliquée pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Tous mes remerciements s'adressent aux: professeur MESSARAH Mahfoud du département de Biochimie, Université Badji Mokhtar Annaba, professeur HAOUAM Abdelkrim du département de chimie, Université Constantine 1 et docteur SOUIKI Lynda, maître de conférences du département de Biologie, Université 8 Mai 1945 GUELMA.

Je souhaite exprimer ma plus sincère reconnaissance aussi à Monsieur le docteur HEYRAUD Alain de Grenoble (France), directeur de recherche au Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales (CERMAV) de m'avoir accueillie dans son équipe "Structure et modifications des polysaccharides" pour sa grande compétence, sa disponibilité et sa gentillesse qui m'ont, entre autres, permis de mener à bien et dans les meilleures conditions de nombreuses expériences.

Je remercie le Directeur du Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales docteur Redouane Borsali de Grenoble, directeur de Recherche au CNRS de m'y avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Je désire témoigner ma gratitude aux personnes qui ont collaboré à la réalisation de ce travail de près ou de loin, notamment MARAIS Marie-France, JEACOMINE Isabelle, et BUON Laurine.

Je remercie toutes les personnes du CERMAV, chercheurs, étudiants pour leur aide, leurs encouragements et leur bonne humeur de tous les jours.

Je tiens à remercier tous les membres de ma famille, merci à mes parents, mon mari d'avoir toujours cru en moi, pour leur soutien sans faille depuis toujours. Jamais je n'aurai réussi sans eux.

Je remercie toutes mes amies sans préciser les noms afin de n'oublier personne pour leurs encouragements, leur participation d'une façon ou d'une autre et pour les moments extraordinaires inoubliables.

المخلص

ثمار الآس (الآس الشائع L)، نوع صالح للأكل يستخدم في المجالات الغذائية،الصناعية والطبية تم جنيها في منطقة عنابة (شرق الجزائر). بعد العلاج الايثانولي في 85% (ح/ح). الغير قابل للذوبان الايثانولي (ETOH راسب) استخلص في الماء الساخن، باستخدام النسبة الصلبة/السائلة 1:40 (ح/و) في 80 درجة مئوية لمدة 24 ساعة متبوع بالترسيب في الايثانول 70% (ح/ح).

تم تجزأة الجزء الذائب في الايثانول بواسطة كروماتوغرافيا الاستبعاد الفراغية (SEC). تشير النتائج إلى أنه يتكون من ستة أجزاء P2-(F1, F2, F3, F4, F5, F6) بالإضافة إلى P4-(F1, F2, F3, F4, F5, F6) بعد الفصل بواسطة بيو-جل P2 و بيو-جل P4 على التوالي.

تحليل تكوين للسكريات الأحادية بواسطة كروماتوغرافيا تبادل أنيون عالية الأداء بنافض الكشف تجاه المؤثرات الخارجية (HPAE –PAD) قد أظهرت أن الراسب الايثانولي يتكون من الأرابينوجالاكتان، الرمنوجالاكتورونان والاكسيلوجلوكان. تتكون الاجزاء المختلفة القابلة للذوبان في الإيثانول من الأرابينوجالاكتان، السيكليتول (و/او الالديتول) والغلوكوز.

نتائج مطيافية الرنين المغناطيسي النووي ^1H و ^{13}C أظهرت وجود الأحماض العضوية، الأنتوسيانين، الاوليجو ساكاريد و الغلوكوز في هذه الاجزاء.

من المثير للاهتمام أن نلاحظ النسبة المرتفعة للغلوكوز الحر (65-70%) الواردة في الجزء القابل للذوبان في الايثانول.

الكلمات المفتاحية: ميرتل ؛ الآس الشائع ؛الثمرة، تجزئة ؛ تحليل : HPAEC -PAD ؛ التحليل الطيفي ^{13}C ^1H NMR.

Résumé

Les fruits de myrte (*Myrtus communis* L.), une espèce comestible utilisée à des fins alimentaires, industrielles et médicinales ont été récoltés dans la région d'Annaba (Nord-Est, Algérie). Après traitement éthanolique à 85% (v/v). L'insoluble éthanolique (précipité EtOH) a été extrait à l'eau chaude, en utilisant un rapport solide/liquide de 1:40 (p/v) à 80 °C pendant 24 h suivie d'une précipitation à l'éthanol 70% (v/v). La fraction soluble dans l'éthanol a été fractionnée par chromatographie d'exclusion stérique (SEC). Les résultats indiquent qu'elle est constituée de six fractions P2-(F1, F2, F3, F4, F5, F6), ainsi que P4-(F1, F2, F3, F4, F5, F6) après séparation par Bio-Gel P2 et Bio-Gel P4 respectivement.

L'analyse de la composition en monosaccharides par la chromatographie échangeuse d'anions haute performance à détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD) a montré que le précipité EtOH est composé d'arabinogalactane, rhanmnogalacturonane-I (RG-I) et de xyloglucane. Les différentes fractions soluble dans l'éthanol sont constituées d'arabinogalactane, cyclitols (et/ou alditols) et glucose.

Les résultats de la spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C ont montré la présence d'acides organiques, anthocyanes, oligosaccharides, glucose, arabinogalactane, cyclitols et glucose dans ces fractions.

Il est intéressant de noter le taux élevé du glucose libre (65-70 %) contenu dans la fraction soluble dans l'éthanol.

Mots clés: Myrte; *Myrtus communis*; Baie; Fractionnement; Analyse: HPAEC-PAD; Spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C .

Abstract

Myrtle fruits (*Myrtus communis* L.), an edible species used for food, industrial and medicinal purposes were collected from Annaba (North-East of Algeria). After ethanolic treatment with 85% ethanol (v/v). The ethanolic insoluble (EtOH precipitate) was extracted with hot water, using a solid/liquid ratio of 1:40 (w/v) at 80 °C for 24 h followed by precipitation with 70 % (v/v) ethanol. The ethanol-soluble fraction was fractionated by size exclusion chromatography (SEC). The results indicate that it is composed of six fractions P2-(F1, F2, F3, F4, F5, F6), as well as P4-(F1, F2, F3, F4, F5, F6) after separation by Bio-Gel P2 and Bio-Gel P4 respectively.

Monosaccharide composition analysis by anion-exchange chromatography with high performance pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) showed that the EtOH precipitate was composed of arabinogalactan, rhamnogalacturonane-I (RG-I) and xyloglucan. The different ethanol-soluble fractions consisted of arabinogalactan, cyclitols (and/or alditols) and glucose.

The results of ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy indicated the presence of organic acids, anthocyanins, oligosaccharides, glucose, arabinogalactan, cyclitols and glucose in this fractions.

It is interesting to note the high level of free glucose (65-70%) contained in the ethanol soluble fraction.

Keywords: Myrtle; *Myrtus communis*; Berry ; Fractionation; Analysis: HPAEC-PAD; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy.

Abréviations

Produits chimiques

EtOH	Ethanol
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
D ₂ O	L'eau lourde
NaBH ₄	Sodium borohydrure

Oses

SN	Sucres neutres
AU	Acides Uroniques
Ara	Arabinose
Gal	Galactose
Rha	Rhamnose
GalA	Acide galacturonique
Glc	Glucose
Xyl	Xylose
Man	Mannose
GlcA	Acide glucuronique

Techniques

RMN ¹ H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ¹³ C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
SEC	Chromatographie d'exclusion stérique
HPAEC-PAD	Chromatographie à haute performance d'échange d'anions avec détection ampérométrique pulsée

Caractérisation des polysaccharides

DP	Degré de polymérisation
DM	Degré de méthylation

Divers

%	Pourcentage
M	Molarité
N	Normalité
ml	Millilitre
l	Litre
°C	Degré Celsius

h	Heure
min	Minute
ppm	Partie par million
δ	Déplacement chimique exprimé en ppm
mg	Milligramme
pH	Potentiel hydrogène
V	Volume
g	Gramme
p	Poids
rpm	Rotation par minute
\emptyset	Diamètre
cm	Centimètre
m	Mètre
mm	Millimètre
Hz	Hertz
S	Seconde
d	Doublet
dd	Doublet de doublet

Liste des figures

Chapitre I:

Figure I. 1 : Distribution de <i>Myrtus communis</i>	5
Figure I. 2: Caractéristiques botaniques de <i>Myrtus communis</i>	6
Figure I. 3: Structure chimique de l'acide citrique (A) et de l'acide malique (B).....	7
Figure I. 4 : Structure de l'acide linoléique (A), de l'acide oléique (B), de l'acide palmitique (C) et de l'acide stéarique (D).....	9
Figure I. 5: Les flavonoïdes dans les fruits de <i>M. communis</i>	10
Figure I. 6: Schéma des anthocyanes dans les baies de <i>M. communis</i>	11
Figure I.7: Structure de l'acide gallique.....	11
Figure II.1: Modèle simplifié représentant les différents constituants des parois cellulaires végétales.....	16
Figure II. 2: Représentation schématique de la paroi primaire de type I (d'après Carpita et McCann, 2000).....	17
Figure II. 3: Molécule de cellulose et modélisation de l'assemblage des fibres celluloses.....	18
Figure II. 4: Représentation schématique du réseau cellulose/hémicellulose.....	19
Figure II.5: Représentation schématique de la structure des pectines d'après Vincken, <i>et al.</i>	20
Figure II.6: Structure des substances pectiques avec les zones «lisses» et «hérissées» d'après Voragen <i>et al.</i>	21
Figure III. 1: Schéma général de l'extraction des glycanes.....	24

Chapitre II :

Figure I. 1. Fruits de <i>Myrtus communis</i>	30
Figure I. 2: Schéma de l'extraction et de la caractérisation du précipité éthanolique à partir de fruits (<i>Myrtus communis</i>).....	32
Figure I.3: Représentation schématique d'un appareillage de SEC.....	33
Figure I. 4: Principe de la chromatographie d'exclusion stérique.....	34
Figure I. 5: Schéma de l'extraction et de la caractérisation de la fraction soluble dans l'éthanol à partir de fruits <i>Myrtus communis</i>	35
Figure I. 6: Schématisation d'un appareil à RMN.....	38

Chapitre III:

Figure I. 1: La chromatographie d'exclusion stérique donne la composition de la fraction soluble dans l'éthanol en utilisant les colonnes de Bio-Gel P2 (A), une colonne de Bio-Gel P4 (B).....	44
Figure I. 2: Chromatogramme de la séparation de la fraction P4-F3 sur Bio-Gel P2.....	47

Figure I. 3: Composition de l'extrait éthanolique	50
Figure I. 4: Chromatogramme de la fraction P2-F1	57
Figure I. 5: Chromatogramme de la fraction P4-F3 (6P2).....	59
Figure I. 6: Chromatogramme de la fraction P4-F3 (7P2).....	62
Figure I. 7: Spectre RMN ¹ H de la fraction P2-F1.....	65
Figure I. 8: Spectre RMN ¹ H de la fraction P2-F2.....	67
Figure I. 9: Spectre RMN ¹ H de la fraction P4-F2.....	72
Figure I. 10: Spectre RMN ¹ H de la fraction P2-F6.....	74
Figure I. 11: Spectre RMN ¹³ C de la fraction P4-F1.....	76
Figure I. 12: RMN ¹³ C de la fraction P4-F3.....	78
Figure I. 13: spectre RMN ¹ H de la fraction P2-F3.....	80

Liste des tableaux

Chapitre I:

Tableau I. 1: Taxonomie de *Myrtus communis*.....4

Tableau I. 2: La composition d'huile essentielle du fruit de myrte.....8

Chapitre II:

Tableau I. 1: Programme de gradient pour les échantillons analysés.....37

Chapitre III:

Tableau I.1: Rendement de précipité éthanolique.....40

Tableau I. 2: Rendement de la fraction soluble dans l'éthanol.....41

Tableau I. 3: Rendements des différentes fractions extraites.....41

Tableau I. 4: Le pourcentage^a des fractions solubles dans l'éthanol
obtenues après séparation sur Bio-Gel P2.....45

Tableau I. 5: Le pourcentage^a des fractions solubles dans
l'éthanol obtenues après séparation sur Bio-Gel P4.....46

Tableau I. 6: Le pourcentage^a des fractions issues
de P4-F3 sur Bio-Gel P2.....48

Tableau I. 7: Le pourcentage^a des fractions solubles dans l'éthanol obtenues
après séparations sur Bio-Gel P2 et Bio-Gel P4 et les fractions issues de
P4-F3 sur Bio-Gel P2.....48

Tableau I. 8 : La composition en sucre de précipité EtOH isolé.....51

Tableau I. 9: La composition^a en sucre de la fraction P2-F1.....58

Tableau I. 10: La composition^a en sucre de la fraction P4-F3 (6P2).....60

Tableau I. 11: La composition^a en sucre de la fraction P4-F3 (7P2).....63

Tableau I. 12: La composition en sucre de précipité EtOH isolé
et des fractions obtenues après séparation par CES.....64

Sommaire

Remerciements	
الملخص	
Résumé	
Abstract	
Abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
Chapitre I: Données bibliographiques	
Partie I: Végétaux	
I. Généralités.....	3
I. 1. Le monde végétal.....	3
I. 2. Une famille d'origine tropicale: les Myrtaceae.....	3
I. 3. Une espèce circum-méditerranéenne: <i>Myrtus communis</i>	3
I. 3. 1. Dénominations selon la nomenclature.....	3
I. 3. 2. Position systématique.....	4
I. 3. 3. Description botanique et écologie.....	4
I. 4. Les fruits de <i>Myrtus communis</i>	6
I. 4. 1. Les métabolites.....	6
I. 5. Utilisations.....	12
I. 5. 1. Utilisation traditionnelle.....	12
I. 5. 2. Utilisation médicinale.....	12
I. 5. 3. Utilisation industrielle.....	12
I. 5. 4. Utilisation culinaire.....	12
Partie II: Les constituants glucidiques des végétaux	
II. 1. Les glucides.....	14
II. 1. 1. Les polysaccharides.....	14
II. 2. Structure et composition polysaccharidique de la paroi végétale.....	15
II. 2. 1. Organisation de la paroi cellulaire végétale.....	15
II. 2. 2. Les polysaccharides pariétaux.....	17
Partie III: Structure primaire des polysaccharides	
III. 1.Extraction.....	24
III. 2. Purification.....	24
III. 3. Etude structurale des polysaccharides.....	25
III. 3. 1. Identification et dosage des monosaccharides.....	25
III. 3. 2. Détermination de la configuration absolue des résidus glycosidiques.....	26
III. 3. 3. Position des liaisons glycosidiques	26

III. 3. 4. Détermination de la séquence glycosidique.....	27
III. 3. 5. Anomérie des liaisons.....	27
III. 3. 6. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	27
III. 3. 7. Degré de polymérisation.....	28
Chapitre II: Matériels et Méthodes	
I. Matériels et méthodes.....	30
I. 1. Matières premières.....	30
I. 2. Taux de cendre.....	30
I. 3. Extraction de précipité EtOH.....	30
I. 3. 1. Traitement de fruit du myrte avec l'éthanol (85%).....	30
I. 4. La chromatographie d'exclusion stérique (CES).....	33
I. 4. 1. Principe.....	33
I. 4. 2. Protocole.....	34
I. 5. Analyse de la composition en sucre par HPAEC-PAD.....	36
I. 5. 1. Principe.....	36
I. 5. 2. Protocole.....	37
I. 6. La résonance magnétique nucléaire (RMN).....	38
I. 6. 1. Principe.....	38
I. 6. 2. Protocole.....	38
Chapitre III: Résultats et discussion	
I. 1. Rendements d'extraction.....	40
I. 2. Taux de cendre.....	42
I. 3. Extraction de précipité EtOH.....	42
I. 4. Chromatographie d'exclusion stérique (CES).....	43
I. 5. La composition en sucre.....	49
I. 5. 1. Le précipité EtOH.....	50
I. 5. 2. Les fractions solubles dans l'éthanol.....	57
I. 6. Analyse par spectroscopie RMN.....	64
Conclusion et perspectives.....	81
Références bibliographiques.....	83

Introduction générale

Introduction générale

Au cours de ces dernières décennies (2008, 2009, 2010, 2011, 2012 et 2013), de nombreuses études ont été menées sur l'extraction et l'analyse structurale de polysaccharides à partir de fruits comestibles utilisés dans la médecine traditionnelle. Cette valorisation a permis de préparer des biopolymères ayant des propriétés fonctionnelles technologiques ou biologiques bien définies. Parmi ceux-ci, le fruit de myrte (*Myrtus communis*) connaît actuellement un développement de plus en plus prépondérant. Il a atteint le stade industriel dans la fabrication de confitures, gelées et la préparation de boissons. Les résidus pariétaux, sous produits de l'industrie des jus de fruits de myrte, peuvent être isolés et utilisés dans des applications variées en fonction de leurs diverses caractéristiques.

Les parois cellulaires des végétaux supérieurs sont constitués par des agrégats de molécules de cellulose appelés microfibrilles enrobés dans une matrice constituée par divers polysides et par de la lignine.

En utilisant comme matériel d'étude des cellules cultivées *in vitro*, Albersheim et son groupe [1] ont montré que les parois primaires, même lorsqu'elles proviennent de différentes variétés de plantes supérieures, présentent une grande similitude dans leur composition polysaccharidique tout en montrant des caractéristiques propres à la variété dont elles sont issues. Directement lié aux microfibrilles de cellulose, on trouve des hémicelluloses de type xyloglucane. Ces hétéropolysaccharides sont liés à la cellulose par liaison hydrogène, elles lui sont certainement associées dès la biosynthèse permettant de limiter l'association des chaînes entre elles. Elles permettent également de limiter l'association des chaînes entre elles en constituant des ponts entre microfibrilles.

Les homogalacturonanes, rhamnogalacturonanes, arabinanes constituent un réseau pectique certainement lié de façon covalente aux hémicelluloses. Entre les cellules, reliant les parois de deux cellules adjacentes, on trouve une région intermédiaire, appelée lamelle mitoyenne, qui constitue le ciment intercellulaire et qui est dépourvu de cellulose.

La détermination de la structure primaire des polysaccharides est couramment effectuée par l'extraction, la purification, la séparation et la quantification. En général, l'extraction à l'eau chaude est la technologie traditionnelle la plus largement utilisée pour l'extraction de polysaccharide [2]. La purification est souvent réalisée par précipitation à l'éthanol, relargage, chromatographie d'exclusion stérique (CES) qui est une méthode rapide pour l'isolement et la caractérisation d'un mélange de composés de différentes tailles et structures [3-4-5-6]. La

séparation et la quantification peuvent être accomplies en utilisant la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou à haute performance d'échange d'anions avec détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD), qui a facilement résolue les problèmes résultants de l'utilisation des autres techniques. La spectroscopie RMN ^{13}C est devenue de plus en plus importante en tant qu'outil pour la caractérisation et élucidation de la structure de sucres et leurs dérivés [7].

Les polysaccharides sont définis par leur structure, leurs propriétés physico-chimiques et par conséquent leurs propriétés fonctionnelles dans l'application.

C'est en cela que nous avons entrepris d'élucider la structure primaire de polyosides isolés d'une plante: le *Myrtus communis* des forêts du Nord-Est algérien.

Comme il s'est avéré qu'aucun travail n'avait jamais été réalisé sur cette espèce, il s'en est suivi une analyse approfondie au Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales (Grenoble, France) afin de déterminer la composition et la structure primaire de ces polysaccharides.

La présente étude comprendra donc trois volets principaux. D'abord une étude bibliographie qui comprendra trois chapitres. Elle portera sur la connaissance de quelques aspects du myrte commun, puis une analyse des données relatives aux différents polysaccharides pariétaux, leurs structures et la détermination de leurs structures primaires. Le deuxième volet, sera consacré à l'extraction, la purification, la séparation des fractions des fruits de myrte. Enfin, le dernier volet traitera les différents résultats de l'étude chimique et physico-chimique.

Chapitre I

Données bibliographiques

Partie I
Végétaux

I. Généralités

I. 1. Le monde végétal

Le règne végétal, de par sa richesse et sa diversité, peut être classé en deux grandes catégories: les plantes vasculaires et les plantes non vasculaires. Les plantes vasculaires peuvent être, à leur tour, subdivisées en deux grands groupes: les cryptogames vasculaires (plantes sans fleurs) et les phanérogames (plantes à fleurs). Dans les phanérogames on distingue deux classes: les plantes gymnospermes (à graines nues comme le ginkgo, les conifères) et les angiospermes (à graines renfermées dans un fruit) [8].

Les angiospermes regroupent la majeure partie des plantes, soit environ 250 000 espèces répandues sur toute la terre, mais peu abondantes en milieu aquatique. Elles se divisent en monocotylédones (céréales, plantes bulbeuses, palmiers, orchidées) et dicotylédones, de loin les plus nombreuses, comprenant les arbres feuillus et la plupart des plantes potagères et industrielles [9].

I. 2. Une famille d'origine tropicale: les Myrtaceae

La famille des Myrtaceae est la huitième plus grande famille de plantes à fleurs, en comptant plus de 140 genres et environ 5 600 espèces. La classification APGIII [10] et les travaux récents de Soltis *et al.* [11] classent la famille des Myrtaceae au sein des clades suivants: les Angiospermes, les Eudicotyledoneae, les Rosidae, les Malvidae et enfin l'ordre des Myrtales.

Les Myrtaceae sont économiquement de première importance pour les industries pharmaceutiques, agroalimentaires ou cosmétiques, sans compter les nombreux composés potentiellement bioactifs qu'il reste à analyser et valoriser.

I. 3. Une espèce circum-méditerranéenne: *Myrtus communis*

I. 3. 1. Dénominations selon la nomenclature [12]

Arabe: A'as.

Français: herbe du lagui, myrte commun.

Anglais: common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle.

Espagnol: arrayán, mirto, murta, murt.

Italien: mirtella, mirto, mortella, mortin.

I. 3. 2. Position systématique

Tableau I. 1: Taxonomie de *Myrtus communis* [12].

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Mytaceae
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>communis</i> L.
Variétés	<i>M. communis</i> var. <i>italica</i> L. <i>M. communis</i> var. <i>baetica</i> L. <i>M. communis</i> var. <i>lusitanica</i> L.

I. 3. 3. Description botanique et écologie

Le genre *Myrtus* est à la fois le type botanique d'une grande famille végétale, mais aussi son seul genre qui soit indigène en Méditerranée et au Sahara [13].

Myrtus communis L. (myrte commun) est une plante médicinale aromatique, endémique à la région méditerranéenne [14] (Figure I.1).

Le myrte commun pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude [13], il se développe au sein des matorrals thermophiles. En Algérie, il est commun dans les maquis et les forêts du Littoral [15].

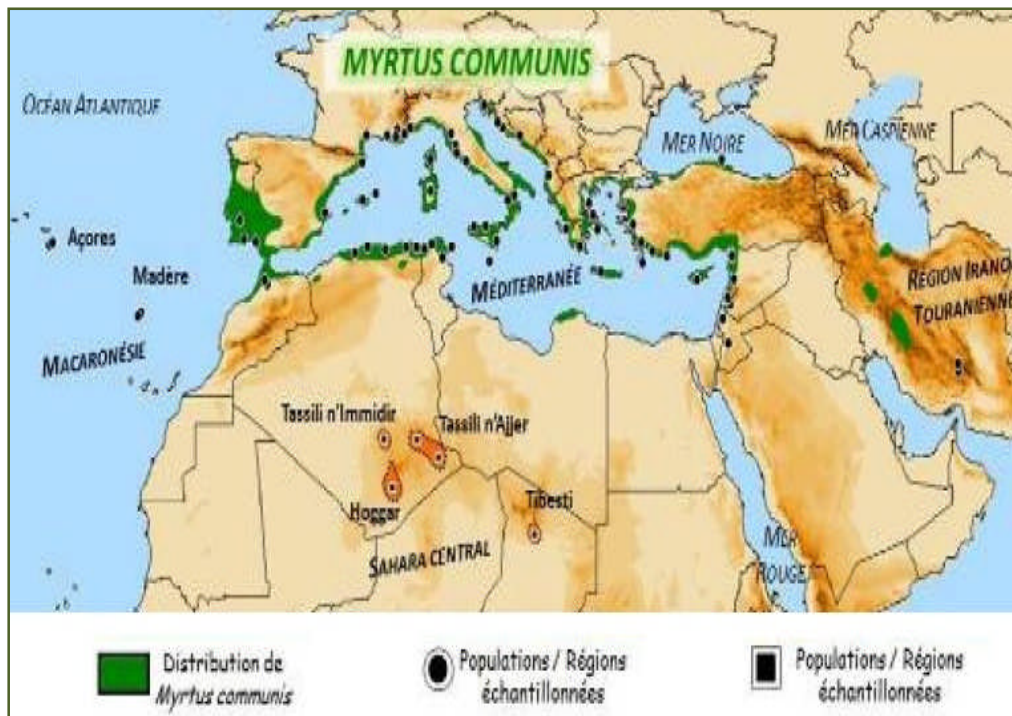


Figure I. 1: Distribution de *Myrtus communis* [13].

Le myrte commun est un phanérophte sempervirent, en général de 1.5 à 3 m de hauteur et dont la longévité pourrait dépasser les 300 ans [16].

Il s'adapte au sol silicieux, calcaire, on le rencontre plus sur terrain acide, en compagnie d'*Arbutus unedo* L., de *Pistacia lentiscus*, *Quercus suber*, *Quercus ilex*, *Ceratonia siliqua*... Occupant principalement l'étage thermo-méditerranéen (moyenne des minima du mois le plus froid comprise entre 3 et 7 °C). En effet, dès les travaux d'Amigues [17], il apparaît que des espèces qui se laissent domestiquer, les moins résistantes au froid sont, dit-on, le laurier et le myrte, le myrte est même encore le moins résistant.

Le myrte se caractérise par des branches rougeâtres (Figure I. 2 [1]) qui sont très ramifiées et ses petites feuilles d'un vert brillant (Figure I. 2 [2]), sont opposées, très rapprochées, subsessiles, ovales-lancéolées aiguës, entières, coriaccées, persistantes, glabres et luisantes et courtement pétiolées.

La floraison peut débuter à partir de mai-juin et s'étale jusqu'en août sous la forme de fleurs blanches, odorantes, aux pétales d'un blanc éclatant ou taché de rose (Figure I. 2 [3-4-5]). Les fleurs sont solitaires, jusqu'à 3 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles et portées par de longs pédoncules [13]. Le calice à tube soudé à l'ovaire présente 5 lobes étalés et la corolle 5 pétales. Les étamines sont

nombreuses à anthères jaunes forment des touffes ébouriffées. Le style, unique, présente un stigmate simple.

Le fruit de *M. communis* est une baie ovale (7-10 × 6-8 mm), et de couleur noir-bleuâtre, quelquefois vert (Figure I. 2 [6-7]). La pleine maturité de ces fruits est atteinte au mois de novembre. Sous la peau bleu foncé, la chair blanche est plus ou moins épaisse, parfois presque entièrement résorbée, de saveur âpre, résineuse [13].

Le fruit est divisé intérieurement en trois loges qui renferment des graines nombreuses courbées en croissant.

Il a été reporté l'ingestion de fruits de myrte par des mammifères carnivores (renards *Vulpes vulpes* et martres *Martes* spp.), dont le rôle en Méditerranée est loin d'être négligeable [18]. Les graines sont nombreuses avec des irrégularités de formes et de tailles. Elles sont réniformes, luisantes, couleur ivoire, et de saveur résineuse (Figure I. 2 [8]).

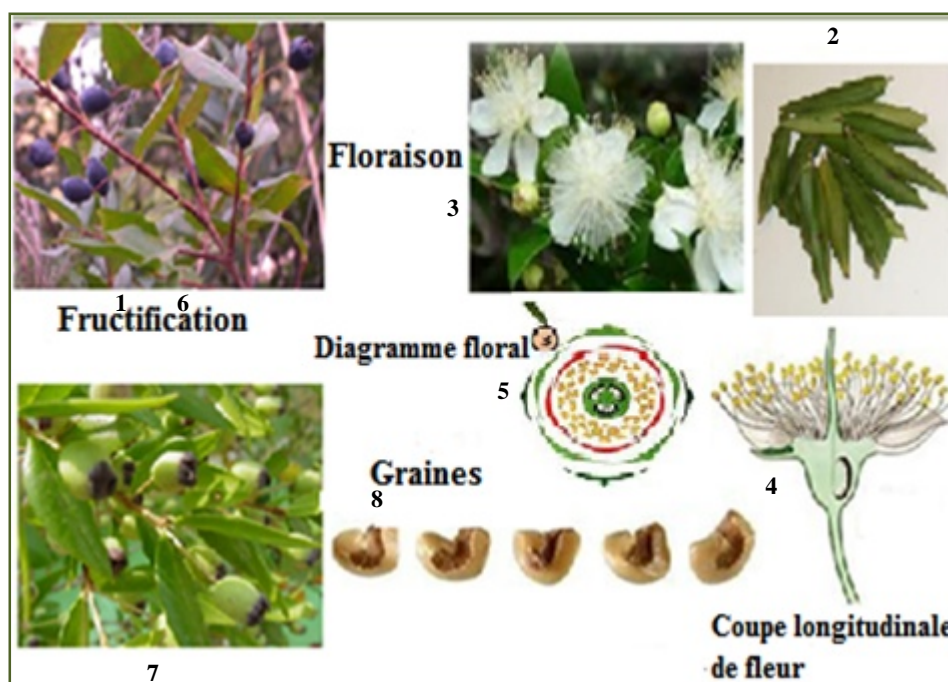


Figure I. 2: Caractéristiques botaniques de *Myrtus communis* [13-19].

I. 4. Les fruits de *Myrtus communis*

I. 4. 1. Les métabolites

Les métabolites sont des composés organiques qui peuvent intervenir pendant le processus de métabolisme. Ils sont strictement nécessaires pour le développement,

l'activité et la reproduction des cellules vivantes. Les métabolites peuvent provenir de l'extérieur des cellules ou peuvent être produits par celles-ci.

Généralement, les activités métaboliques des plantes conduisent à deux catégories de métabolites:

I. 4. 1. 1. Métabolites primaires

- ils sont présents dans toutes les espèces.
- ils ont un rôle essentiel dans le métabolisme et le développement végétal [20].

I. 4. 1. 1. 1. Acides organiques

Nadkarni [21] a montré que les baies du myrte contiennent des acides organiques qui sont l'acide citrique et l'acide malique (Figure I.3).

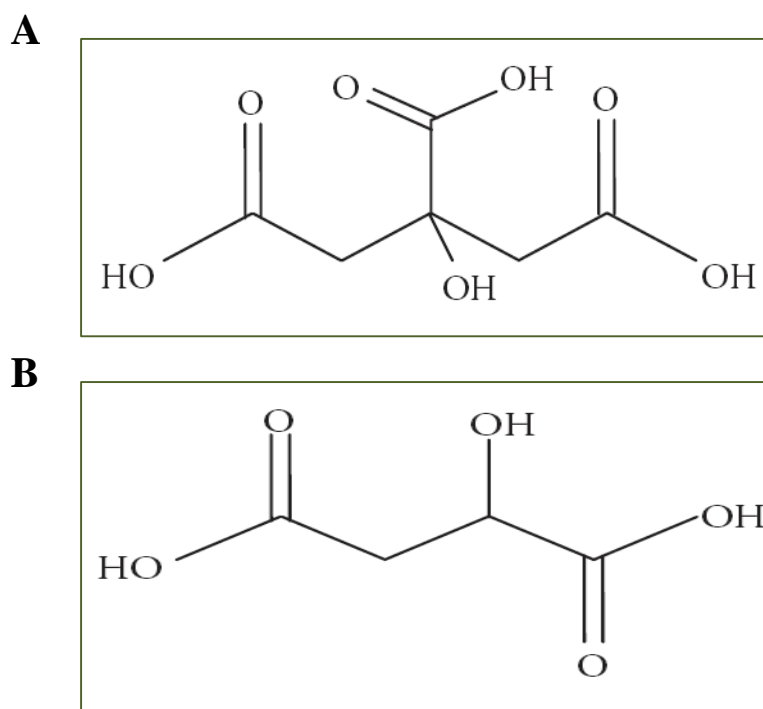


Figure I. 3: Structure chimique de l'acide citrique (**A**) et de l'acide malique (**B**) [22].

I. 4. 1. 1. 2. Huile essentielle

L'huile essentielle des fruits de *M. communis* est extraite par hydrodistillation qui est la distillation de liquides non miscibles.

Aidi Wannes *et al.* [23] ont examinés la composition d'huile essentielle du fruit de *M. communis* var. *italica* au cours de leur maturation et identifiés 47 composés (Tableau I. 2) dont la concentration a fluctuée au cours de ses différentes étapes de maturation.

Cette analyse a montré que les principaux composés monoterpéniques sont: l'1.8-cinéole, l'acétate de géranyle, le linalol et l' α -pinène.

Tableau I. 2: La composition d'huile essentielle du fruit de myrte [23].

Partie	Constituants
Fruit	Héxanol, tricyclène, α -thujène, α -pinène, camphène, sabinène, β -pinène, myrcène, α -phellandrène, δ - 3-carène, α -terpinène, <i>p</i> -cymène, limonène, 1.8-cinéole, (E)- β -ocimène, γ -terpinène, oxyde de <i>cis</i> -linalol, oxyde de <i>trans</i> -linalol, terpinolène, linalol, bornéol, terpinène-4-ol, <i>p</i> -cymène-8-ol, α -terpinéol, myrténol, nérol, <i>cis</i> -carvéol, géraniol, acétate de linalyle, acétate de bornyle, tridécane, acétate de myrtényle, acétate d' α -terpényle, eugénol, acétate de géranyle, acétate de néryle, β -élèmène, méthyl eugénol, β -caryophyllène, α -humulène, allo-aromadendrène, germacrène- D, thiophène, 2- méthyl butyrate de géranyle, spatuléol, oxyde de caryophyllène, nonadécane.

I. 4. 1. 1. 3. Acides gras

Des études sur l'analyse des acides gras des fruits de myrte ont montré que les acides gras prédominants sont les acides : oléique, linoléique, palmitique et de l'acide stéarique (Figure I. 4) [23-24].

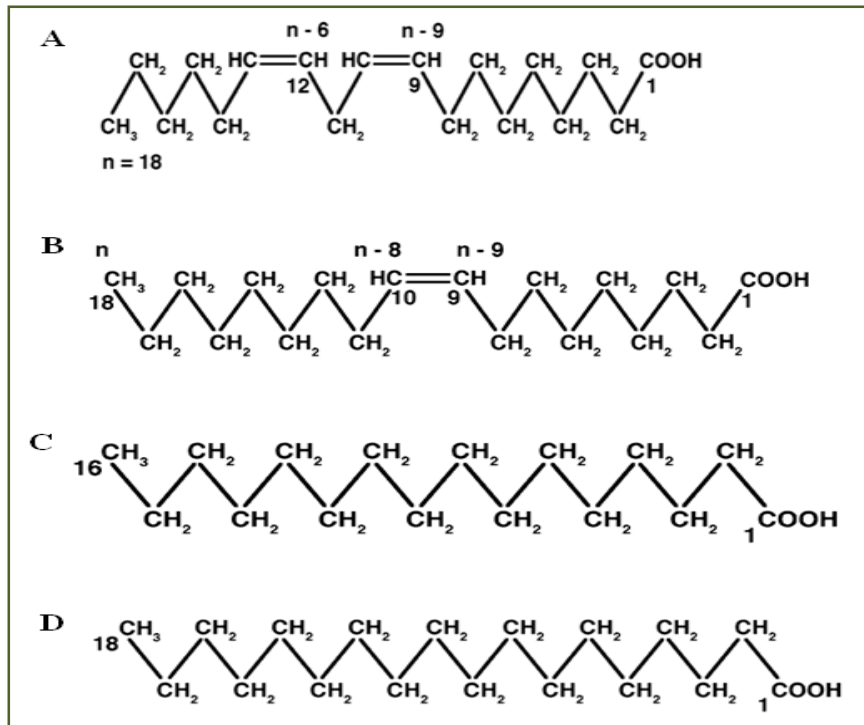


Figure I. 4: Structure de l'acide linoléique (A), de l'acide oléique (B), de l'acide palmitique (C) et de l'acide stéarique (D) [25].

I. 4. 1. 2. Métabolites secondaires

- ils sont différents selon les espèces.
- ils ne participent pas directement au développement des plantes.
- ils interviennent plutôt dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction [20].

I. 4. 1. 2. 1. Polyphénols

I. 4. 1. 2. 1. 1. Flavonoïdes

En 2006, Montoro *et al.* [26] ont dosé les flavonoïdes des extraits des baies de myrte. Les résultats ont montrés la présence de 6 flavonoïdes (Figure I.5), dont Les pics majeurs dans le profil de flavonoïdes correspondent aux myricétine-3-*O*-galactoside, myricétine-3-*O*-rhamnoside et quercétine-3-*O*-glucoside. Les pics mineurs identifiés correspondent aux composés suivants: myricétine-3-*O*-arabinoside, quercétine-3-*O*-rhamnoside et myricétine.

Leurs travaux ont permis de suivre l'évolution mensuelle des teneurs en anthocyanes et en flavonoïdes dans les extraits conservés à l'abri de la lumière pendant une année. De la sorte, ils ont pu montrer que les concentrations en flavonoïdes restent stables

alors que celles des anthocyanes diminuent rapidement au bout de trois mois jusqu'à s'annuler après six mois de conservation.

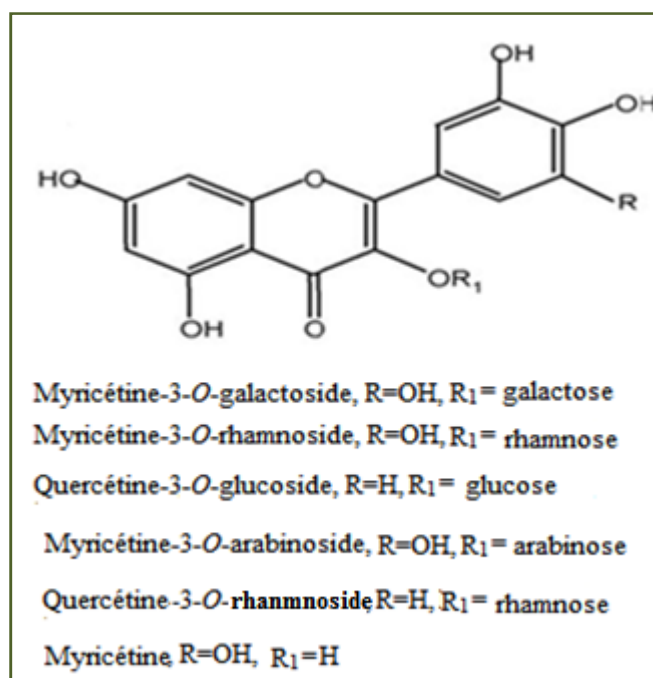


Figure I. 5: Les flavonoïdes dans les fruits de *M. communis* [26].

I. 4. 1. 2. 1. 1. 1. Anthocyanes

Plus récemment, Montoro *et al.* [26] ont travaillé sur la stabilité et l'activité antioxydante des polyphénols extraits des baies du myrte. L'extraction a été effectuée par macération des baies dans l'éthanol à 70% pendant 40 jours. Par LC/SM-ESI (couplage de la chromatographie en phase liquide à la spectrométrie de masse en mode ionisation : Electrospray) (350 nm et 520 nm) et CLHP-UV-VIS, ils ont identifié et quantifié huit anthocyanes (Figure I. 6) dont trois sont des constituants majoritaires: dont trois sont des constituants majoritaires: la delphinidine-3-*O*-glucoside, la pétunidine-3-*O*-glucoside et la malvidine-3-*O*-glucoside. A des teneurs plus faibles, ils ont également mis en évidence la présence de cyanidine-3-*O*-glucoside, paéonidine-3-*O*-glucoside, de delphinidine-3-*O*-arabinoside, de pétunidine-3-*O*-arabinoside, de malvidine-3-*O*-arabinoside.

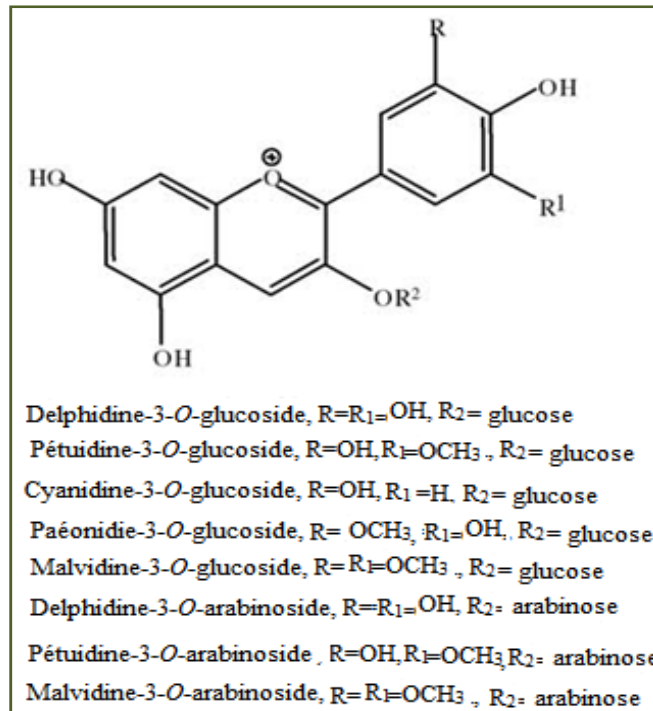


Figure I. 6: Schéma des anthocyanes dans les baies de *M. communis* [26].

I. 4. 1. 2. 1. 2. Acide phénolique

Aidi Wannas *et al.* [27] ont reportés que les acides phénoliques sont représentés par l'acide gallique seulement dans les différentes parties du fruit de myrte (Figure I.7).

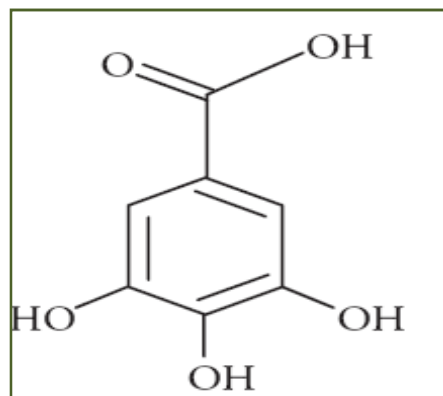


Figure I. 7: Structure de l'acide gallique [22]

I. 5. Utilisations

I. 5. 1. Utilisation traditionnelle

En Algérie, les fruits sont soit consommés naturellement soit préparés sous forme d'infusion contre les diarrhées et comme hypoglycémiant. Ils constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies [28].

En Tunisie [29] où le myrte est utilisé dans le Nord du pays, les fruits sont recommandés à l'état frais ou sous forme de décoction pour soulager l'ulcère et les douleurs gastriques. Il est aussi préconisé sous cette forme en gargarisme pour traiter les gingivites.

Au Maroc [30], le fruit est mâché contre les gingivites et les aphtes, Il est utilisé aussi pour traiter le diabète.

I. 5. 2. Utilisation médicinale

Les baies du myrte ont une longue histoire d'application dans les industries pharmaceutiques. Elles sont utilisées pour leurs effets positifs sur la santé humaine, comme antiseptique, astringent, carminative, tonique des cheveux, analgésique, cardiotonique, diurétique, anti-inflammatoire, stomachique, néphroprotectrice, antidote, hémostatique, tonique du cerveau et antidiabétique [31].

I. 5. 3. Utilisation industrielle

Les baies du myrte sont utilisées comme essences aromatiques dans la cuisine, mais leur utilisation la plus importante est la production de liqueurs [32].

Ces fruits sont aussi utilisés pour faire d'excellentes confitures, gelées comme c'est le cas en Sicile (Italie) et Corse (France) [33-34].

Au cours de ces dernières décennies, les systèmes intensifs de la culture du myrte ont été établis dans diverses régions du monde et particulièrement en Sardaigne (Italie), afin d'assurer à la fois un approvisionnement constant de matériel de bons fruits pour l'industrie de liqueur et la préservation des populations de myrte naturelles [35].

I. 5. 4. Utilisation culinaire

Les valeurs nutritionnelles des baies du myrte ont été déterminées par Aydýn et Özcan. Les constituants sont: Huile brute (2.37%), huile essentielle (0.01%), protéine

brute (4.17%), fibre brut (17.41%), énergie brute (11.21 Kcal/g), sucre réducteur (8.64%), tannin (76.11 mg/199 g), cendres (0.725%), extrait soluble dans l'eau (52.94%) [36].

Dans tout le bassin méditerranéen, les fruits du myrte, frais ou séchés, servent de condiment, en particulier avec la volaille et le gibier. A Chypre et en Turquie, ils sont communément vendus sur les marchés [33].

Le fruit avant la découverte du poivre, servait à assaisonner certains aliments. Les romains l'employaient pour aromatiser l'huile d'olive. Les grecs modernes mangent encore ces baies lorsqu'elles sont mûres. Les oiseaux en sont très avides [37].

Partie II

**Les constituants glucidiques des
végétaux**

II. 1. Les glucides

Les glucides représentent avec les protéines, les lipides et les acides nucléiques l'une de quatre grandes classes de constituants de la matière vivante.

Ils sont des polyalcools porteurs d'une fonction aldéhyde ou cétone et répondant à la formule brute $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Les plus abondants des oses ou sucres simples (monosaccharides) sont des pentoses ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$) et des hexoses ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$).

Le D-glucose est l'unité structurale ou le précurseur des polysides les plus répandus dans la nature tels que l'amidon ou la cellulose. Aliment énergétique majeur des cellules [38].

II. 1. 1. Les polysaccharides

Les polysaccharides ou glycanes sont formés de monosaccharides liés entre eux par des liaisons glycosidiques qui peuvent avoir la configuration α ou β . En général, on appelle polysaccharides ceux qui sont composés de plus de dix unités monosaccharides, le degré de polymérisation ($\overline{\text{DP}}$) et supérieur à 10, le $\overline{\text{DP}}$ peut compter plusieurs milliers d'unités. La longueur de la chaîne, le nombre et le type d'unités latérales et la charge chimique de la molécule influent sur les propriétés fonctionnelles, comme la viscosité, la capacité de rétention d'eau et la réticulation.

Les polysaccharides peuvent être composés d'un seul type de monosaccharide (homoglycane) ou de plusieurs monosaccharides différents (hétéroglycane).

Les polysaccharides sont présents dans la plupart des organismes vivants et ont des fonctions structurales ou métaboliques. Ce sont principalement des substances :

- structurales (cellulose, hémicelluloses, pectines, chitine, mucopolysaccharides).
- de réserve (amidon, fructanes, galactomannanes, glycogène).
- liant l'eau ou hydrocolloïdes (agar, pectine, mucopolysaccharides).

Les polysaccharides existent largement dans les plantes, les micro-organismes (champignons et bactéries), les algues et les animaux. Ils jouent un rôle important dans la communication cellulaire, l'adhérence des cellules, et la reconnaissance moléculaire dans le système immunitaire. Au cours de ces dernières années, certains polysaccharides bioactifs isolés de sources naturelles ont attiré beaucoup d'attention dans le domaine de la biochimie et de la pharmacologie. Ils présentent diverses activités biologiques. Une étude a été rapportée par Aouadi *et al.* qui montre

l'activité antitumorale de polysaccharide extracellulaire de *Laetisaria arvalis* (Basidiomycète) [39].

II. 2. Structure et composition polysaccharidique de la paroi végétale

II. 2. 1. Organisation de la paroi cellulaire végétale

La paroi végétale est un composite pluristratifié et hiérarchisé. Elle est composée d'un assemblage de divers polysides (cellulose, hémicelluloses et pectines) imprégnés de composés phénoliques dont les lignines [40-41] sans exclure l'intervention de certaines protéines [42]. La nature et les proportions relatives de ces différents polymères varient selon la plante considérée et son développement [43].

Le composant principal de la cellule végétale est l'eau, elle représente généralement 70 à 90% de la masse ou du volume. La paroi cellulaire est l'élément déterminant de la structure, elle lui donne sa morphologie et sa rigidité. Grâce à leur capacité à se lier à de grandes quantités d'eau, les parois des cellules végétales peuvent être utilisées en elles mêmes comme des agents épaississants pour fournir des textures souhaitées dans certains aliments [44]. Les composants de la paroi cellulaire issus des fruits et légumes font partie également d'un des principaux apports en fibres alimentaires, celles-ci sont résistantes à la digestion et à l'absorption dans l'intestin grêle humain, dont la fermentation complète ou partielle a lieu dans le gros intestin [45]. Ainsi, les composants de la paroi cellulaire ont des rôles à la fois physiques et physiologiques dans les sources alimentaires [46].

La structure de la paroi cellulaire peut être divisée en trois niveaux: la paroi primaire, la paroi secondaire et la lamelle moyenne (Figure II. 1).

II. 2. 1. 1. Lamelle mitoyenne

La lamelle moyenne est une membrane qui connecte les cellules individuelles pour former les tissus. Elle est composée principalement de substances pectiques. Ainsi, la pectine, agit comme un « ciment » pour la plupart des tissus [47] elle conditionne donc la cohésion intercellulaire.

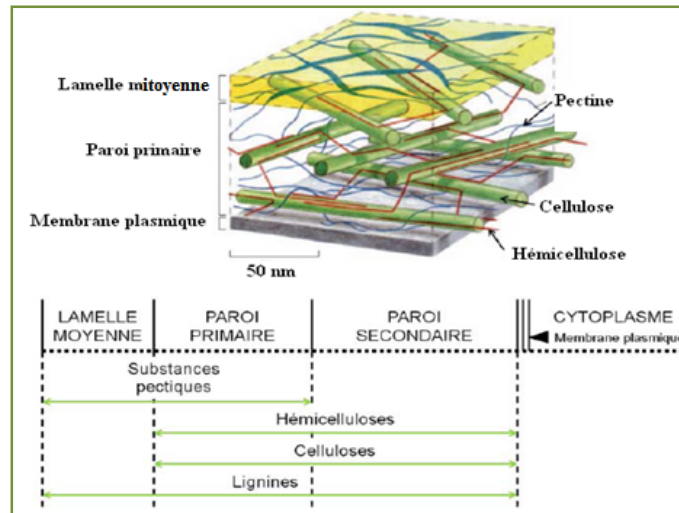


Figure II. 1: Modèle simplifié représentant les différents constituants des parois cellulaires végétales [48-49].

II. 2. 1. 2. Paroi cellulaire primaire

La paroi cellulaire primaire est une paroi fine, souple, de faible résistance mécanique, c'est la base du squelette végétal. Elle est composée de polymères de différentes natures: 60 à 85% de polysaccharides et 6 à 11% de protéines. En complément de ces groupes principaux, on trouve aussi 2 à 4% de lignine, 1 à 1.5% de graisses et 4 à 12% de matière minérale [50].

Carpita et Gibeaut [51], considèrent l'existence de deux modèles d'organisation de la paroi primaire (repris par Carpita et McCann) [52]. Le type I est représentatif de la plupart des plantes dicotylédones et de quelques monocotylédones (Figure II. 2). Le type II, spécifique de la plupart des monocotylédones.

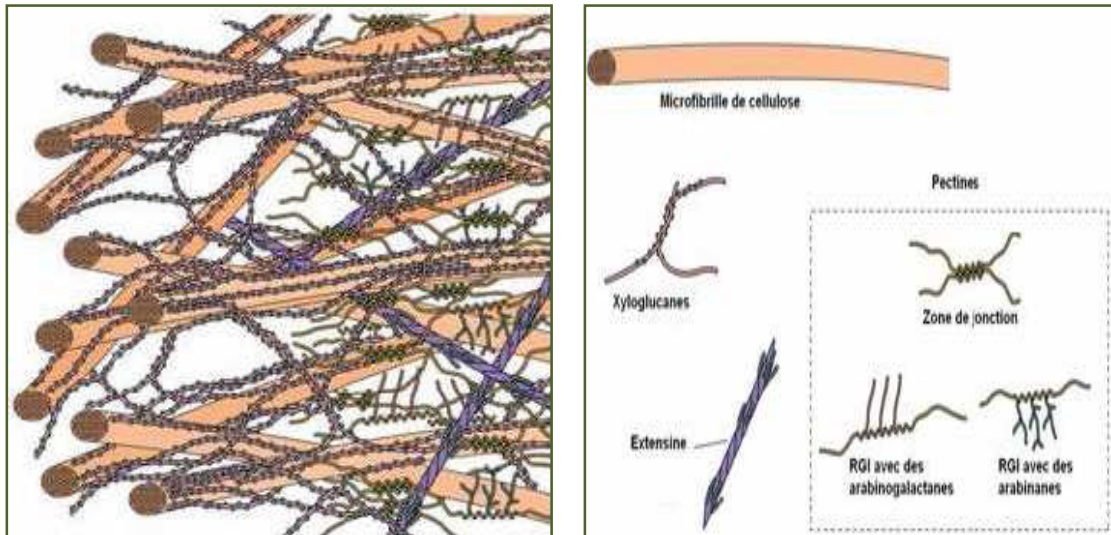


Figure II. 2: Représentation schématique de la paroi primaire de type I (d'après Carpita et McCann) [52].

II. 2. 1. 3. Paroi cellulaire secondaire

La paroi secondaire apparaît en fin de différenciation et correspond à un épaissement qui se superpose à la paroi primaire, ce qui augmente la rigidité et la résistance mécanique de la paroi [50].

La paroi secondaire est principalement constituée de cellulose, hemicelluloses et lignines présentes sur trois couches successives S1, S2 et S3, se distinguant par l'orientation de leurs fibres de cellulose, et conférant une grande résistance à la paroi [53].

II. 2. 2. Les polysaccharides pariétaux

La paroi végétale est donc principalement constituée de plusieurs macromolécules étroitement liées entre elles.

On distingue, généralement, trois composés majoritaires:

- ❖ Les pectines
- ❖ Les hémicelluloses
- ❖ La cellulose

II. 2. 2. 1. Cellulose

La cellulose représente le composé structural de base des parois cellulaires des végétaux supérieurs et est, de ce fait, le constituant organique majoritaire des plantes et le plus largement synthétisé sur Terre [54-55].

D'un point de vue structural, la cellulose est un polysaccharide de la série des β -D-glucanes dont le motif répétitif est la cellobiose, constitue de deux β -D-glucopyranoses (Figure II. 3). C'est donc une molécule linéaire constituée d'un enchainement de (1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranose avec un degré de polymérisation variant entre 400 et 14 000 en fonction de l'espèce végétale d'origine [54-56-57-58].

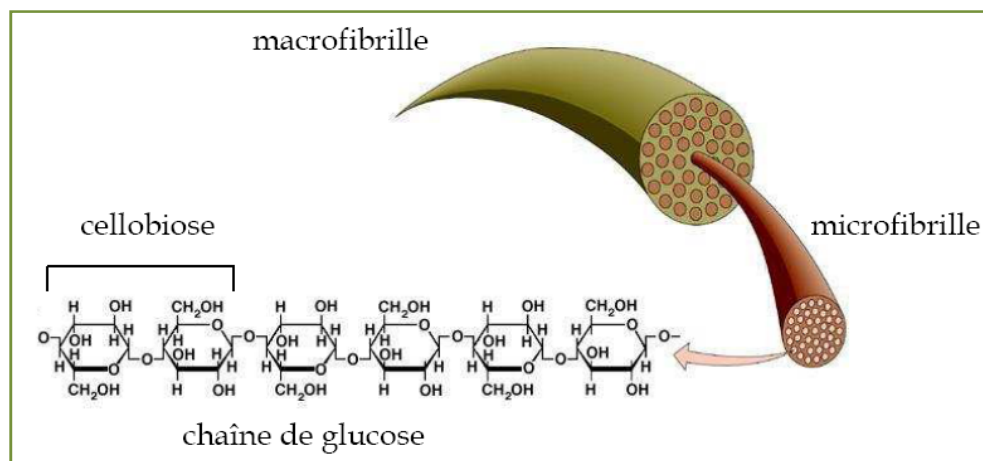


Figure II. 3: Molécule de cellulose et modélisation de l'assemblage des fibres cellulosiques [53].

La structure fibrillaire très condensée de la cellulose explique sa haute résistance aux attaques chimiques (la cellulose est insoluble dans l'eau) [56], mais également sa haute résistance mécanique à la traction, qui implique son emploi fréquent dans les textiles et cordages [48-59].

II. 2. 2. 2. Les hémicelluloses

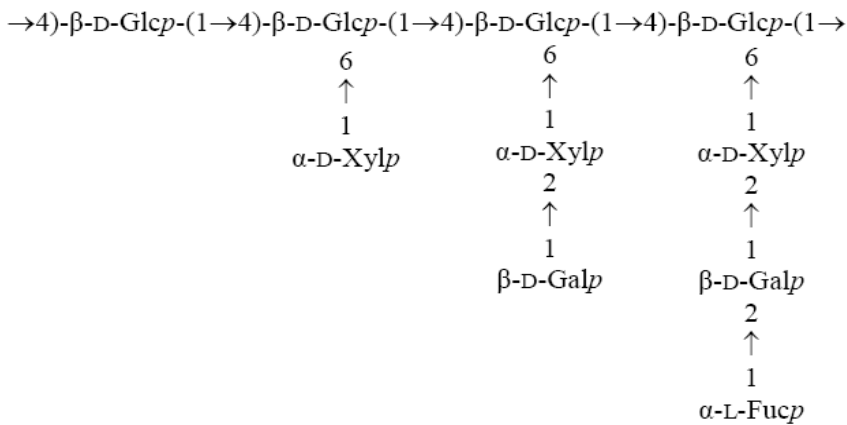
C'est le second polymère d'origine naturelle par ordre d'abondance dans la nature, après la cellulose. Leur concentration et leur structure dépendent du type de plante et de la localisation des cellules dans la plante [60]. Elles participent avec les autres composés pariétaux au maintien de l'intégrité des tissus de la plante. Leur capacité à absorber des grandes quantités d'eau serait à l'origine du comportement plastique et de l'élasticité des parois cellulaires.

Les hémicelluloses sont des polysaccharides amorphes dont le \overline{DP} est inférieur à 200 [61], constitués d'un squelette d'unités osidiques (ex. glucose, mannose, et xylose), substituées par d'autres unités pyranosyle ou furanosyle et par des acides uroniques (ex. acide glucuronique, acide 4-O-méthylglucuronique) [62].

II. 2. 2. 2. 1. xyloglucanes

Les xyloglucanes constituent la famille prédominante des hémicelluloses chez les dicotylédones. Leur chaîne principale est formée de résidus glucose liés β -(1 \rightarrow 4). Sur cette chaîne principale sont greffées des chaînes latérales contenant soit uniquement des résidus xylose, soit un disaccharide [xylose \rightarrow galactose] soit encore un trisaccharide [xylose \rightarrow galactose \rightarrow fucose].

Les proportions des différents constituants et le degré de substitution peuvent varier donnant lieu à différents xyloglucanes [63].



Les liaisons β -(1 \rightarrow 4) rigidifient la molécule et lui permettent de se lier aux microfibrilles de cellulose par de nombreuses liaisons hydrogène [64-65] (Figure II. 4) et octroient ainsi à ces dernières la souplesse nécessaire à leur mouvement.

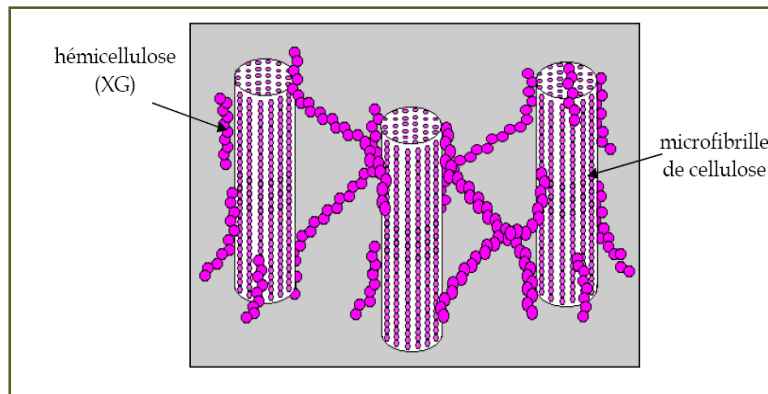


Figure II. 4: Représentation schématique du réseau cellulose/hémicellulose [53].

II. 2. 2. 3. Les pectines

Les pectines sont une famille importante de polysaccharides hétérogènes dans les parois cellulaires des fruits [66] (Figure II. 5).

Les pectines ont pour structure de base un enchaînement linéaire d'unités acide D-galacturonique (galacturonanes). Des molécules de rhamnose peuvent s'intercaler entre les motifs acide galacturonique grâce à des liaisons 1 → 2, ce qui provoque une déviation de l'axe de l'hélice très voisine de 90°. Cette chaîne peut porter des branchements latéraux (glucanes, galactanes, xylanes, arabanes) au niveau des fonctions alcools secondaires. Ces mêmes fonctions peuvent être acétylées ce qui leur confère un faible pouvoir gélifiant. Les zones à taux élevé de sucres neutres sont appelées «zones chevelues ou hérissées», alors que les zones constituées uniquement d'unités acide galacturonique sont dites « zones lisses » (Figure II. 6).

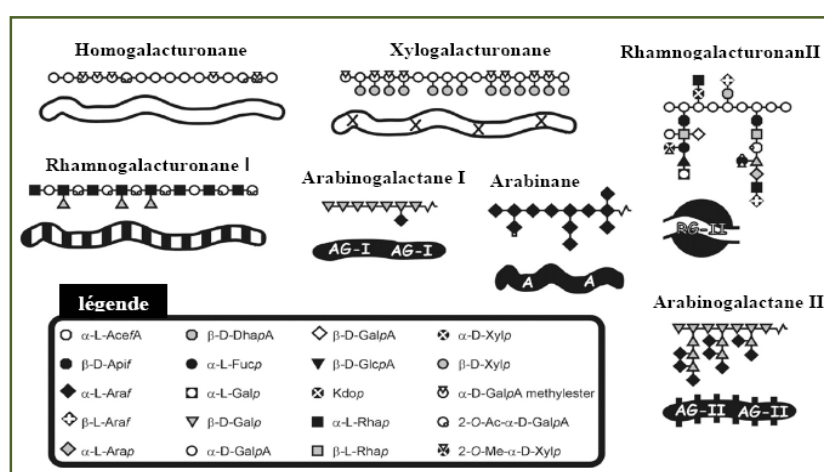


Figure II. 5: Représentation schématique de la structure des pectines d'après Vincken *et al.* [67].

Les groupes carboxyle de l'acide galacturonique peuvent être estérifiés par un groupement méthyle. Cette estérification joue un rôle important sur les propriétés physico-chimiques des pectines, notamment sur la formation de gels. Deux catégories peuvent ainsi être distinguées :

- Les pectines «hautement méthylées (**HM**)» ayant un DM > 50%, majoritairement présentes dans la nature.
- Les pectines «faiblement méthylées (**FM**)» ayant un DM < 50% obtenues à partir des pectines HM par différentes réactions chimiques.

Les pectines jouent un rôle dans le transport des ions et la rétention d'eau, ils sont impliqués dans les mécanismes de défense contre les infections par des agents pathogènes des plantes [68]. La quantité de substances pectiques dans le végétal varie fortement en fonction de son origine, de la variété et aussi du stade de croissance.

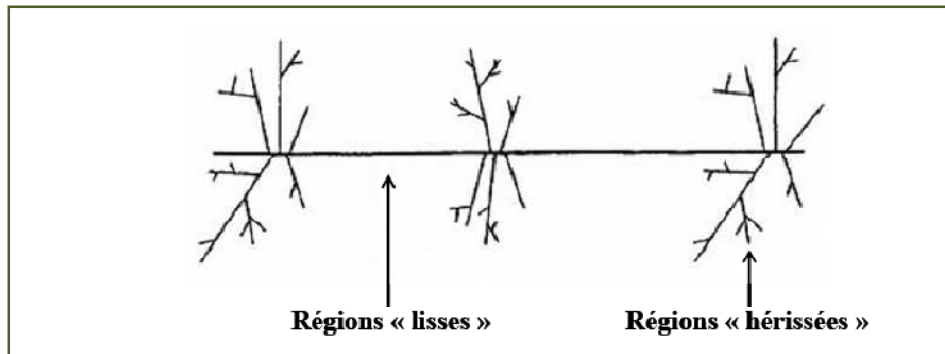
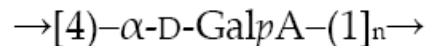


Figure II. 6: Structure des substances pectiques avec les zones «lisses» et «hérissées» d'après Voragen *et al.* [69].

Le terme «protopectine» est souvent utilisé pour désigner les fractions de pectine natives dans les parois cellulaires qui ne peuvent pas être extraites par des méthodes non biodégradables (acide ou base) [68].

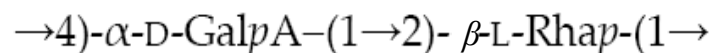
II. 2. 2. 3. 1. Homogalacturonane

La pectine majeure est l'homogalacturonane ou Galacturonanes (HG), un homopolymère linéaire constitué de résidus d'acide α -D-galactopyranosyluronic liés par des liaisons α -(1→4). Les HGs peuvent, dépendre de la source végétale, elles peuvent aussi être partiellement O-acétylés en C-3 ou C-2 [70-71].



II. 2. 2. 3. 2. Rhamnogalacturonane

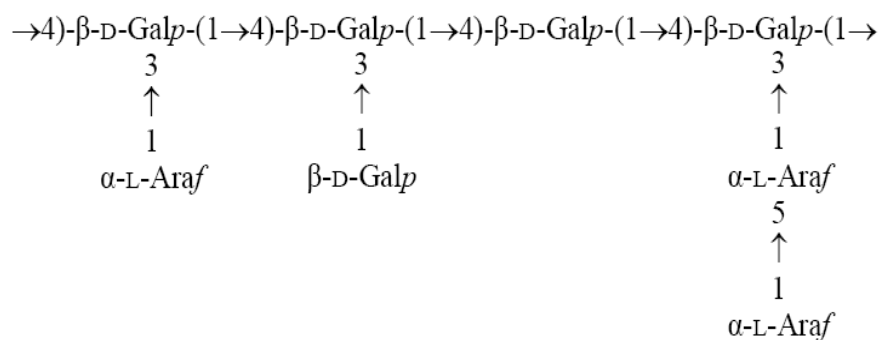
On en distingue deux types: les rhamnogalacturonanes de type I (RG-I) dans lesquels les unités acide galacturonic sont intercalées par des résidus de rhamnose. L'unité de répétition disaccharidique est donc:



Entre 20 et 80 % des résidus rhamnose peuvent être ramifiés en O-4 par des chaînes latérales plus au moins longues d'arabinanes, de galactanes ou d'arabinogalactanes. Le type et le degré du substituant varie en fonction du tissu végétal et de son stade de croissance [72].

classes. D'une part, les arabinogalactanes de type I, naturellement associées au squelette pectique, notamment aux rhamnogalacturonanes. Elles sont constituées de chaînes linéaires d'unités D-galactopyranose liées β -(1 \rightarrow 4), sur lesquelles sont attachées en position O-3 des unités D-galactopyranose et des unités L-arabinofuranose liées (1 \rightarrow 5) [73-74].

D'autre part, les arabinogalactanes de type II, plus répandues dans la nature. Elles sont constituées d'une chaîne principale β -(1 \rightarrow 3)-galactopyranose sur laquelle peuvent se greffer en position O-6 des chaînes latérales. Ces chaînes sont formées de courtes chaînes d'unités galactopyranose liées en β -(1 \rightarrow 6) et arabinofuranose liées en α -(1 \rightarrow 5). Ces chaînes latérales peuvent être substituées soit par des résidus de galactose ou encore des unités arabinose d'où leur complexité structurale [74].



Partie III

Structure primaire des polysaccharides

III. 1. Extraction

Le fractionnement de la matière végétale, fonction de sa composition chimique et de sa structure, consiste en un enchaînement d'opérations d'extraction, de séparation (Figure III.1), voire de purification, permettant d'isoler un ou plusieurs constituants de la matière végétale, en préservant si possible les autres, en vue de leur transformation ou de leur séparation ultérieure [60].

Le choix des conditions opératoires de la méthode d'extraction est essentiel pour garantir la fiabilité des résultats ultérieurs. Certes, l'extraction doit répondre à trois critères fondamentaux : être quantitative, sélective et non altérante. On distingue en général deux types de matériaux végétaux. Les matériaux constitués de cellules à paroi primaire, généralement du parenchyme, qui sont très riches en pectines, et les matériaux composés de cellules à paroi secondaire habituellement dénués de pectines mais riches en hémicelluloses et lignine [75].

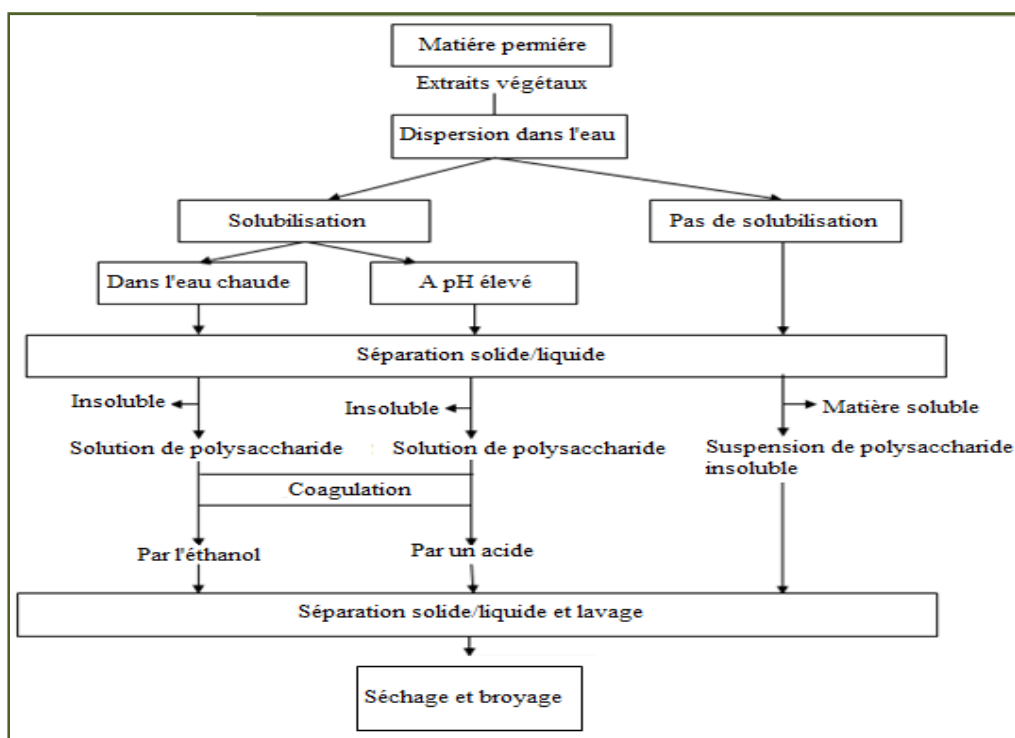


Figure III. 1: Schéma général de l'extraction des glycanes [76].

III. 2 Purification

Les polysaccharides dans les tissus végétaux peuvent être intimement liés à d'autres molécules comme les protéines, les acides nucléiques, d'autres polysaccharides ou de matières de faible masse moléculaire. Pour caractériser un polysaccharide il est

nécessaire de l'isoler comme une entité homogène. Il n'existe pas une technique générale de purification de tous les polysaccharides. La technique employée dans chaque cas dépend des contaminants à éliminer et des propriétés du polysaccharide à étudier [77].

La purification d'un polysaccharide consiste à éliminer les impuretés en dissolvant les polysaccharides extraits dans l'eau et en les précipitant par des solvants organiques tels que l'éthanol, l'acétone ou la pyridine [78]. Certains polysaccharides peuvent être précipités d'une solution en ajoutant des sels ou en variant le pH [77].

III. 3. Etude structurale des polysaccharides

L'étude structurale des polysaccharides, doit permettre de déterminer:

1) Composition osidique qualitative et quantitative. 2) Configuration absolue des oses. 3) Position des liaisons interglycosidiques. 4) Anomérisation des liaisons. 5) Localisation des substituants non glucidiques.

I. 3. 1. Identification et dosage des monosaccharides

III. 3. 1. 1. Hydrolyse du polysaccharide

L'analyse globale du polysaccharide met en jeu des méthodes d'hydrolyse totale. Le principe consiste à hydrolyser les liaisons glycosidiques des macromolécules de la paroi pour obtenir uniquement des sucres monomères à l'aide de différents acides.

1) **Acides minéraux:** l'acide sulfurique (H_2SO_4) est très généralement utilisé, soit directement en solution diluée à 100 °C, soit en faisant précéder cette étape d'une préhydrolyse par une solution concentrée à 72% à température ambiante.

2) **Acides organiques:** parmi lesquels, l'acide trifluoroacétique (TFA), qui étant volatil offre l'avantage d'être facilement éliminé en fin d'opération. Il a été plus particulièrement adopté pour l'hydrolyse des polysaccharides de parois cellulaires végétales.

III. 3. 1. 2. La chromatographie échangeuse d'anions haute performance à détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD)

La HPAEC-PAD est une technique qui permet la séparation et la quantification des monosaccharides neutres et acides [79].

Cette configuration est celle qui est la plus répandue et est commercialisée par DIONEX Corporation (Dionex ICS 3000).

Les colonnes HPAEC utilisées pour les polysaccharides sont munies de résine échangeuse d'anion. Par exemple, la colonne Dionex PA1, optimisée pour la séparation de mono-, di-, oligo-, et les polysaccharides de faible poids moléculaire. Les systèmes HPAEC utilisent typiquement l'hydroxyde de sodium comme éluant pour séparer mono- et disaccharides, pendant que les éluants pour les grosses molécules incluent souvent l'acétate de sodium pour augmenter la force ionique. Le détecteur de choix pour l'HPAEC est le détecteur ampérométrique pulsé (PAD). En général, l'ampérométrie mesure le changement dans le courant résultant de l'oxydation ou la réduction d'un composé dans une électrode. Dans le PAD, c'est le changement dans le courant résultant de l'oxydation de polysaccharides dans une électrode d'or ou de platine qui est mesuré [79].

Les différents oses sont identifiés par leur temps de rétention spécifique et quantifiés après intégration du signal (Chromeleon management system Dionex) par comparaison avec les monosaccharides témoins [80].

Une étude rapportée par Boual *et al.* [81] sur l'extraction et la caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Plantago notata* Lagasca utilise la HPAEC-PAD.

III. 3. 2. Détermination de la configuration absolue des résidus glycosidiques

L'appartenance aux séries D et L est classiquement obtenue par la valeur du pouvoir rotatoire du sucre ou par l'emploi d'enzymes spécifiques [82].

III. 3. 3. Position des liaisons glycosidiques

L'introduction en 1964 par Hakomori d'une nouvelle méthode de méthylation alliant simplicité et efficacité a rendu possible l'analyse des polysaccharides sur des micro-quantités [83]. L'identification des oses partiellement méthylés résultant de l'hydrolyse des polysaccharides perméthylés est rapide grâce à l'utilisation de la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse.

III. 3. 4. Détermination de la séquence glycosidique

III. 3. 4. 1. Dégradation de Smith [84]

La dégradation de Smith met en jeu une hydrolyse ménagée du polyalcool obtenu par réduction du polyaldéhyde. Cette hydrolyse a pour effet de ne couper que les liaisons acétaliques, moins résistantes que des liaisons glycosidiques qui elles ne sont pas clivées. On peut ainsi obtenir des renseignements sur la séquence d'un certain nombre d'oses à l'intérieur de la chaîne [82].

III. 3. 5. Anoméris des liaisons

Le trioxyde de chrome en présence d'acide acétique clive, avec une grande stéréosélectivité, les glycopyranosides acétylés orientés de façon équatoriale (β) alors que les glycosides acétylés orientés axialement (α) ne réagissent pas. Cette réaction est donc utilisée pour la détermination des anoméries de liaison [85].

III. 3. 6. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La RMN est une technique non destructive qui permet d'obtenir et/ou de confirmer de nombreuses informations structurales relatives au polysaccharide.

Les deux techniques les plus couramment employées sont la RMN du proton (RMN- ^1H) et la RMN du carbone 13 (RMN- ^{13}C).

• RMN ^1H

Cette méthode nécessite peu de produit purifié mais elle offre une résolution moyenne lorsque l'échantillon est un polymère du fait du nombre très important de signaux recueillis.

Pour simplifier les analyses, les hydroxyles sont transformés en deutéroxydes par échange dans l'eau lourde. Ainsi, seuls les signaux des protons apparaissent, les noyaux deutérium résonnant dans une autre gamme de fréquence. Les protons anomériques (H1) se détachent assez bien des autres pics : leurs déplacements chimiques (δ) indiquent l'anoméris α ou β .

• RMN- ^{13}C

La RMN- ^{13}C à transformée de Fourier est ici obligatoire du fait de la faible quantité de carbone 13 rencontrée naturellement (1.1%). Cette technique nécessite donc plus de produit (environ 50 mg) que la RMN-H pour obtenir un spectre correct. Les

informations fournies (par exemple le nombre de résidus osidiques dans l'unité répétitive) sont néanmoins très claires.

La RMN malgré la complexité des spectres obtenus, est un outil efficace pour l'étude structurale: les investigations de la structure du polysaccharide de *Cynomorium songaricum* (CSPA) [86] en sont un exemple.

III. 3. 7. Degré de polymérisation

Depuis ces dernières années, la HPSEC ("High Performance Size Exclusion Chromatography") constitue une méthode très puissante de caractérisation physico-chimique des macromolécules. Il s'agit d'un appareil de type Waters équipé de colonnes chromatographiques de perméation sur gel Shodex ohpak 804,803 et 802 muni de trois détecteurs montés en séries:

- Un réfractomètre différentiel qui permet de déterminer la concentration réelle de la solution injectée.

- Un viscosimètre composé de trois capillaires qui permet de déduire la viscosité intrinsèque de la solution.

- Un appareil de diffusion de la lumière qui permet alors d'accéder à la masse moléculaire moyenne en nombre et au rayon de giration à partir de la méthode de Zimm.

L'appareil est piloté par un ordinateur équipé du logiciel ASTRA qui permet de faire les calculs automatiquement et d'obtenir les masses molaires moyennes en nombre.

Une application de ce procédé à la caractérisation de quelques galactomannanes est rapportée par Kappor *et al.* [87].

Les polysaccharides hydrosolubles extraits des plantes sont des sources intéressantes d'additifs dans les applications industrielles, particulièrement les applications alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques à cause de leur capacité à modifier les propriétés fonctionnelles des produits dans lesquels ils sont incorporés [88]. Ces polysaccharides végétaux étaient d'abord utilisés dans la cuisine traditionnelle depuis des décennies pour épaissir et donner de la saveur aux sauces avant d'être couramment disponibles et valorisés comme gommés industriels [89-90]. Le choix d'un polysaccharide pour une application industrielle donnée dépendait presque

exclusivement de la routine d'utilisation et de l'expérience de l'utilisateur. Cependant, de nos jours, la connaissance de la composition et de la structure de ces macromolécules est utile et permet avec certitude le choix d'un biopolymère approprié pour une application spécifique [88].

C'est dans cette optique que les fruits du myrte couramment utilisés en cuisine traditionnelle en Algérie pour leurs propriétés astringentes ont besoin d'être caractérisés pour maîtriser et évaluer leur potentiel d'utilisation.

Le présent travail vise à caractériser sur le plan chimique les polysaccharides hydrosolubles du myrte. Il consiste spécifiquement à extraire les polysaccharides, à identifier et quantifier les monosaccharides constitutifs de ces derniers. Par ailleurs, selon les pratiques ménagères, la démarche du travail s'est appuyée sur une première étape selon laquelle la technique d'extraction à chaud améliore le rendement en polysaccharides hydrosolubles et par la suite la caractérisation chimiques et physicochimiques des hydrocolloïdes présents dans le fruit.

Chapitre II

Matériels et Méthodes

I. Matériels et méthodes

I. 1. Matières premières

Notre travail a été réalisé sur les fruits de *Myrtus communis*. Ces fruits en maturité ont été récoltés dans la région d'Annaba (Séraïdi) en Janvier 2010.

Les fruits ont été isolés manuellement et sélectionnés en fonction de l'uniformité de taille et de couleur (Figure I. 1).



Figure I. 1. Fruits de *Myrtus communis*.

I. 2. Taux de cendre

L'échantillon broyé (878.1 mg) est placé dans des creusets en céramique. Il est séché à 100 °C pendant 4 h 30 puis traité à 300 °C pendant 30 min et enfin calciné à 550 °C pendant 5 h.

Après cette pyrolyse, le taux de cendre est obtenu par peser après retour de l'échantillon à la température ambiante dans un dessiccateur.

I. 3. Extraction de précipité EtOH

I. 3.1. Traitement de fruit du myrte avec l'éthanol (85%)

Les fruits de myrte (1000 g) sont dispersés dans l'éthanol à 85% (v/v). Le mélange est alors placé dans un bain marie et porté à ébullition sous reflux pendant 1 heure.

Ils sont ensuite lavés avec la même solution éthanolique puis filtrés, et les résidus sont séchés dans une étuve ventilée ajustée à 40 °C.

Après séchage, les fruits sont soigneusement épluchés à la main de façon à éliminer les graines, le reste est broyé en une poudre fine dans un broyeur (IKA[®] A11 basic).

Une quantité de 20 g de la poudre séchée est extraite à l'eau chaude avec un rapport solide/liquide de 1:40 (p/v), Taboada *et al.* [91]. Après agitation vigoureuse à 80 °C pendant 24 h, le solide est éliminé par centrifugation à 9000 rpm pendant 30 min. L'éthanol est ajouté lentement au surnageant tout en agitant pour obtenir une concentration finale de 70% v/v. La solution résultante est maintenue pendant une nuit à 4 °C. Le précipité éthanolique est séparé par centrifugation à 9000 rpm pendant 30 min. Il est alors lavé à l'aide de l'éthanol 80% ; 90% et 100% puis séché à 40 °C pendant 48 h.

Les procédures d'extraction et de caractérisation du précipité éthanolique sont résumés dans la figure I. 2.

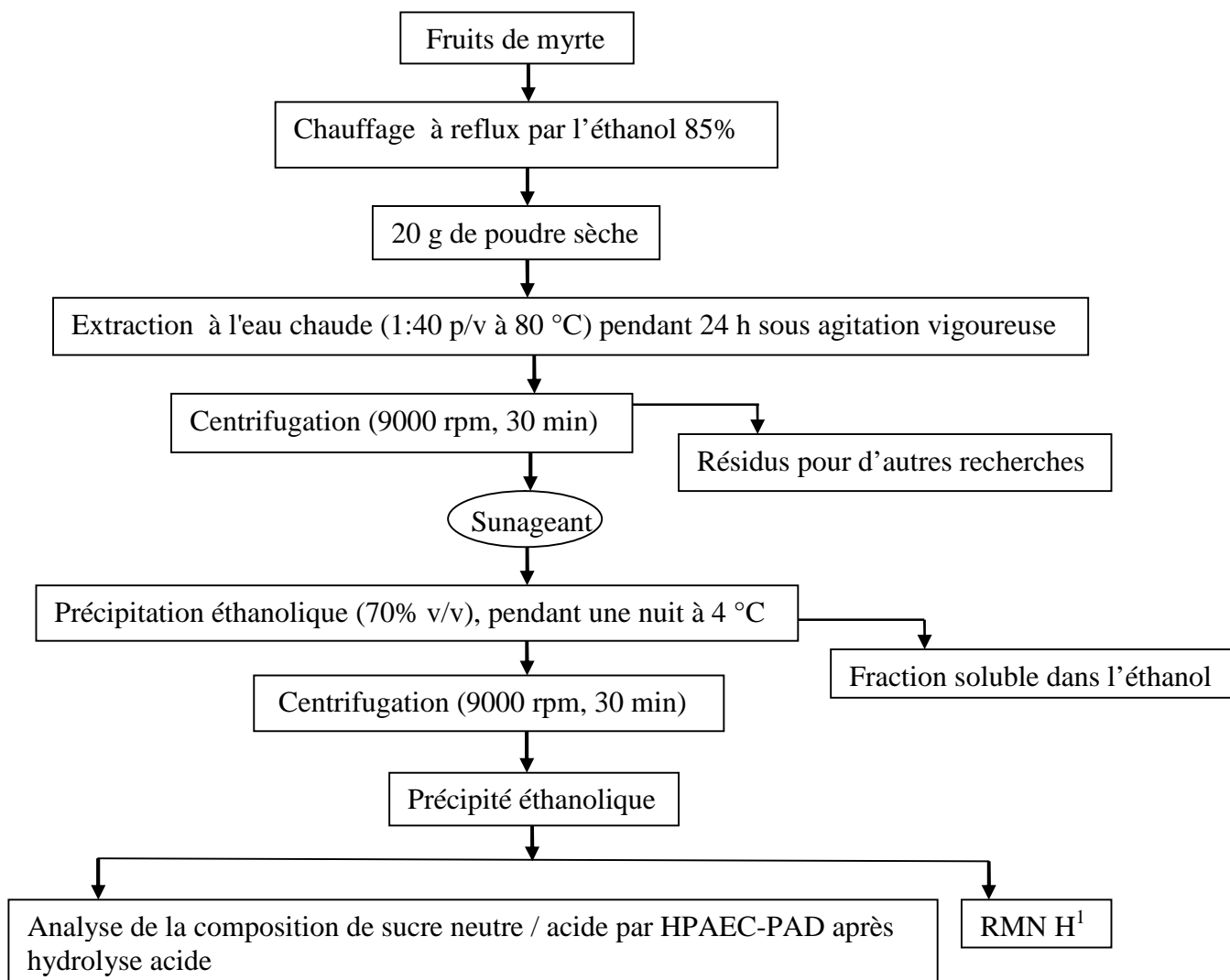


Figure I. 2: Schéma de l'extraction et de la caractérisation du précipité éthanolique à partir de fruits (*Myrtus communis*).

I. 4. La chromatographie d'exclusion stérique (CES)

I. 4. 1. Principe

La CES est une technique rapide et facile à mettre en œuvre, son principe est basé sur la partition par interactions physiques entre deux phases, l'une est appelée la phase stationnaire constituée d'un gel réticulé, l'autre est la phase mobile (solvant) selon le principe de tamis moléculaire. L'appareillage nécessaire (Figure I. 3) est d'une relative simplicité, outre un réservoir de solvant, l'équipement est constitué d'une pompe capable de pousser la phase mobile, un injecteur à travers lequel est introduit une solution diluée de polymère et les colonnes contenant la phase stationnaire. A la sortie des colonnes, on trouve un détecteur.

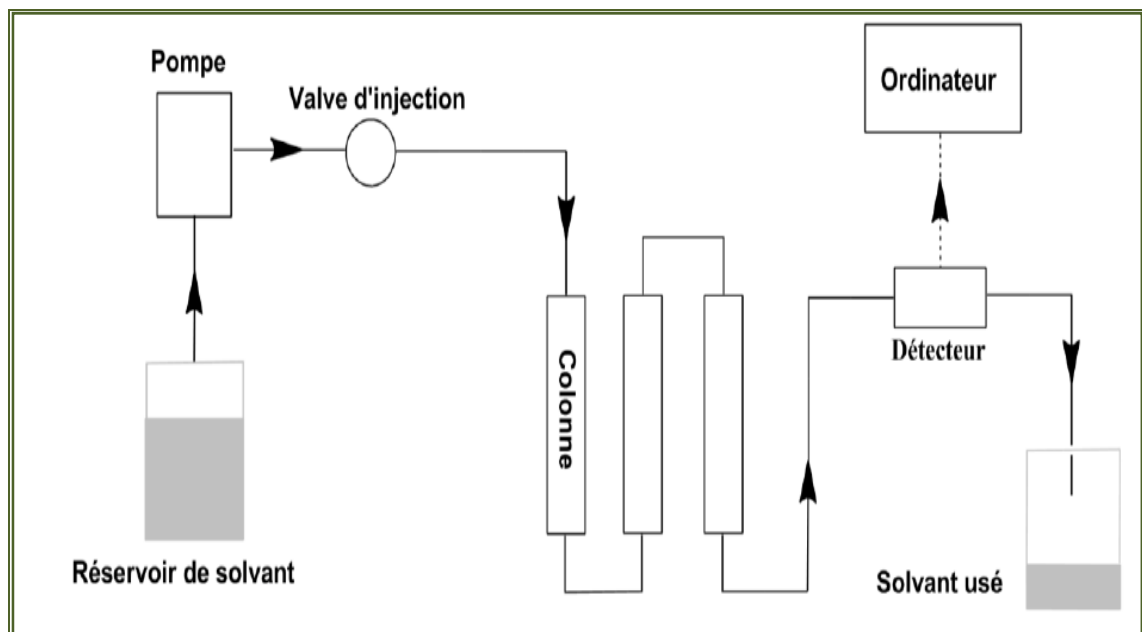


Figure I. 3: Représentation schématique d'un appareillage de SEC [92].

La phase mobile est injectée en tête de la colonne en même temps que la solution de polymère. Le solvant passe à travers la colonne à un débit constant, engendrant un gradient de pression au sein de la colonne. Sous l'effet de cette pression, les molécules constitutives de l'échantillon, passent aussi à travers la colonne. Cependant les molécules parcourent des chemins plus ou moins long en fonction de leur capacité à pénétrer les pores. Les petites et moyennes molécules diffusent

librement dans les pores de toutes tailles et sont éluées plus tardivement, quant aux molécules les plus grosses, leur volume peut les empêcher de pénétrer les pores et sont exclues de la phase stationnaire (d'où vient l'expression d'exclusion stérique) (Figure. I. 4).

Chaque phase stationnaire est donc adaptée à un domaine de séparation exprimée sous forme de deux masses, supérieure et inférieure, au-dessus et au-dessous desquelles il n'y a pas d'effet de séparation possible. Pour augmenter ce domaine, on peut mettre bout à bout 2 ou 3 colonnes [92-93].

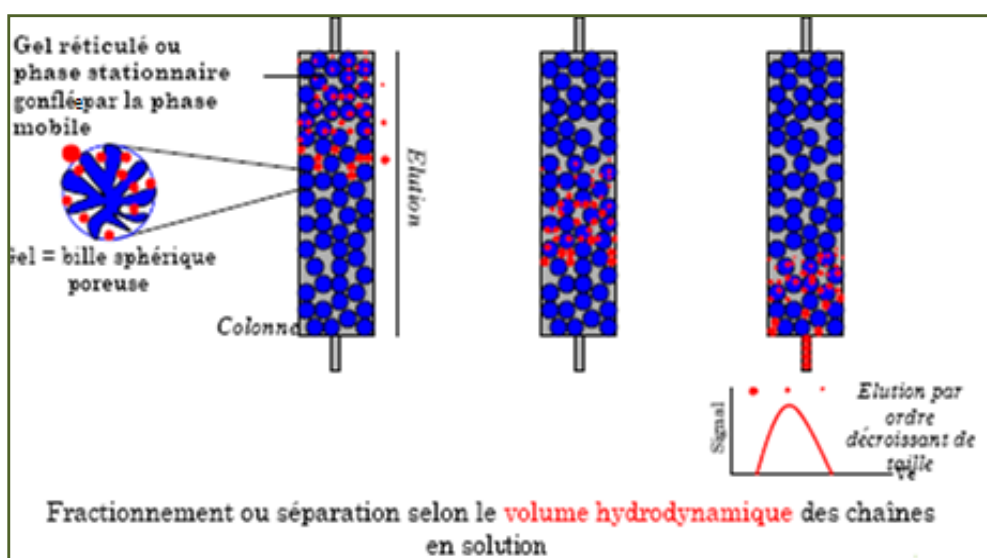


Figure I. 4: Principe de la chromatographie d'exclusion stérique [94].

I. 4. 2. Protocole

Premièrement, l'échantillon a été lavé à travers deux colonnes thermostatées à 60 °C (Ø: 1.5 cm x 1 m) connectées en séries et emballées avec du gel de polyacrylamide Biogel P2 à un débit de 0.5 ml/min. Deuxièmement, l'échantillon a été lavé à travers une colonne emballée de gel de polyacrylamide Biogel P4 (Ø: 5 cm x 1 m) à un débit de 1.8 ml/min et une pression de 1 bar. L'éluant est de l'eau distillée. La détection est réalisée via un réfractomètre différentiel (R14 d'après Knauer) qui donne des informations sur l'indice de réfraction dn/dc .

Les procédures de fractionnement par CES et de caractérisations des fractions solubles dans l'éthanol sont représentés dans la figure I. 5.

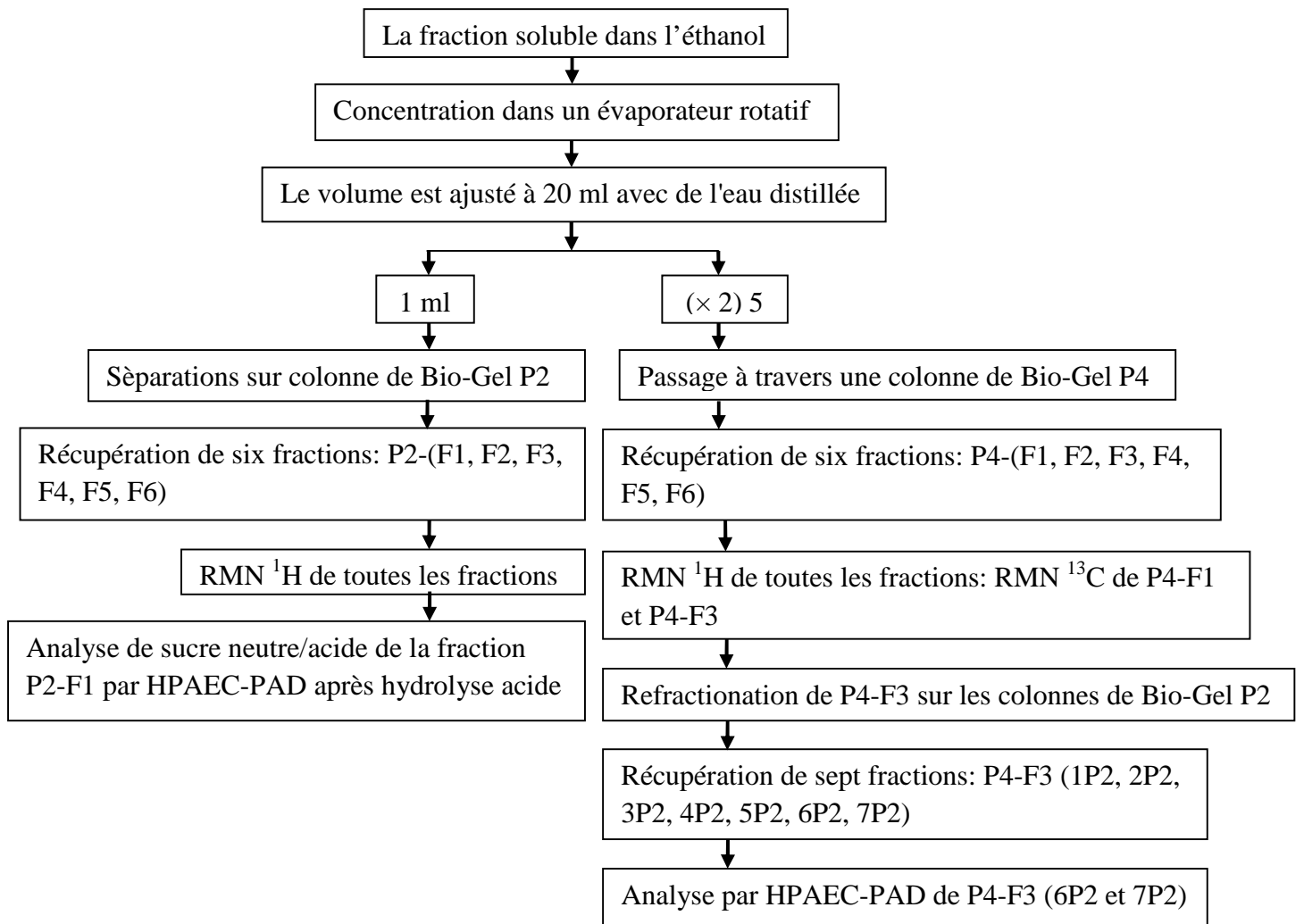


Figure I. 5: Schéma de l'extraction et de la caractérisation de la fraction soluble dans l'éthanol à partir de fruits *Myrtus communis*.

I. 5. Analyse de la composition en sucre par HPAEC-PAD

I. 5. 1. Principe

L'analyse par HPAEC-PAD est basée sur l'ionisation des polysaccharides en milieu fortement alcalin ce qui permet de les séparer sur une colonne échangeuse d'anions, puis de les détecter et de les quantifier par ampérométrie pulsée [95] qui permet une détection de l'ordre d'une dizaine de picomoles.

L'appareillage est un système Dionex LC (Dionex ICS3000) équipé avec une colonne CarboPac PA1 (4 x 250 mm) en combinaison avec une colonne de garde CarboPac. Les analyses sont effectuées avec un débit de 1 ml/min et une colonne thermostatée à 17 °C. L'éluant utilisé est un mélange de trois solutions, la solution A: eau distillée, la solution B: 0.2 M solution d'hydroxyde de sodium et solution C: 0.2 M d'hydroxyde de sodium + 1 M d'acétate de sodium. L'élution est effectuée en utilisant un gradient (Tableau I. 1) qui a été optimisé pour l'efficacité. La technique fournit également une analyse quantitative spécifique des monosaccharides neutres et acides. L'étalonnage est effectué avec une solution étalon de L- rhamnose, L- arabinose, D- glucose, D-xylose, D-mannose, D-galactose, acide glucuronique et acide galacturonique. Les données ont été traitées en utilisant le logiciel Chroméléon.

Tableau I. 1. Programme de gradient pour les échantillons analysés.

Temps (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)	Solvent C (%)
0	91	9	0
30	91	9	0
35.1	91	7	2
50	50	0	50
50.1	0	50	50
65	0	50	50
65.1	0	0	100
85	0	0	100
85.1	0	100	0
100	0	100	0
100.1	91	9	0
115	91	9	0

I. 5. 2. Protocole

Les compositions en sucres neutres et acides sont déterminées par HPAEC-PAD. Pour le précipité EtOH, 1 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) 72 % est ajouté à 2.7 mg de l'échantillon dans un tube en pyrex. Après incubation pendant une nuit à température ambiante, la suspension a été diluée à H₂SO₄ 2 N et chauffée à 100 °C pendant 6 h sur un bloc chauffant. L'échantillon P2-F1 (2.9 mg) est hydrolysé pendant 6 h à 110 °C dans H₂SO₄ 2 N.

Le produit hydrolysé est refroidi sous l'eau de robinet, puis neutralisé avec du carbonate de baryum sous agitation vigoureuse, filtré et concentré sous vide avec un évaporateur rotatif. Une quantité de 10.4 mg de P4-F3 (6P2) et 2.9 mg de P4-F3 (7P2) est dissoute dans 2 ml d'eau distillée. Chaque échantillon est dilué au 1 /4, 1/10, 1/40 et 1/100 pour le précipité EtOH, P2-F1, P4-F3 (7P2) et P4-F3 (6P2),

respectivement. Après filtration à travers un filtre de 0.45 μm , 20 ml de chaque échantillon sont ensuite injectés dans le système HPAEC-PAD.

I. 6. La résonance magnétique nucléaire (RMN)

I. 6. 1. Principe

La RMN tire des informations de l'interaction qui peut apparaître entre les noyaux des atomes présents dans l'échantillon quand on le soumet à un champ magnétique intense et constant, produit par un aimant.

L'échantillon est placé dans un champ magnétique statique intense. Les molécules de cet échantillon sont soumises à un champ magnétique appliqué qui provoque une perturbation des atomes considérés. L'application de ce champ de radiofréquence (RF) choisie (impulsion ou "pulse") est de courte durée, quelques microsecondes. Les noyaux génèrent à leur tour un micro-champ magnétique qui sera capté par une bobine réceptrice, c'est le signal R.M.N. (Données). Ces données sont envoyées à un ordinateur où elles sont analysées et transformées en signal. Le traitement mathématique, ou transformée de Fourier, permet de transformer le signal en spectre R.M.N (Figure I. 6).

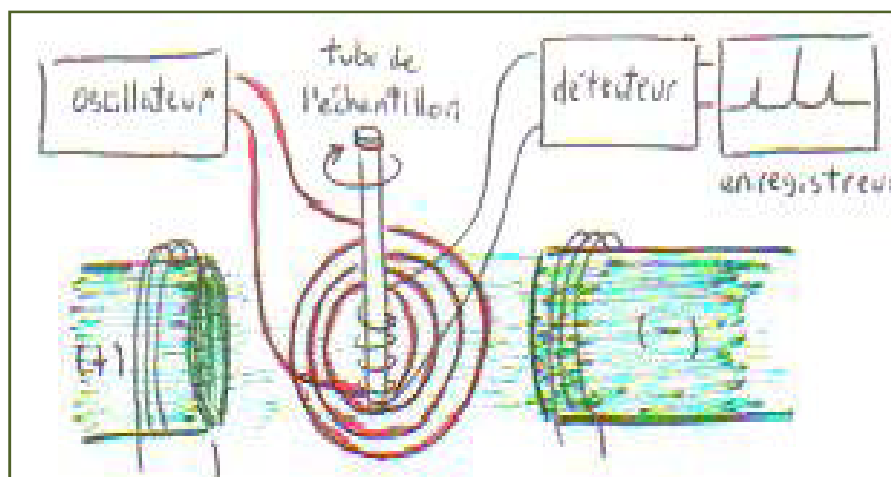


Figure I. 6: Schématisation d'un appareil à RMN [96].

I. 6. 2. Protocole

Les spectres RMN du carbone et du proton ont été enregistrés avec un spectromètre BRUKER Avance 400 fonctionnant à une fréquence de 100.612 MHz et 400.13 MHz, respectivement. Les échantillons ont été dissous dans D_2O (5 mg dans 500 ml

de solvant) à 80 °C dans des tubes 5 mm de diamètre. Les spectres ^{13}C ont été enregistrés en utilisant les impulsions 90° , 20000 Hz de largeur spectrale, 65.536 points de données, le temps d'acquisition est de 1.638 et 1 S retard de relaxation. De 4096 à 10.240 balayages ont été accumulés en fonction de la solubilité de l'échantillon. Les spectres de protons ont été enregistrés avec la largeur spectrale 4006 Hz, 32768 points de données, à partir d'un moment d'acquisition 4.089, le retard de relaxation est de 0.1 et jusqu'à 16 balayages.

Chapitre III

Résultats et discussion

Le myrte (*Myrtus communis* L.) est un arbrisseau aromatique de la famille des myrtaceae, aux fruits ovoïdes, d'un bleu foncé à noir, originaire du bassin méditerranéen.

En Algérie, les fruits arrivent à maturité pendant la saison de l'automne. Les baies de myrte sont d'environ 5 mm de diamètre et à graines peu nombreuses.

Les fruits ont été récoltés en maturité à proximité d'Annaba (Nord-Est de l'Algérie), ils ont été sélectionnés de façon à ne retenir que les fruits sains dont la peau n'était pas endommagée.

Après traitement éthanolique et séchage dans une étuve à 50 °C, les fruits ont été épluchés manuellement pour éliminer les graines.

I. 1. Rendements d'extraction

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles suivie d'une précipitation éthanolique ont permis l'obtention de 0.6 g de précipité éthanolique (Tableau I. 1) et de 3 g de fraction soluble dans l'éthanol (déterminée par pesée des fractions (F1 à F6) récupérés sur P2) (Tableau I. 2). Le tableau récapitulatif I. 3 regroupe les rendements des différentes fractions.

Tableau I. 1: Rendement de précipité éthanolique.

Fraction	Poids initial	Poids après extraction	Rendement (%)*
	(g)	(g)	
Le précipité éthanolique	20	0.6	3

*en poids par rapport à la matière sèche.

Le rendement d'extraction de précipité EtOH a atteint 3% (p/p) par rapport à la matière sèche. Il est supérieur par exemple au rendement du polysaccharide hydrosoluble extrait à l'eau chaude à partir du fruit de *Physalis alkekengi* L. qui est de 0.71% [97] et des feuilles d'*Asphodelus tenuifolius* qui est de 0.65% [98].

Tableau I. 2: Rendement de la fraction soluble dans l'éthanol.

Fraction	Poids initial	Poids après extraction	Rendement (%)[*]
	(g)	(g)	
La fraction soluble dans l'éthanol	20	3	15

*en poids par rapport à la matière sèche.

La plupart des polysaccharides qui sont utilisés dans l'industrie sont d'origines végétales.

Les données publiées indiquent que les polysaccharides végétaux en général ont de fortes activités antioxydantes et peuvent être explorés en tant que nouveaux antioxydants potentiels [99]. Une étude rapportée par Tong *et al.* [97] montre que la fraction polysaccharidique (désigné PPSB) isolée des fruits de *P. alkekengi*, qui est un hétéropolysaccharide acide peut être considérée comme un candidat potentiel pour le développement d'un nouveau agent anti-diabétique. Ying-k *et al.* ont rapporté que les polysaccharides de *Physalis alkekengi* L. (PAP) extraits à l'eau chaude ont une forte activité de neutraliser les radicaux libres [100].

Tableau I. 3: Rendements des différentes fractions extraites.

Fractions	Rendement (%)[*]
Le précipité éthanolique	3 %
La fraction soluble dans l'éthanol	15 %

*en poids par rapport à la matière sèche.

I. 2. Taux de cendre

La composition chimique d'un végétal varie selon les espèces et au sein même d'une espèce. Elle dépend des conditions de culture (qualité du sol, climat, irrigation, traitements phytosanitaires), et de la période de récolte (précoce ou tardive).

Les végétaux renferment toujours une certaine quantité de composés minéraux.

Au sein de la cellule, on peut rencontrer divers types de sels minéraux qui sont nécessaires au développement de la plante. Ces sels proviennent du sol. Ils sont absorbés par les racines et utilisés au niveau des cellules. On les trouve sous diverses formes : soluble, insoluble ou élément d'un complexe avec des substances organiques. Ils entrent dans divers mécanismes biochimiques pour le développement cellulaire et la nutrition [50].

Nous avons déterminé le pourcentage en matières minérales (cendres). Dans un premier temps, nous avons déterminé le taux d'humidité à partir d'un échantillon de poids égal à: 878.1 mg par chauffage à 100 °C pendant 4 h 30. La perte en poids est de 804.4 mg soit une perte de 8.4% d'eau. Après chauffage pendant 30 min à 300 °C et 5 h à 550 °C, le poids de cendre est de 41.4 mg. Les cendres représentent donc 5.14% de la matière sèche.

Le taux de cendres du myrte est inférieur par exemple à celui de la pelure du fruit de la figue de barbarie qui est de 7-8% [75]. On sait que cette plante affectionne énormément les sols pauvres ou caillouteux. Les pulpes de betterave en renferment un taux de 4-12% [50].

Dans un second temps et en vue d'avoir un ordre d'idée sur la distribution en composition polysaccharidique, nous avons soumis notre matériau dégraissé à une extraction à l'eau chaude à une concentration: eau/matière sèche = 40:1, permettant de solubiliser les polysaccharides non cellulosiques.

I. 3. Extraction de précipité EtOH

Des études sont largement menées sur l'isolement, la purification et l'analyse structurale des polysaccharides. Plusieurs rapports ont indiqué que la structure chimique et le poids moléculaire (MW) de polysaccharide sont parmi les principaux facteurs importants responsables des activités biologiques [101]. L'identification des polysaccharides est la première étape nécessaire pour l'exploitation efficace de la structure et des propriétés fonctionnelles [99].

Préalablement à l'extraction et à l'analyse des polysaccharides, il est essentiel de procéder à un traitement par la chaleur pour inactiver les enzymes hydrolytiques qui pourraient agir sur les polysaccharides constitutifs. Ainsi les fruits ont été chauffés à reflux avec de l'éthanol en raison de l'effet de l'inactivation avérée que l'éthanol exerce contre les polygalacturonases (PGase) et d'autres hydrolases. Ce traitement permet l'élimination de corps gras et des composés de faible poids moléculaire, y compris les acides aminés et les pigments. Les polysaccharides hydrosolubles ont été extraits de fruits de *M. communis* sans graines par extraction à l'eau chaude suivie d'une précipitation éthanolique, qui est un procédé utile pour le fractionnement des polysaccharides hydrosolubles en termes de poids moléculaire [102]. Les polysaccharides hydrosolubles de poids moléculaire élevé précipitent dans l'éthanol à faible concentration, tandis que ceux ayant un faible poids moléculaire ne peuvent donner de précipité que par une forte concentration d'éthanol.

I. 4. Chromatographie d'exclusion stérique (CES)

La CES est une technique qui permet la séparation des molécules de soluté en fonction de leur taille, ou plus précisément de leur volume d'élution [103].

Dans notre étude, comme le montre la figure I. 1, la composition de la fraction soluble dans l'éthanol a été partiellement résolu avec les séparations sur colonne de Bio -Gel P2 et Bio-Gel P4 par la CES.

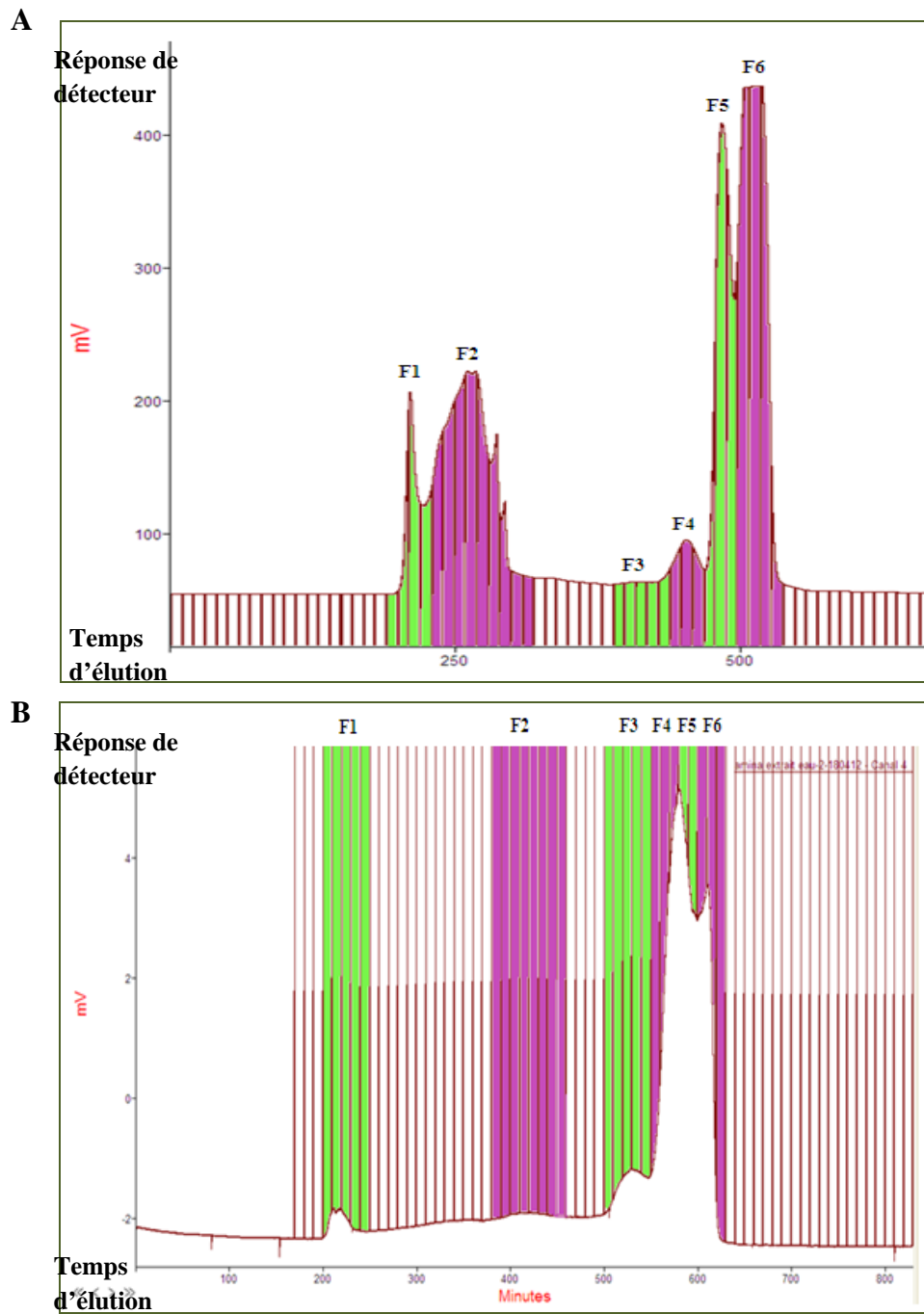


Figure I. 1: La chromatographie d'exclusion stérique donne la composition de la fraction soluble dans l'éthanol en utilisant les colonnes de Bio-Gel P2 (**A**), une colonne de Bio-Gel P4 (**B**).

Le chromatogramme de la figure I.1. A illustre la séparation de la phase éthanolique sur les colonnes Bio-Gel P2. Le résultat indique qu'elle est constituée de six fractions: P2- (F1, F2, F3, F4, F5, F6) (Tableau I. 4).

Tableau I. 4: Le pourcentage^a des fractions solubles dans l'éthanol obtenues après séparation sur Bio-Gel P2.

Fractions sur Bio-Gel P2	Concentration massique totale (mg/1ml)	Concentration massique de la fraction (mg/1ml)	%
P2-F1	83.4	1	1.1
P2-F2	83.4	13.9	16.6
P2-F3	83.4	1.6	2
P2-F4	83.4	1.4	1.6
P2-F5	83.4	3	3.5
P2-F6	83.4	62.5	75

^a Les données sont obtenues en utilisant la CES.

La séparation de la même phase à travers une colonne Bio-Gel P4 (Figure I. 1. B). Les fractions obtenues sont P4-(F1, F2, F3, F4, F5, F6) (Tableau I. 5). Cette colonne a permis l'injection d'une quantité plus grande que le Bio-Gel P2.

En effet, le diamètre des colonnes définit la quantité d'échantillon (masse) qu'on peut injecter sur une colonne. Des volumes d'injection importants permettent d'introduire des échantillons de masse moléculaire élevée à des concentrations plus faibles, d'où une réduction de la viscosité et la garantie d'un chromatogramme de qualité [104-105].

Tableau I. 5: Le pourcentage^a des fractions solubles dans l'éthanol obtenues après séparation sur Bio-Gel P4.

Fractions sur Bio-Gel P4	Concentration massique totale (mg/1ml)	Concentration massique de la fraction (mg/10ml)	%
P4-F1	83.4	60/10	7.1
P4-F2	83.4	62/10	7.4
P4-F3	83.4	150/10	18
P4-F4	83.4	514/10	61.6
P4-F5	83.4	532/10	63.7
P4-F6	83.4	210/10	25.1

^a Les données sont obtenues en utilisant la CES.

Les résultats des analyses chimiques ont montrés que P2-F1 et P4-F1 contenaient le même biopolymère. La fraction majeure dans P4-F2 a été trouvée dans P2-F2. P4-F3 contient les composés trouvés dans P2-F3, F4 et F5.

La solution P4-F3 a été fractionnée sur colonnes Bio-Gel P2 (Figure I. 2) pour donner sept fractions P4-F3 (1P2, 2P2, 3P2, 4P2, 5P2, 6P2, 7P2). Le pourcentage des fractions obtenues est indiqué dans le tableau I. 6. Les fractions P2-F6, P4-F4 à P4-F6. Contiennent le même sucre.

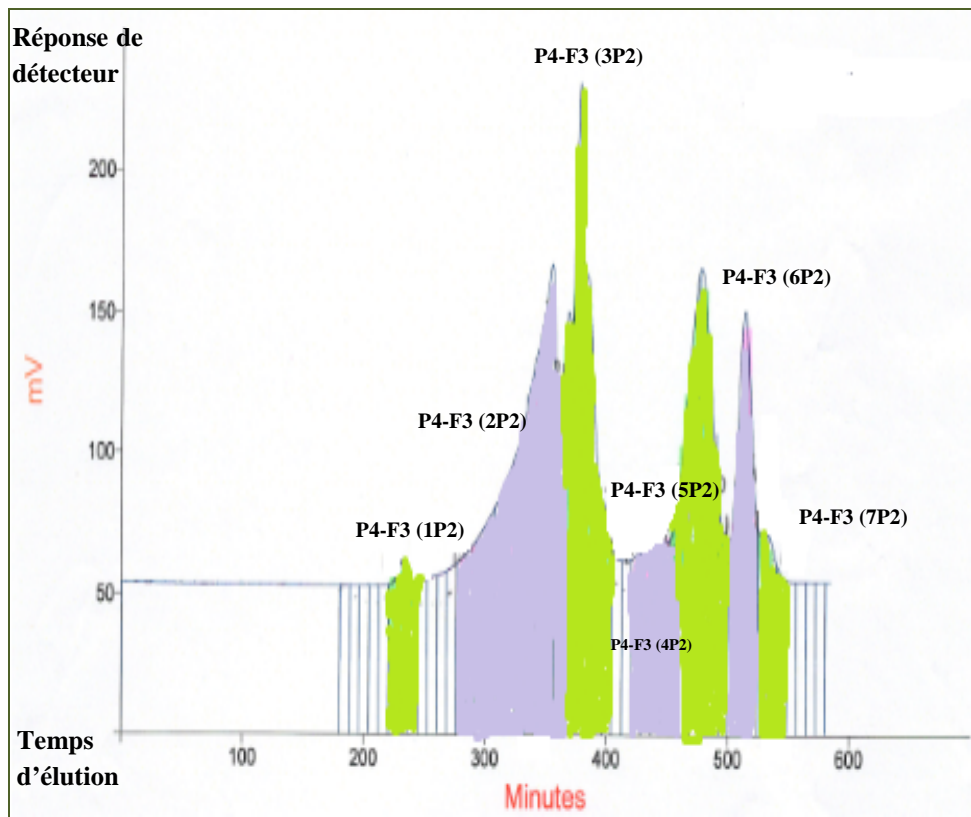


Figure I. 2: Chromatogramme de la séparation de la fraction P4-F3 sur Bio-Gel P2.

Tableau I. 6: Le pourcentage^a des fractions issues de P4-F3 sur Bio-Gel P2.

Fractions sur Bio-Gel P2	Quantité totale de matière (mg/1ml)	Masse de la fraction (mg/1ml)	%
P4-F3 (1P2)	15	1.3	8.6
P4-F3 (2P2)	15	26.8	178.6
P4-F3 (3P2)	15	23.0	153.3
P4-F3 (4P2)	15	3.6	24
P4-F3 (5P2)	15	19.6	130.6
P4-F3 (6P2)	15	10.9	72.6
P4-F3 (7P2)	15	2.4	16

^aLes données sont obtenues en utilisant la CES.

Les pourcentages des différentes fractions sont rassemblés dans le tableau récapitulatif I. 7.

Tableau I. 7: Le pourcentage^a des fractions solubles dans l'éthanol obtenues après séparations sur Bio-Gel P2 et Bio-Gel P4 et les fractions issues de P4-F3 sur Bio-Gel P2.

Fractions	F1	F2	F3	F4	F5	F6	P4-F3 (1P2)	P4-F3 (2P2)	P4-F3 (3P2)	P4-F3 (4P2)	P4-F3 (5P2)	P4-F3 (6P2)	P4-F3 (7P)
Bio-Gel P2	1.1	16.6	2	1.6	3.5	75	8.6	178.6	153.3	24	130.6	72.6	16
Bio-Gel P4	7.1	7.4	18	61.6	63.7	25.1							

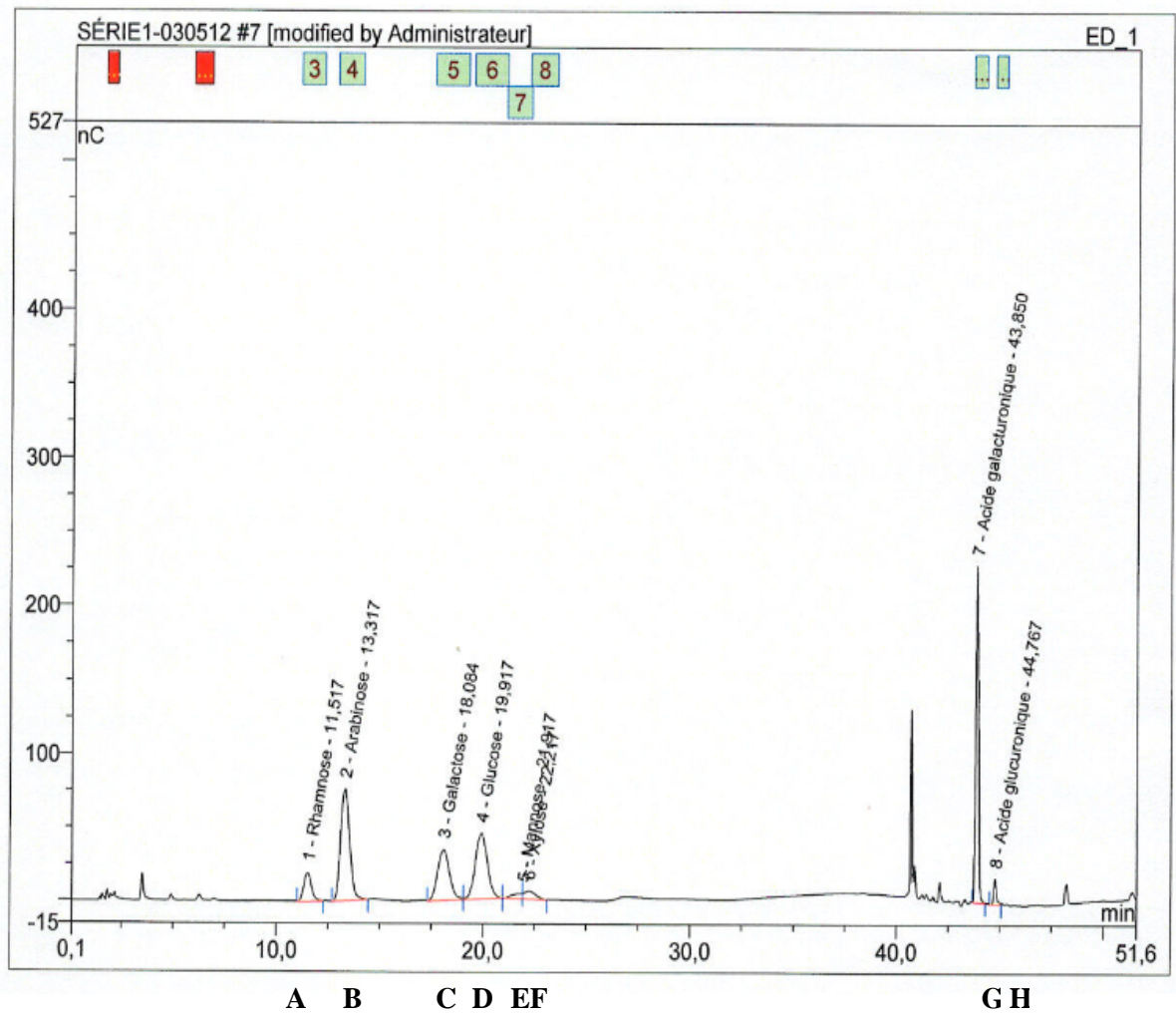
^aLes données sont obtenues en utilisant la CES.

I. 5. La composition en sucre

Les constituants de base des parois végétales ainsi que des différents extraits sont des oses neutres ou/et acides.

Le traitement par l'acide sulfurique selon le protocole I. 5. 2 permet l'hydrolyse des constituants polysaccharidiques. Les proportions relatives des sucres monomères obtenus sont déterminées par la chromatographie échangeuse d'anions haute performance à détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD), qui permet de déterminer la quantité et la qualité des oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles.

1. 5. 1. Le précipité EtOH



A = Rhamnose. **B** = Arabinose. **C** = Galactose. **D** = Glucose. **E** = Mannose, **F** = Xylose,
G = Acide galacturonique, **H** = Acide galacturonique.

Figure I. 3: Composition de l'extrait éthanolique.

Tableau I. 8 : La composition^a en sucre de précipité EtOH isolé.

Masse initial de précipité EtOH (mg)	Composé	Quantité g/l	Masse d'ose (mg)	Facteur de dilution	%
2.7	Rhamnose	0.0111	0.044	4	1.6
2.7	Arabinose	0.0331	0.132	4	5
2.7	Galactose	0.0203	0.081	4	3
2.7	Glucose	0.0152	0.060	4	2.2
2.7	Mannose	0.0025	0.01	4	0.3
2.7	Xylose	0.0011	0.004	4	0.1
2.7	Acide galacturonique	0.0972	0.388	4	14.4
2.7	Acide glucuronique	0.0054	0.388	4	14.4
2.7	Sucres neutres	-	0.331	-	12.3
2.7	Acides uroniques	-	0.776	-	28.8

^a Les données ont été obtenues en utilisant une HPAEC-PAD.

Le précipité EtOH (figure I. 3, tableau I. 8) contient les quatre catégories de monosaccharides qui sont connus pour être des constituants des polymères pariétaux; 12.3% (p/p) de sucres neutres qui sont: des hexoses (Glc, Gal et Man), des pentoses (Ara, Xyl), un methyl-pentose (Rha) et des acides uroniques (GalA et GluA) avec un pourcentage de 28.8% (p/p).

Le précipité EtOH apparaît sans ambiguïté comme étant une fraction pectique puisque le GalA, en tant qu'ose marqueur des pectines, y est majoritaire. Les fruits sont les principales sources de nombreux composés y compris la pectine [106].

L'analyse de la composition en sucre a révélée que le précipité EtOH se compose principalement de 14.4% d'acide galacturonique, 5% d'arabinose et 3% de galactose, ce qui suggère que l'homogalacturonane (HG) ne peut pas être le principal polysaccharide dans cette fraction. Des concentrations élevées d'acides uroniques ont également été signalées dans le solide insoluble dans l'alcool (AIS) des fruits de murta (*Ugni molinae* Turcz) de Chili [91].

Les pectines commercialisées présentent des taux d'acide galacturonique élevés. Selon les règles européennes, une pectine destinée pour les produits alimentaires doit renfermée au moins 65% d'acide galacturonique, et pour la " pharmacopia" américaine, au moins 74% de cet acide.

Le rapport de sucre acide/neutre dans le précipité EtOH était plus élevé que ceux rapportés pour la pectine des solides insolubles dans l'alcool de murta (murta AIS) (33.9/24.3), pomme (18.7/58.9) et le fruit de cognassier du Japon (22 /54) [91-107-108].

Les oses prépondérants dans le précipité EtOH sont le galactose et l'arabinose. En effet, le Gal et l'Ara sont souvent associés entre eux dans la paroi pour former des homopolymères pectiques de galactanes et arabinanes ou des hétéropolymères d'arabinogalactanes (AG) de type I et II [109].

L'arabinogalactane alimentaire provient principalement de carottes, radis, tomates, poires, et le blé, entre autres aliments végétaux. La gomme arabique, un additif alimentaire commun, est composé d'arabinogalactane très ramifié. Les arabinogalactanes sont également présents dans les plantes médicinales, comme l'échinacée, et dans le champignon médicinal *Ganoderma lucidum*.

L'arabinogalactane de mélèze est un mélange de plusieurs arabinogalactanes différents provenant principalement du bois de mélèze de l'ouest (*Larix occidentali*), mais aussi dans d'autres espèces de mélèze. La recherche suggère que l'arabinogalactane de mélèze peut avoir une activité immunitaire d'amélioration. Des études *in vitro* ont révélées qu'il stimule l'activité des cellules tueuses naturelles humaines et améliore la fonction d'autres composants du système immunitaire. Dans d'autres études de laboratoire, il peut inhiber la métastase des cellules tumorales du foie [110]. L'arabinogalactane disponible dans le commerce, obtenu à partir du bois de crosse de mélèze de l'ouest est utilisé comme un additif à faible teneur en calories dans les boissons pour augmenter la teneur en fibres [111].

L'arabinogalactane de mélèze est approuvé par la FDA pour une utilisation dans des applications alimentaires comme: 121.1174 et 121.1219 [112] et peut être utilisé en toute sécurité comme stabilisateur ou raffermissant dans les huiles essentielles, édulcorant non nutritif, pansement non-standard [113].

Les arabinogalactanes peuvent être utilisés dans des applications variées en fonction de leurs diverses caractéristiques: elles constituent d'excellents émulsifiants des mélanges huile/eau lorsqu'elles sont ajoutées à de faibles concentrations (0.5 à 1% en

poids); elles ont une remarquable stabilité aux acides et à la température ; elles présentent d'exceptionnelles propriétés d'adhésion aux matériaux polaires: papiers, céramique, ce qui permet d'envisager une utilisation en tant que colle végétale.

Ils sont utiles pour le traitement thérapeutique des infections causées par les microorganismes pathogènes, en particulier les bactéries intestinales, telles que les types Gram négatif. Le traitement avec l'arabinogalactane est particulièrement applicable aux bactéries du type Enterobacteriaceae telle que *Escherichia coli*. Les arabinogalactanes ont été montré pour avoir des effets sur l'adhérence des bactéries [113].

Le rhamnose représente 1.6% de sucres neutres dans le précipité EtOH, ce qui est très faible par rapport au contenu de l'acide galacturonique (GalA). Au cours de la maturation des fruits, la protopectine insoluble de haut poids moléculaire est convertie en pectine soluble dans l'eau. Le ramollissement du fruit est associé principalement à l'activité enzymatique des polygalacturonases et pectine méthylestérases [114-115-116]. Les travaux de Yoshioka *et al.* [117], suggèrent que lors du mûrissement des fruits, les pectinéméthylestérases agissent en désestérifiant les régions hautement méthylées des pectines, ce qui entraîne leur solubilisation, ce phénomène explique le changement apparent se produisant pendant la maturation de plusieurs fruits.

Selon la classification de pectines par Schols et Voragen [118] qui repose en partie sur le rapport de Rha/GalA, le rhamnogalacturonane I (RG- I) peut être distingué de HG par son rapport Rha/GalA, qui varie de 0.05 à 1. Le rapport pour le précipité EtOH est de 0.1%, ce qui suggère une prédominance de polysaccharide RG-I. Ce rapport est inférieur à celui de pectine de fruit d'*Agania* (AFP) qui est de 0.22% [119]. En général, le rhamnogalacturonane I (RG-I) est constitué d'une alternance de résidus rhamnose et d'acide galacturonique comme un squelette [120].

Les fibres de pommes de terre sont particulièrement riches en rhamnogalacturonane I (RG-I) [121].

Les fractions F1 macromoléculaires des extraits bruts de son de châtaigne, composés d'acide galacturonique (17.9%), de rhamnose (13.7%), d'arabinose (23.1%) et de galactose (24.0%) présentent par ailleurs la composition attendue d'arabinogalactanes acides de la famille des rhamnogalacturonanes de type I [122].

Les solides solubles extractibles obtenus en utilisant un tampon chaud (HBSS) après extraction séquentielle du matériau de la paroi cellulaire d'*Abelmoschus esculentus*

(L.) Moench, une plante originaire d'Afrique, sont constitués principalement des segments RG-I (85%), le rapport de rhamnose à l'acide galacturonique est de 0.7 qui est supérieur à celui du myrte.

Cette plante est maintenant cultivée dans de nombreux pays : Thaïlande, Moyen-Orient et au sud des états unis d'amérique (U.S.A) [123].

Oosterveld *et al.* [124] ont indiqué que les fragments de sucre des polysaccharides pectiques (arabinose, rhamnose, galactose et acide galacturonique) représentent plus de 63% (p/p) de la paroi cellulaire présente dans la pulpe de betterave, et qu'environ 70% de la pectine dans la pulpe de betterave à sucre se compose de RG-I ramifiée, en supposant un rapport de rhamnose/acide galacturonique de 1:1. Contrairement à la plupart des dicotylédones, le type et la taille des substitutions des RG-I sont variables chez les espèces monocotylédones et dicotylédones [125-126-127].

Actuellement, les marcs de pomme et les pulpes ou écorces de citrus sont les deux sources principales de pectines commerciales. Il y a d'autres sources de pectines qui ont été considérées comme la pulpe de betterave, la pulpe de pomme de terre, ou les coques de tournesol [128-129-130].

Les substances pectiques peuvent former des gels sous certaines conditions, ces propriétés sont très largement utilisées en industrie agroalimentaire où les pectines sont utilisées comme épaississant des solutions et stabilisant des émulsions.

Les caractéristiques gélifiantes des pectines dépendent de leur masse molaire et du degré de méthylation. Selon la source, les pectines n'ont donc pas la même capacité de gélification à cause des variations sur ces paramètres. En conséquence, seulement une teneur élevée en pectines dans un fruit ne justifie pas seule son utilisation comme source de pectines [131].

Dans les applications non alimentaires, la principale filière est l'industrie pharmaceutique. Dans ce domaine les pectines contribuent aux activités anti-métastatique, immunostimulante, anti-ulcère, antinéphrétique, antityphoïde, antidiarrhée, anticholestérol et pour la délibération contrôlée des médicaments [131-132-133].

Les AG et RG -I se trouvant dans la pectine de fruit d'*Argania* [119], leurs oses sont similaires à des polysaccharides HEPES-soluble isolés de la baie de raisin [134].

La présence de mannose (0.3%), acide glucuronique (14.4%), glucose (2.2%) et de xylose (0.1%) dans le précipité EtOH indique la présence probable de xyloglucanes (XG identifiées) [53] qu'on peut présenter par la somme Xyl + Glc) constituant la

fraction hémicellulosique majoritaire (environ 2.3% des hemicelluloses avec un taux Xyl/Glc de 0.05).

L'étude rapportée par Aboughe-Angone *et al.* [119] a montrée que les deux fractions AF1OH and AF4OH solubles en milieu alcalin de la pulpe de fruit d'*Argania spinosa* contiennent le xyloglucane avec un taux Xyl/Glc de 3.9 et 1.2 respectivement. Le taux des deux fractions est supérieur à celui de notre précipité EtOH.

Par ailleurs le concentré alcalin d'*Abelmoschus esculentus* (CASS) contient aussi un xyloglucane [123].

Les xyloglucanes sont des polysaccharides composés essentiellement de sucres neutres (xylose, glucose, mannose,...) et qui peuvent renfermer des teneurs plus au moins importantes d'acides uroniques [75]. Les xyloglucanes se trouvent en faible quantité dans les parois cellulaires primaires de non graminées (les monocotylédones) [135], ils représentent environ 20-25% du poids sec de la paroi primaire chez les dicotylédones angiospermes [92].

Les oligosaccharides de xyloglucane solubles obtenus par traitement à l'aide d'endoglucanase (XGO-1) de la baie de raisin contiennent le glucose, mannose et le xylose [136].

Les xyloglucanes issues de: graines de tamarin (*Tamarindus indica*) sont des sous-produit de l'industrie de tamarin, ils font l'objet de polymère technique d'intérêt pour la fabrication d'emballage [137].

D'autres applications importantes du xyloglucane du tamarin sont rapportées dans la littérature, en particulier dans des formulations pharmaceutiques pour obtenir des gels, et comme un véhicule de médicaments pour les systèmes à libération contrôlée [138].

Le seul XG de graine qui est exploité commercialement à l'heure actuelle est de l'arbre de tamarin [137].

De nombreux xyloglucanes de graines sont en cours de développement pour leur grand nombre d'applications commerciales et industrielles, en particulier ceux obtenus à partir de graines de tamarin [139]. Ils possèdent des propriétés comme une forte augmentation de viscosité des solutions, large tolérance de pH et l'adhérence. Cela conduit à leurs applications en tant que stabilisant, épaississant, agent gélifiant dans l'alimentation et liant dans les industries pharmaceutiques [140]. Le xyloglucane possède aussi des activités biologiques intéressantes. En effet, il a une

une activité sur la régénération et la croissance des fibroblastes, son activité est dose dépendante. Une activité anti-radicalaire libre a été aussi rapportée. Ainsi que des propriétés immunostimulantes [141].

Les xyloglucanes sont parmi les composés hemicellulosiques majeurs dans le fruit de l'olivier [142].

Rosell et Svensson [143] ont déterminés la distribution des résidus 4-O-méthyle-D-acide glucuronique dans le xylane de bois de bouleau.

Il a été démontré par Kubačková *et al.* [144] que le glucuronoxyane de bois de saule a une répartition régulière des chaînes latérales d'acide glucuroniques, alors que le glucuronoxyane de séquoia a une distribution irrégulière [145].

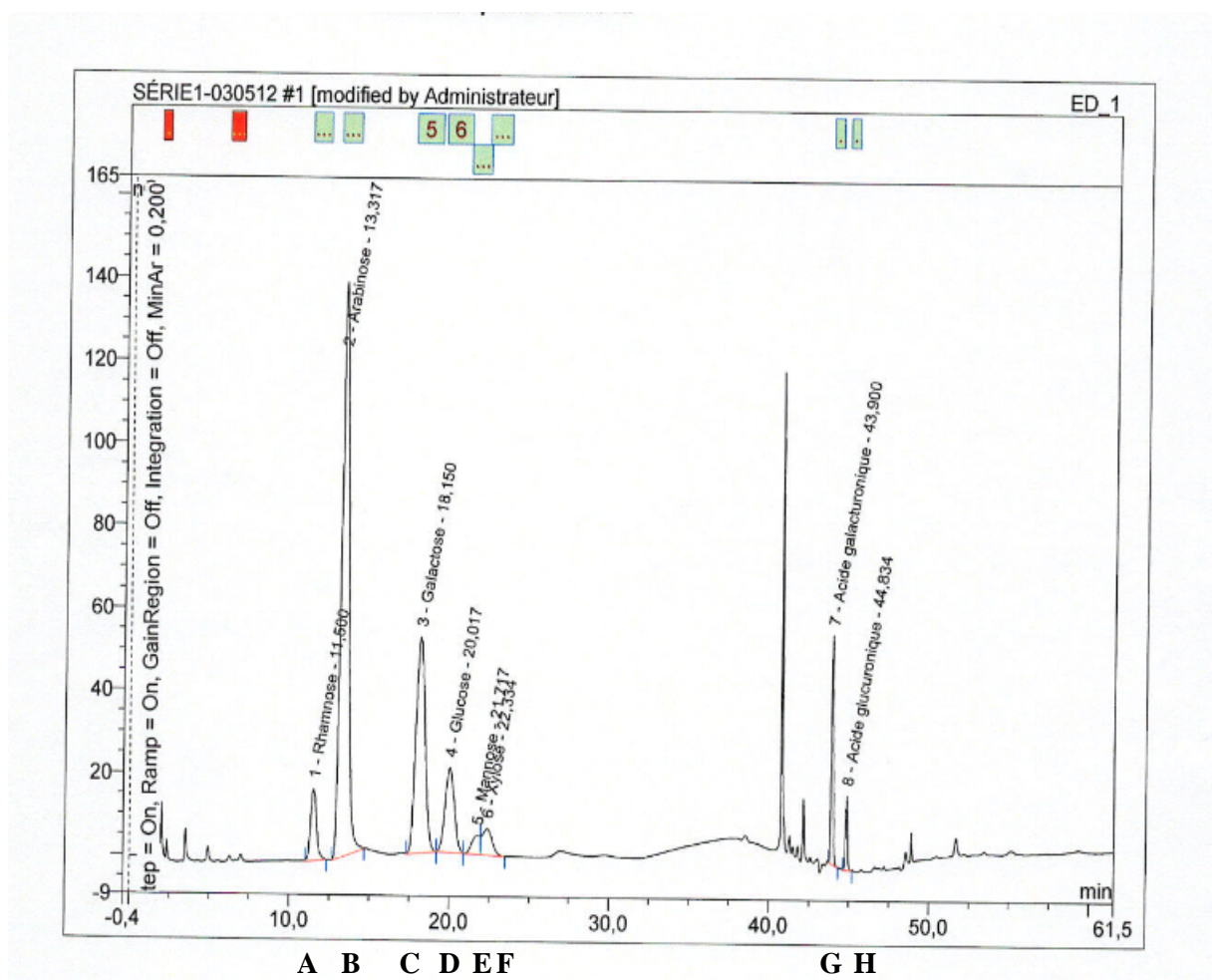
14.4% d'acide glucuronique a été détecté dans les hémicelluloses de précipité EtOH. L'acide glucuronique est présent dans plusieurs types d'hémicelluloses.

Notre précipité EtOH renferme les polysaccharides AG, RG -I et XG, ils représentent des produits de valorisation très intéressants.

De part ces résultats, nous constatons que le précipité éthanolique est constitué majoritairement de polysaccharides surtout pectique, les mêmes résultats ont été trouvés dans la figue de barbarie.

I. 5. 2. Les fractions solubles dans l'éthanol

I. 5. 2. 1. La fraction P2-F1



A = Rhamnose, B = Arabinose, C = Galactose, D = Glucose, E = Mannose, F = Xylose,
G = Acide galacturonique, H = Acide glucuronique.

Figure I. 4: Chromatogramme de la fraction P2-F1.

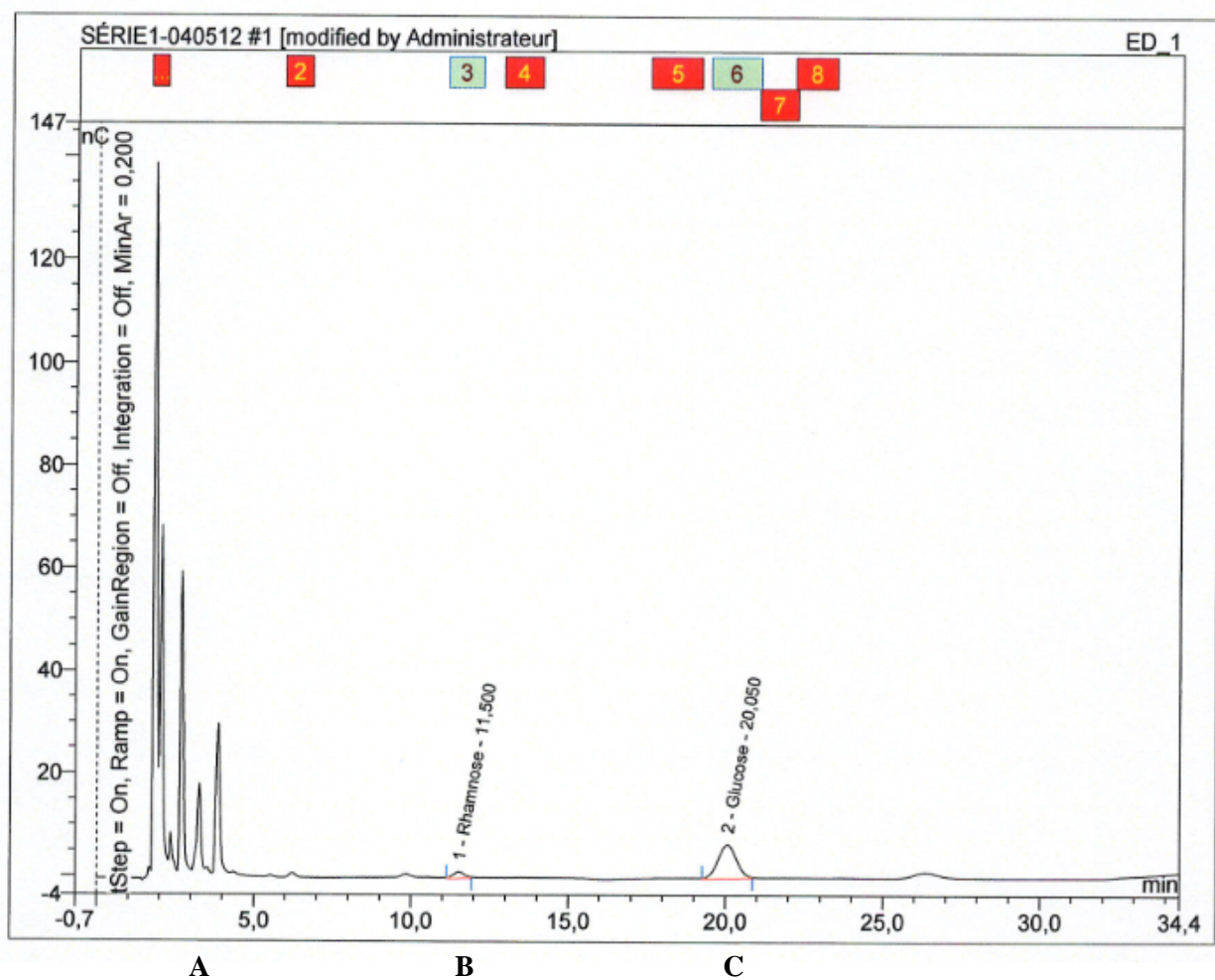
Tableau I. 9 : La composition^a en sucre de la fraction P2-F1.

Masse initial de P2-F1 (mg)	Composé	Quantité g/l	Masse d'ose (mg)	Facteur de dilution	%
2.9	Rhamnose	0.0099	0.099	10	3.4
2.9	Arabinose	0.0647	0.647	10	22.3
2.9	Galactose	0.0317	0.317	10	11
2.9	Glucose	0.0069	0.069	10	2.3
2.9	Mannose	0.0032	0.032	10	1.1
2.9	Xylose	0.0016	0.016	10	0.5
2.9	Acide galacturonique	0.0216	0.216	10	7.4
2.9	Acide glucuronique	0.0054	0.086	10	3
2.9	Sucres neutres	-	1.18	-	40.6
2.9	Acides uroniques	-	0.302	-	10.4

^a Les données ont été obtenues en utilisant une HPAEC-PAD.

On constate, d'après les résultats montrés dans le tableau I. 9, que chaque fraction se caractérise par la prédominance d'un ou deux oses. La fraction P2-F1 (figure I. 4, tableau I. 9) est constituée de 40.6% (p/p) sucres neutres, de 10.4% (p/p) d'acides uroniques, alors que dans la fraction P4-F3 (7P2) (Figure I.6), le pourcentage de sucres neutres était de 35.4%. La composition en monosaccharides relative de P2-F1 est de 22.3% d'arabinose, 11% de galactose, 7.4% d'acide galacturonique, 3.4% de rhamnose, 3% d'acide glucuronique, 2.3% de glucose, 1.1% de mannose et 0.5% de xylose. L'arabinose et le galactose étant les principaux sucres neutres dans cette fraction. La présence de ces deux oses suggère la possibilité d'existence d'un polysaccharide de type AG. La fraction extraite avec l'eau à température ambiante ou mucilage de l'*opuntia ficus-indica* contient aussi l'AG [75].

I. 5. 2. 2. La fraction P4-F3 (6P2)



A = Cyclitols, **B** = Rhamnose, **C** = Glucose.

Figure I. 5: Chromatogramme de la fraction P4-F3 (6P2).

Tableau I. 10 : La composition^a en sucre de la fraction P4-F3 (6P2).

Masse initial de	Composé	Quantité	Masse d'ose	Facteur de	%
P4-F3 (6P2)		g/l	(mg)	dilution	
10.4	Glucose	0.0023	0.23	100	2.2
10.4	Sucres neutres	-	0.23	-	2.2

^aLes données ont été obtenues en utilisant une HPAEC-PAD.

La fraction P4-F3 (6P2) (figure I. 5, tableau I. 10) contenait différents cyclitols qui sont des cycloalcanes hydroxylés dérivés par biosynthèse du glucose [146] (et/ou alditols) et 2.2% de glucose, la farine de caroube dénaturée améliorée contient aussi des cyclitols. Elle est destinée à l'alimentation humaine [147].

Les légumineuses (Fabacées) contiennent exceptionnellement une quantité élevée de cyclitols par rapport à la majorité des autres espèces végétales: dans certaines graines, ces sucres alcools peuvent atteindre jusqu'à 30% de la teneur totale en glucides solubles [148].

La poudre de caroube est fabriquée par broyage des gousses de caroube, est utilisée dans l'industrie alimentaire comme produit de remplacement de cacao. Elle contient les cyclitols et le glucose parmi les autres sucres [149].

Les herbiers marins contiennent souvent, en plus des oses solubles habituels présents dans les plantes comme le glucose, des quantités considérables de cyclitols [150-151].

Les cyclitols sont une charge polyvalente pour la production des produits pharmaceutiques [152].

La teneur en oses, et la saveur sucrée, augmentent au cours de la maturation, malgré la consommation d'une partie de ces oses par oxydation respiratoire. Ces oses proviennent de l'hydrolyse soit de l'amidon (banane, poire, pomme) dont les sucres majeurs dans le fruit sont le saccharose, le glucose et le fructose. Pour les fruits qui n'accumulent pas de l'amidon, par exemple, les raisins, les agrumes et les pêches, une quantité importante de saccharose est transportée dans le fruit pendant la maturation, plus tard, transformée partiellement en glucose et fructose [153]. Les hémicelluloses des parois cellulaires peuvent également subir ce phénomène.

Selon Fadda et Mulas [154], le myrte peut être un fruit non-climactérique qui est capable de stocker le sucre non réducteur en place de l'amidon.

I. 5. 2. 3. La fraction P4-F3 (7P2)

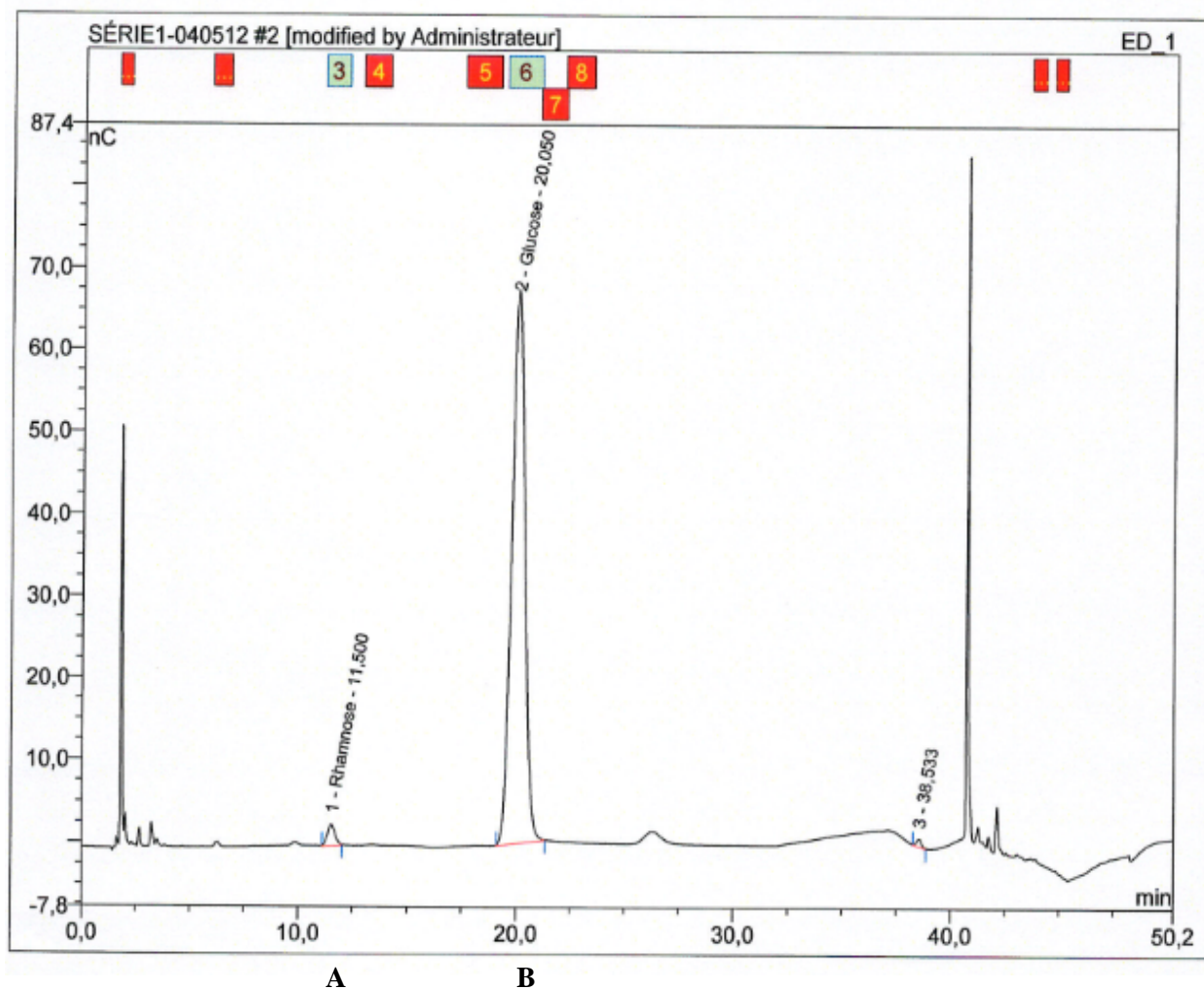


Figure I. 6: Chromatogramme de la fraction P4-F3 (7P2).

Tableau I. 11 : La composition^a en sucre de la fraction P4-F3 (7P2).

Masse initial de P4-F3 (7P2) (mg)	Composé	Quantité g/l	Masse d'ose (mg)	Facteur de dilution	%
2.9	Rhamnose	0.0007	0.028	40	1
2.9	Glucose	0.0235	1	40	34.4
2.9	Sucres neutres	-	0.97	-	35.4

^aLes données ont été obtenues en utilisant une HPAEC-PAD.

La fraction P4-F3 (7P2) (figure I. 6, tableau I. 11) contient 34.4% de glucose, le sucre neutre majeur, et 1% de rhamnose. Le rhamnose est utilisé en synthèse chimique pour produire des arômes fruités, ressemblant à ceux de la fraise et la framboise [155].

Le principe amer de la pulpe de fruit Palmyrah (*Borassus flabellifer* L) contient deux glucose et deux résidus rhamnose [156].

Ces deux oses sont aussi rencontrés chez une algue *Codiolum pusillum* [157].

L'étude par méthylation et oxydation périodique de l'oligosaccharide obtenu après hydrolyse partielle de polysaccharide mucilagineux des feuilles d'*Dalbergia sissoo* Roxb a révélée la présence d'un triaccharide constitué de deux unités non réductrices de glucose liées à un rhamnose [158]. *Dalbergia sissoo* Roxb, un arbre légumineux, se reproduit entièrement dans l'Himalaya (de l'Indus à l'Assam) : dans les vallées et en remontant jusqu'à environ 1500 m. On constate que malgré la différence de famille ainsi que l'habitat entre les fruits de *Myrtus communis* et les feuilles *Dalbergia sissoo* Roxb, il existe cependant une similitude dans la composition.

L'AG n'a été trouvée que dans la fraction P2-F1. Le glucose est le sucre neutre le plus abondant dans la fraction P4-F3 (7P2). Ceci est similaire aux myrtilles (*Vaccinium myrtillus* L.) [159] et murta AIS [91]. Le glucose est un sucre rapide qui existe dans les fruits (raisin et fruits à noyau) [160].

La phase III correspondant à la maturation des baies de raisin s'accompagne d'une accumulation de métabolites sucres (glucose, fructose) jusqu'à 300 g L⁻¹), d'une

diminution des acides organiques, donc de l'acidité, d'une synthèse des anthocyanes glycosylées et acylées ainsi que de précurseurs d'arômes (liés et libres) [161-162].

La composition globale en sucres neutres et acides de précipité EtOH et des fractions solubles dans l'éthanol (P2-F1, P4-F3 (6P2), P4-F3 (7P2)) est rassemblée dans le tableau récapitulatif I. 12.

Tableau I. 12: La composition en sucre de précipité EtOH isolé et des fractions obtenues après séparation par CES.

Composé (% P/P)	Précipité EtOH	P2-F1	P4-F3 (6P2)	P4-F3 (7P2)
SN	12.3	40.6	2.2	35.4
AU	28.8	10.4	-	-
Rha	1.6	3.4	-	1
Ara	5	22.3	-	-
Gal	3	11	-	-
Glu	2.2	2.3	2.2	34.4
Man	0.3	1.1	-	-
Xyl	0.1	0.5	-	-
GalA	14.4	7.4	-	-
GluA	14.4	3	-	-

^a Les données ont été obtenues en utilisant une HPAEC-PAD.

I. 6. Analyse par spectroscopie RMN

La spectroscopie RMN est une technique qui s'est imposée ces vingt dernières années comme la technique indispensable pour étudier, caractériser et déterminer la structure chimique des polysaccharides [79]. C'est également possible dans le cas des polysaccharides pectiques, que ce soit pour caractériser les unités acide galacturonique et rhamnose du squelette ou encore pour caractériser les chaînes latérales d'arabinanes, galactanes ou arabinogalactanes [163-164-165-166-167-168]. En ce qui nous concerne nous avons également fait le choix de caractériser la structure primaire des polysaccharides du myrte, à l'aide de la RMN de proton et du carbone 13.

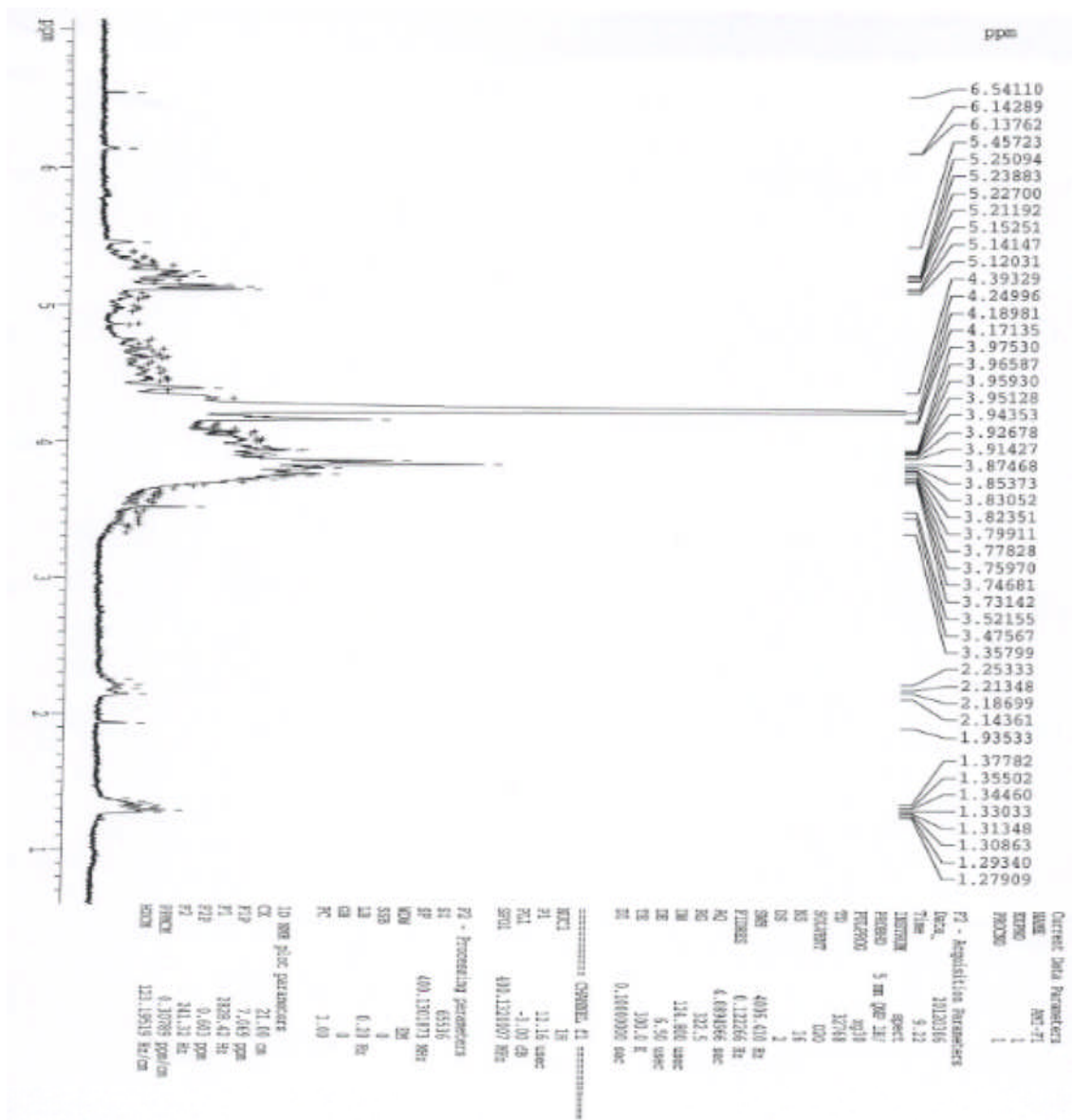


Figure I. 7: Spectre RMN¹H de la fraction P2-F1.

Le spectre RMN ^1H de P2-F1 (Figure I. 7) est typique des positions de résonance d'hydrogènes d'unités osidiques et de substituants non glucidiques d'un polysaccharide.

Pour faciliter la lecture le signal de l'eau résiduelle (HOD) est déplacé par chauffage à 80 °C à une position intermédiaire entre les protons anomériques et ceux du squelette (H_2 , H_3 , H_4 , H_5 et H_6) d'un hexose, par exemple.

Nous pouvons ainsi distinguer l'intervalle [1-3.5 ppm], où nous notons la présence de protons de H_6 des 6-deoxy-hexoses à $\delta = 1.3$ ppm et d'un groupement acétyle à $\delta = 2.2$ ppm.

L'intervalle allant de 3.5 à 4.5 ppm correspond à la résonance des protons H_2 à H_6 d'un hexopyranose. La position du signal à $\delta = 4.5$ ppm peut être attribuée à un proton anomérique H_1 axial d'une liaison β ou à un H_5 des acides uroniques ou aux protons H_2 et H_3 des formes furaniques.

Dans la région des protons anomériques, nous notons la présence de signaux intenses dans l'intervalle 5.12 à 5.45 ppm. D'une façon générale les protons des H_1 équatoriaux de liaisons α résonnent entre 5.3 et 5.8. Selon Jones et Mulloy [169], une préparation de polysaccharide renferme toujours des substances contaminantes tels que l'éthanol ($\delta = 1.15$ ppm) ou des débris de paroi cellulaire ($\delta = 1.25$; 1.3; 2.1; 3.2; 3.35; 4.6; 4.95; 5.2).

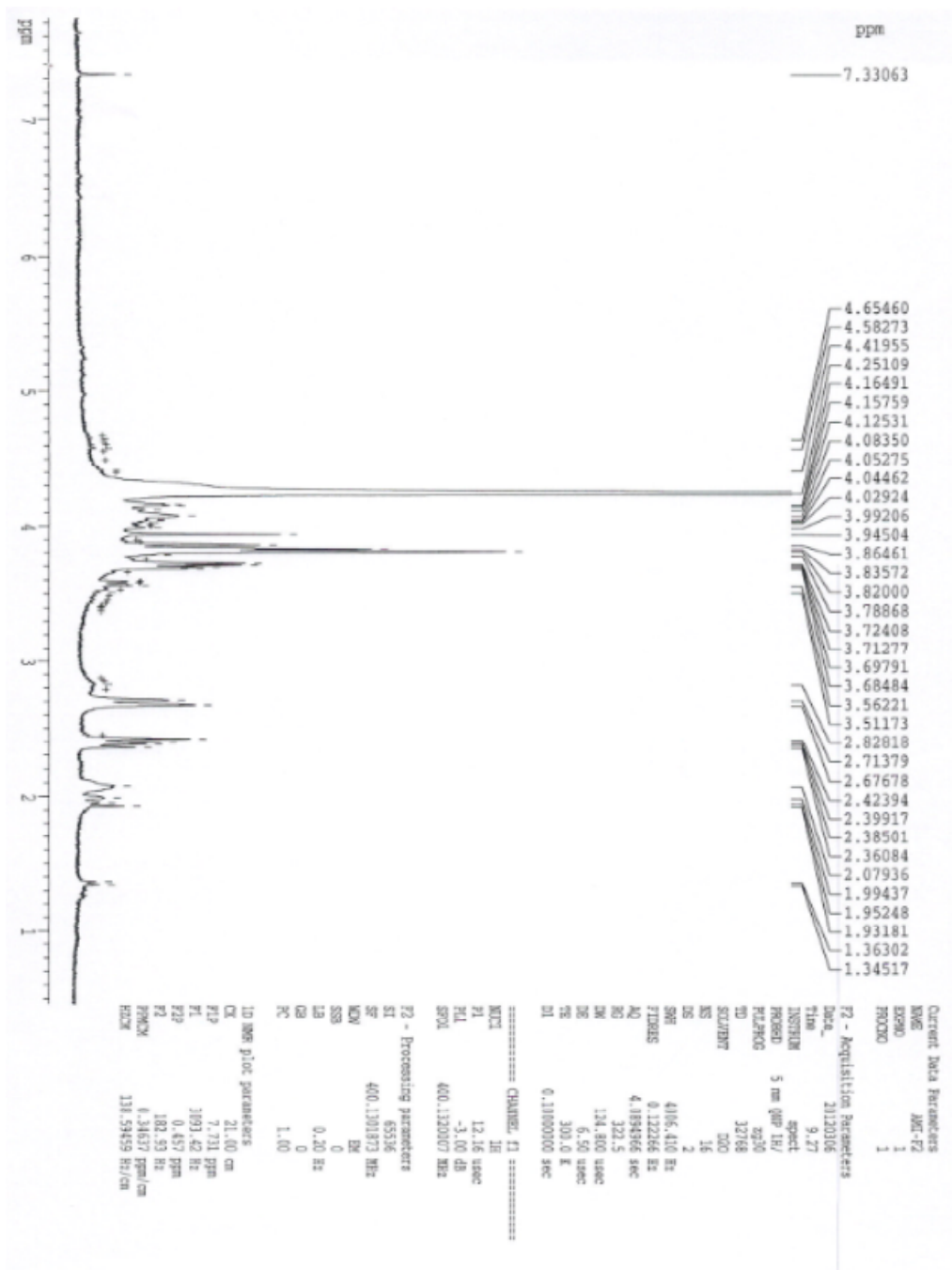


Figure I. 8: Spectre RMN ^1H de la fraction P2-F2.

Le spectre RMN-¹H de la fraction P2-F2 est illustré sur la figure I. 8. Nous notons la présence de métabolites primaires, plus particulièrement des acides organiques.

Nadkarni [21] a signalé que les baies de myrte contiennent l'acide citrique et l'acide malique. En effet, les doublets (d) à $\delta = 2.42$ ppm ($\frac{1}{2}$ (C₂H₂+C₄H₂)) et à $\delta = 2.71$ ppm (d, $\frac{1}{2}$ (C₂H₂C₄H₂)) indiquent la présence de l'aide citrique (HOOC-CH₂-COHCOOH-CH₂-COOH). La position des signaux à $\delta = 2.67$ ppm (dd, C₃Ha) et à $\delta = 2.82$ ppm (dd, C₃Hb) ainsi qu'à $\delta = 4.34$ ppm (dd, C₂H; absent sur le spectre à cause des conditions d'enregistrement) montre la présence de l'acide malique [170].

La maturation entraîne, en général, une baisse de l'acidité; ainsi le rapport sucres/acides s'élève au cours de la maturation de la plupart des fruits [114]. Fadda et Mulas [154] ont rapportés la composition chimique des fruits appartenant à des cultivars de myrte 'Barbara' et 'Daniela' au cours du développement de la baie. L'acidité diminue au cours de la maturation, avec des différences significatives en raison de la variété et année d'observation.

On retrouve l'acide malique et l'acide citrique dans tous les fruits, ces acides étant synthétisés au cours des phénomènes respiratoires lors de la croissance herbacée de la plante [171].

L'acidité des fruits est un facteur important pour la saveur et pour l'aptitude à la gélification des confitures. L'acide malique est prédominant dans les pommes, cerises, prunes, poires et les fruits à noyau, il est également largement présent dans les légumes et c'est un inhibiteur puissant de la croissance des levures et des bactéries.

L'acide malique est plus efficace que l'acide acétique dans l'inhibition de la croissance de bactéries thermophiles [22], tandis que l'acide citrique, est le plus abondant dans les baies, les agrumes (oranges, citrons, pamplemousses) et les fruits tropicaux (framboise, cassis, figue, ananas) [22-160-172].

L'acide citrique est, en fait, l'un des acides organiques les plus couramment utilisés dans les aliments ainsi que les industries pharmaceutiques. Il a aussi un rôle important dans le traitement des métaux et les industries chimiques [22].

Un acide faible en solution met en place l'équilibre: $AH + H_2O \rightleftharpoons A^- + H_3O^+$, où un ion hydronium est formé en même temps que l'ion négatif (anion) à partir de l'acide. Les acides organiques sont faibles dans la mesure où cette ionisation est très incomplète, et à un moment donné, la plupart des acides sont présents sous forme de

molécules non-ionisées. La quantité d'acide non dissocié diminue à mesure que la valeur du pH augmente [22].

A pH neutre, de nombreux acides organiques sont complètement dissociés. Ces molécules ne seront pas réellement actives contre les micro-organismes et peuvent même constituer une source potentielle de carbone.

Il est important de noter qu'à l'échelle industrielle, la production d'acide citrique s'effectue à l'aide de moisissures. On utilise des solutions de 10 à 15%, en glucides issues de déchets de végétaux, tels que les lessives sulfiteuses ou les mélasses de betterave à sucre exemptes de Fer [173].

La couleur de la fraction, et le pic à 7.3 ppm (Figure I. 8) suggèrent la présence d'anthocyanes. Selon Traveset *et al.* [174], la couleur du fruit de myrte a été adoptée comme critère visuelle de maturation. En fait, les baies ellipsoïdales passent du vert (à jaune pâle et enfin, dans la morphologie commune, bleu foncé quand elles sont complètement mûres.

Les anthocyanes sont les polyphénols les plus étudiés (pigments dont les baies de fruits sont riches): myrtilles, cassis, mûre, cerise, griotte et framboise rouge. Ces concepts révèlent une activité anti-inflammatoire similaire à celle de l'ibuprofène ou de l'aspirine [175].

Les anthocyanes sont présents notamment dans la pellicule des raisins rouges. Ce sont eux qui donnent leur couleur aux jus de raisin et aux vins rouges. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits. Les fleurs et les feuilles sont les seuls éléments du règne végétal, capables de produire une vaste gamme de couleurs [176].

Le pH est un facteur important dans le changement de couleur des anthocyanes. Ce sont des pigments rouges en milieu acide, et bleu en milieu basique : ils sont très répandus dans les fleurs et les fruits [177].

À des pH inférieurs à 2, l'anthocyane est principalement rouge ($R_1=O$ -sucre) ou jaune ($R_1=H$) du cation flavylum (AH^+). Lorsque le pH est augmenté une perte de proton rapide se produit pour donner les formes quinoïde rouges ou bleues.

Montoro *et al.* [26] ont identifié et quantifié huit anthocyanes dont trois sont des constituants majoritaires: la delphinidine-3-*O*-glucoside, la pétunidine-3-*O*-glucoside et la malvidine-3-*O*-glucoside. A des teneurs plus faibles, ils ont également mis en évidence la présence de cyanidine-3-*O*-glucoside, paéonidine-3-*O*-glucoside, de

delphinidine-3-*O*-arabinoside, de pétunidine-3-*O*-arabinoside, de malvidine-3-*O*-arabinoside chez les baies de *Myrtus communis*.

Leurs travaux ont permis de suivre l'évolution mensuelle des teneurs en anthocyanes dans les extraits conservés à l'abri de la lumière pendant une année. De la sorte, ils ont pu montrer que les concentrations des anthocyanes diminuent rapidement à partir de quatre mois jusqu'à s'annuler après six mois de conservation.

Par ailleurs, dans la phase II de croissance des baies de raisin, la véraison, se caractérise par une perte de la chlorophylle des baies, une accumulation de pigments épidermiques (anthocyanes et flavonols), de sucres (glucose, fructose), de précurseurs aromatiques synthétisés et une diminution de l'acidité [161-162].

La transition de la couleur du vert au noir bleu pendant la maturation des fruits du myrte est le résultat de la diminution de chlorophylle dans les chloroplastes des cellules ultrapériphériques et le développement des anthocyanes [178].

Les baies de *Vaccinium padifolium* qui appartiennent à la famille des Ericaceae, contiennent des anthocyanes y compris ceux rencontrés chez le myrte, la delphinidine-3-*O*-glucoside, la pétunidine-3-*O*-glucoside, la cyanidine-3-*O*-glucoside, paéonidine-3-*O*-glucoside, de delphinidine-3-*O*-arabinoside, pétunidine-3-*O*-arabinoside, malvidine-3-*O*-arabinoside, paéonidine-3-*O*-arabinoside. Ils sont présents à des teneurs presque comme le myrte sauf pour la cyanidine-3-*O*-glucoside qui est élevée dans le myrte et la delphinidine-3-*O*-arabinoside qui est y faible. On constate que malgré la différence de famille et d'espèce, *myrtus communis* et *Vaccinium padifolium* présentent des composés en commun [179].

A l'échelle industrielle, les anthocyanes ont été extraits de diverses sources végétales et matières résiduelles, notamment de la peau du raisin, pour produire des colorants alimentaires autorisés, des nutraceutiques et des médicaments [180].

La peau de baie de raisin des espèces suivants: *Vitis spp.*: *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon, *Vitis amurensis* Rupr., *Vitis cinerea* (Engelm.) Millardet et *Vitis X champinii* Planch., contiennent des anthocyanes y compris les anthocyanes monoglucoside qui sont: la delphinidine-3-*O*-glucoside, la pétunidine-3-*O*-glucoside, la cyanidine-3-*O*-glucoside, la paéonidine-3-*O*-glucoside [181].

Le fruit de Mulberry change de couleur du vert au noir-violet et enfin au rouge à maturité. Ce fruit contient aussi des anthocyanes, des sucres, des acides organiques [180].

Il existe une présence probable d'oligosaccharides dans la fraction P2-F2, étant donné que la fraction P2-F1 est riche en sucre et que la séparation entre les deux fractions n'est pas clairement définie. Le fruit de la myrtille est riche aussi en oligosaccharides [182-183].

La pulpe rouge et blanche de pitayas (*Hylocereus undatus* (Haw.)) ou fruit du dragon contient aussi des oligosaccharides, de même que le fruit de longane [184-185].

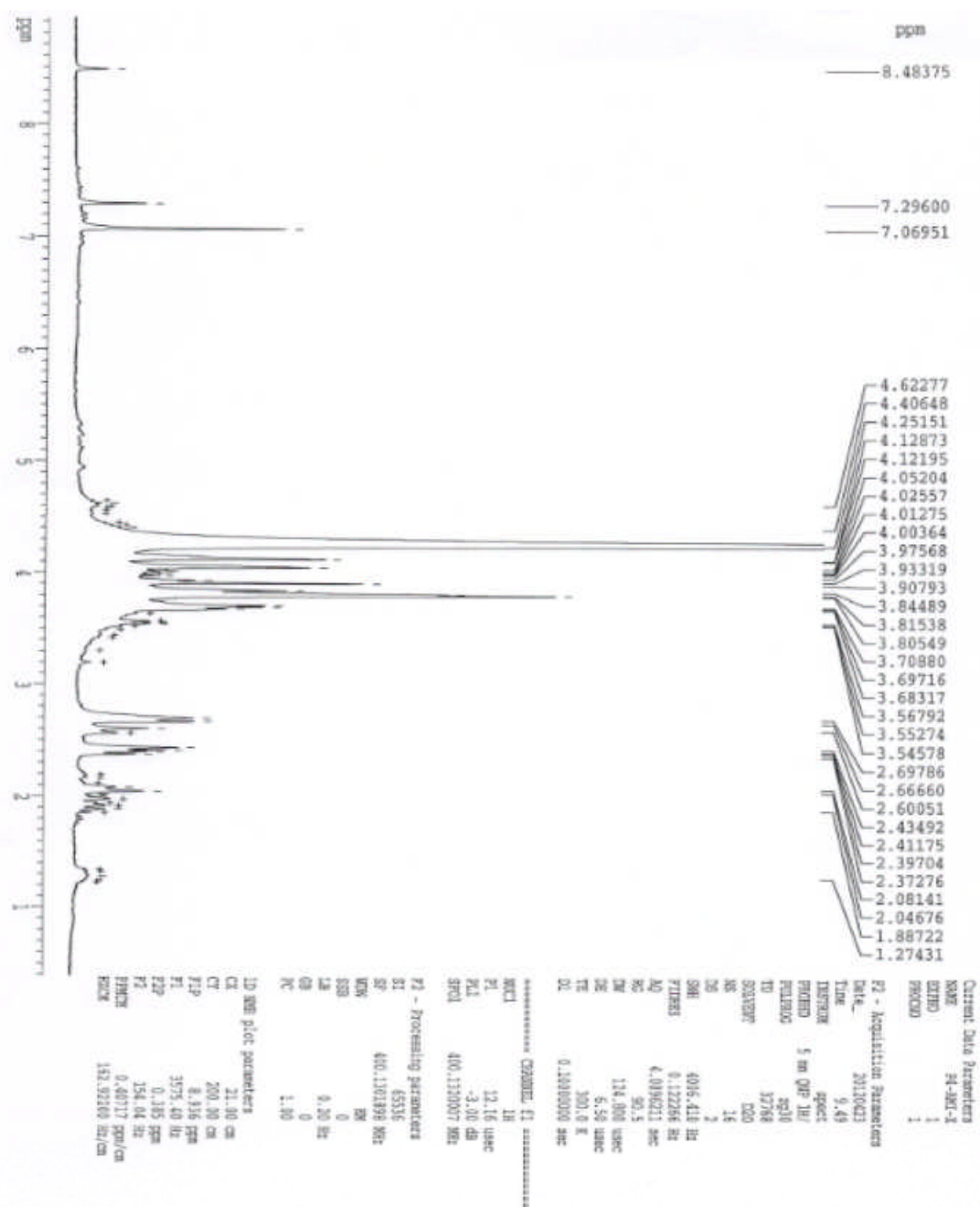


Figure I. 9: Spectre RMN ¹H de la fraction P4-F2.

La fraction P4-F2 contient aussi des anthocyanes (Figure I. 9), en effet l'intervalle compris entre δ : 4.0-5.5 ppm est considéré comme étant la région des protons anomériques de glucides et la région restante, c'est-à-dire, δ : 5.5-8.5 ppm est bien connue et correspond à la région phénolique. Les baies de myrte sont signalées pour contenir les anthocyanosides glucosides et les anthocyanosides arabinosides [26]. La peau de fruits de pitaya (*Hylocereus undatus* (Haw.)) blanchie contient des anthocyanes [186].

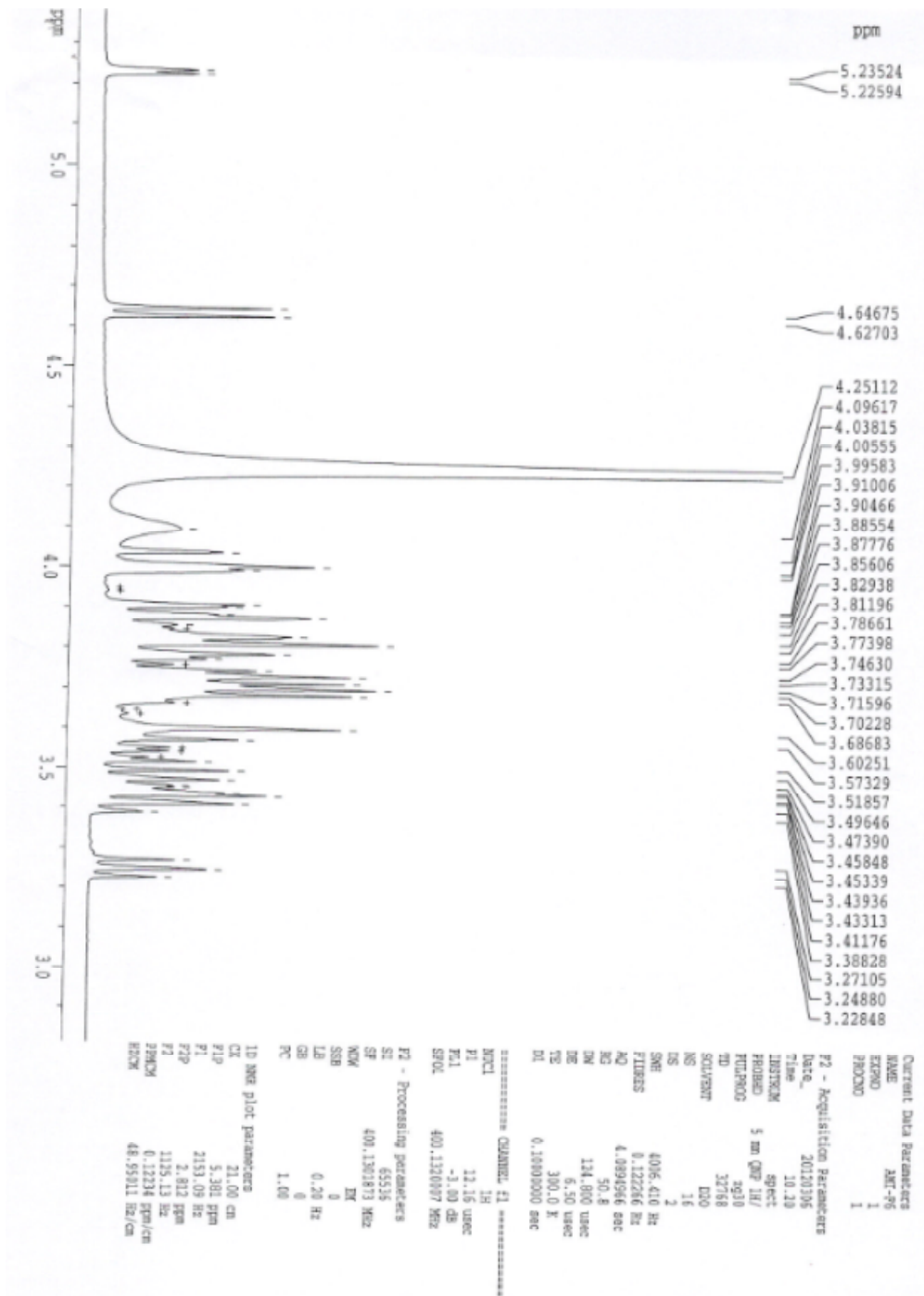


Figure I. 10: Spectre RMN ^1H de la fraction P2-F6.

Le spectre RMN-¹H de la fraction P2-F6 correspond à celui du glucose (données montrées dans la figure I. 10). La région anomérique montre des signaux des protons H₁ de l'α-glucose δ = 5.32 ppm et du β-glucose δ = 4.62 ppm. Les fractions P4-F4 à F6-P4 contiennent également du glucose (confirmé par RMN ¹H).

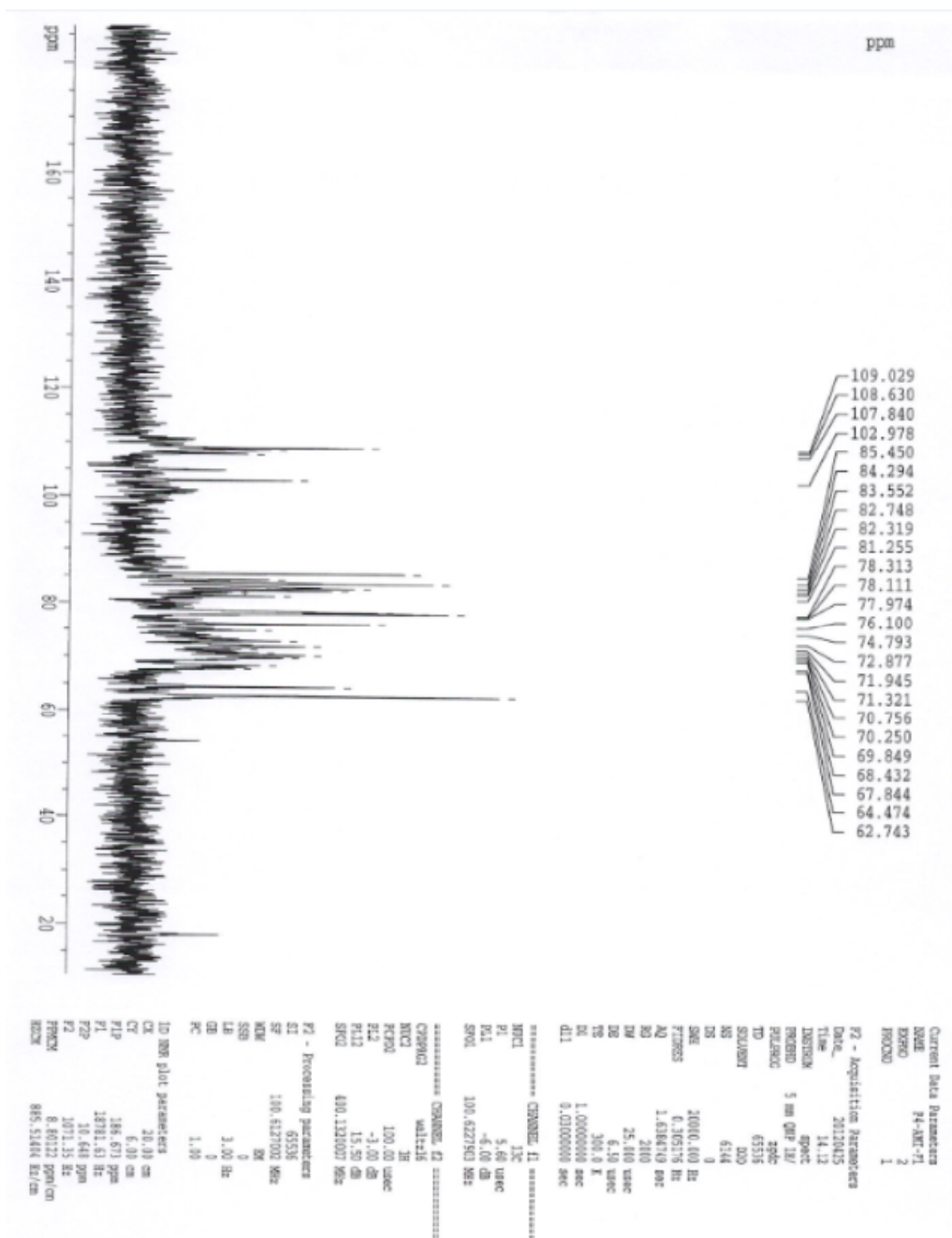


Figure I. 11: Spectre RMN ^{13}C de la fraction P4-F1.

Le spectre RMN ^{13}C à 100.612 MHz du polysaccharide AG (fraction P4-F1) est représenté sur la figure I. 11.

L'attribution des pics a été effectuée selon la méthode de Cipriani *et al.* [187] pour l'élucidation de la structure primaire de l'arabinogalactane extrait de *Maytenus ilicifolia*.

Une similitude est observée entre les arabinogalactanes des deux plantes, en particulier dans la région des carbones anomériques où on note la présence de nombreux signaux correspondant aux C_1 de résidus glucidiques (δ 110-101 ppm). La présence du CH_3 -6 des unités rhamnosyl est indiquée par le signal à δ 17.0 ppm. Les signaux à δ 109.3, 107.6, 107.1 et 106.5 correspondent au C_1 des unités α -arabinofuranosyl. A leur tour les signaux à δ 103 et 104.3 proviennent des C_1 des unités β -galactopyranosyl et ceux δ 101.7 et 101.5 sont dus à l' α -rhamnopyranosyl ainsi que le β -rhamnopyranosyl respectivement. Cette arabinogalactane est constitué donc d'une chaîne principale du β -D-galactopyranose dont les monomères sont liés entre eux par des liaisons β (1 \rightarrow 4) et comportant une chaîne latérale d'arabane complexe. Cette chaîne latérale est fixée sur l'hydroxyle du carbone 6 (δ 67.5 ppm) d'un résidu du galactose de la chaîne principale. Il est intéressant de noter que ce signal (δ 67.5 ppm) est absent de l'arabinogalactane de la pelure d'*Opuntia ficus-indica* [188] qui porte plutôt une ramification en C-3.

L'arabinogalactane de *M. communis* est probablement lié à un rhamnogalacturonane par l'intermédiaire d'un C-4 de certaines unités rhamnosyl. Bien que ce polysaccharide renferme un groupe méthoxyle (δ 54.0 ppm), aucun signal n'est observé pour les groupes carboxyles. Ceci est dû aux conditions d'enregistrements du spectre.

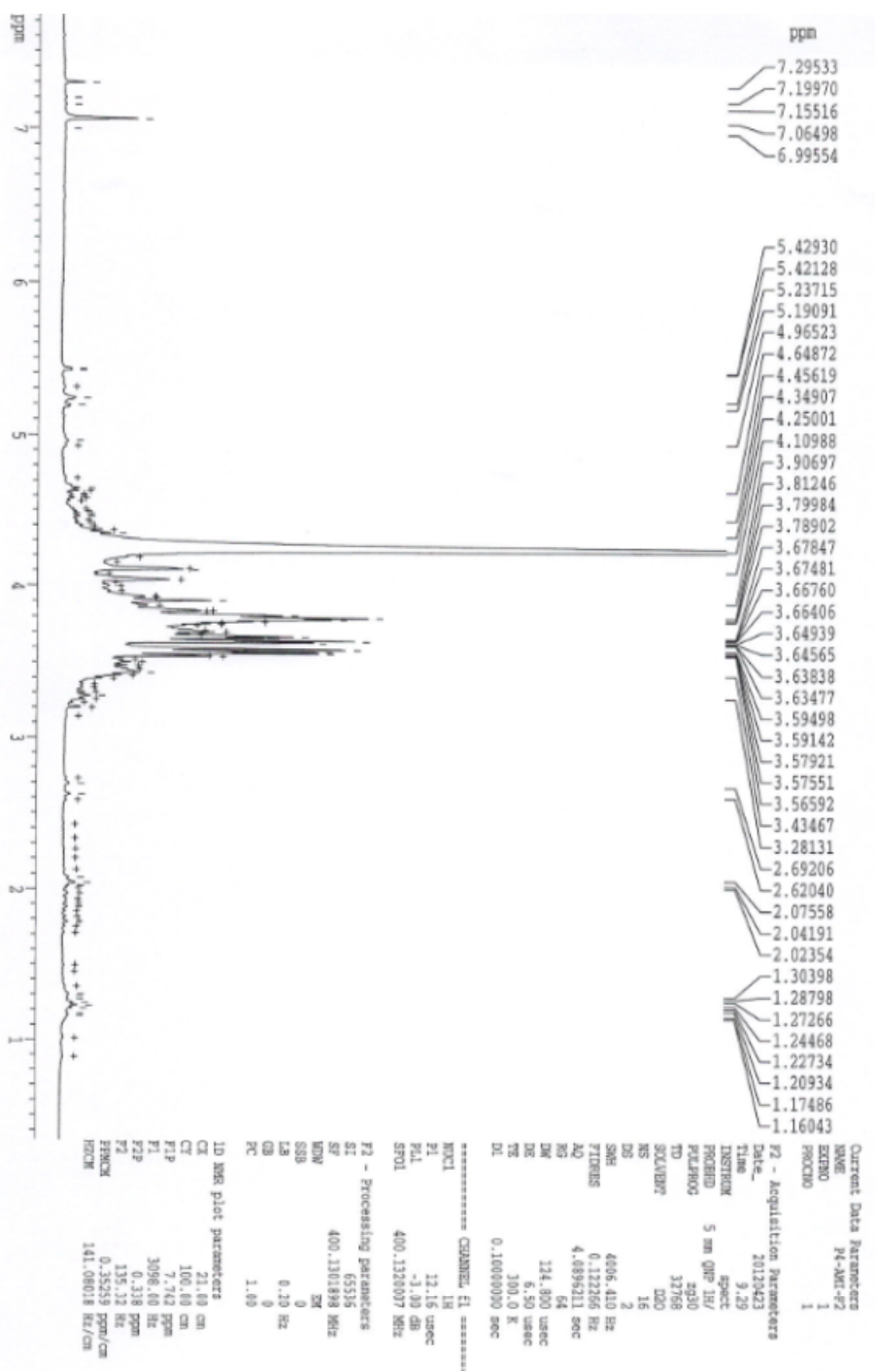


Figure I. 12: RMN ^{13}C de la fraction P4-F3.

La figure I.12 montre le spectre RMN ^{13}C de la fraction P4-F3. Sur la base des données disponibles dans la littérature [189-190], la présence de $\alpha\text{-D-Glcp}$ a été confirmé par la présence de signaux caractéristiques dans le spectre RMN ^{13}C 93.54 (C-1), 72.98 (C-2), 73.85 (C-3), 70.95 (C-4), 72.46 (C-5) et 62.18 (C-6) ppm. Cette fraction contient les composés isolés dans P2-F3 (Figure I. 13), F4 et F5 (confirmé par RMN ^1H), correspondant à des oligosaccharides pour les deux premières fractions, cyclitols et glucose pour la dernière fraction. Les graines de *Caesalpinia echinata* contiennent le glucose et les cyclitols [191].

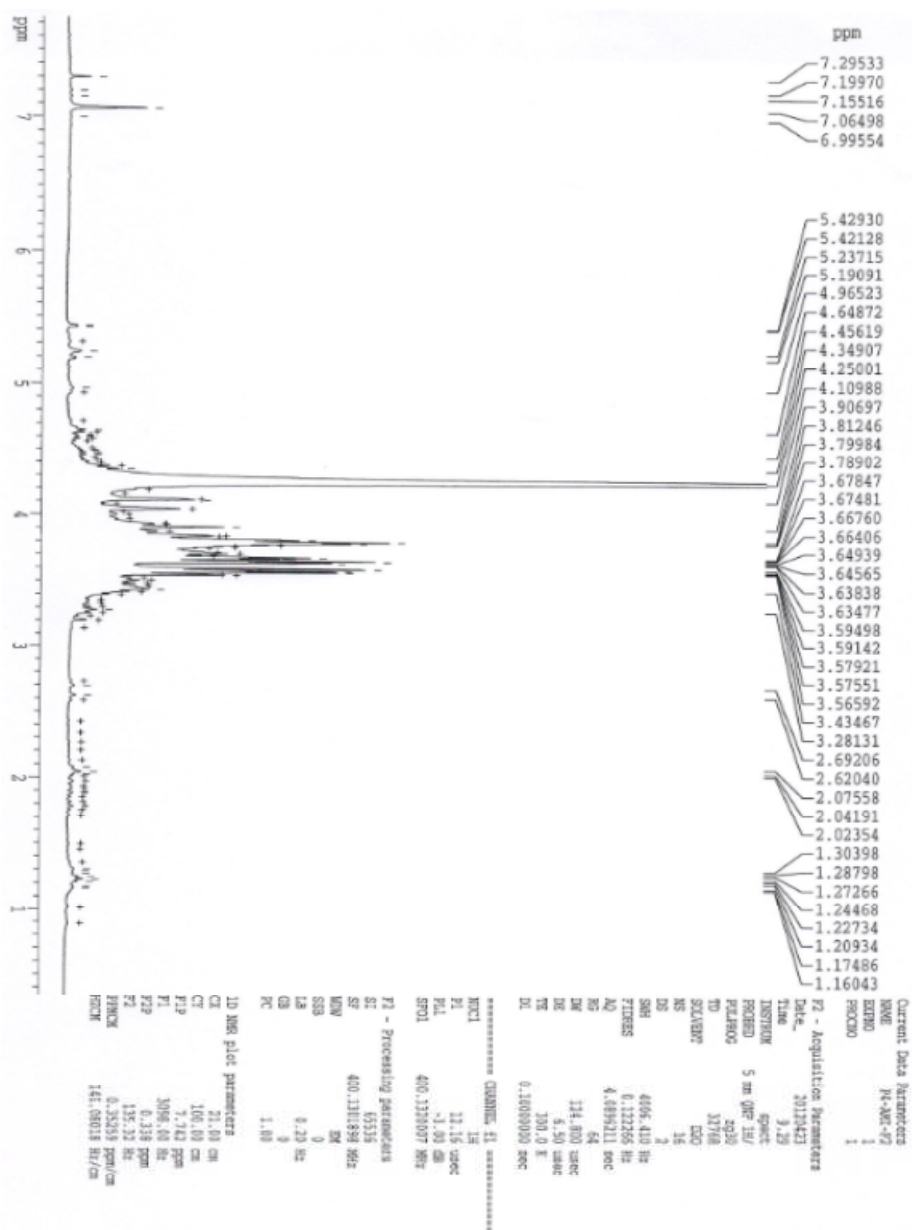


Figure I. 13: spectre RMN ^1H de la fraction P2-F3.

Conclusion et perspectives

Les protocoles simples d'extraction et de séparation sur Biogels suivis d'analyses par HPAEC-PAD, RMN-¹H et RMN-¹³C ont permis le fractionnement et l'identification de toutes les substances hydrosolubles du fruit de *M. communis*.

-L'insoluble éthanolique renferme trois types de polysaccharides : les pectines, l'arabinogalactane et le xyloglucane.

-La phase soluble dans l'éthanol contient diverses substances : glucose, oligosaccharides, anthocyanes, acide malique, acide citrique.

Le squelette de toutes les substances pectiques est formé par des résidus acide galacturonique liés α (1 \rightarrow 4).

L'intérêt majeur des pectines est leur valorisation potentielle en tant que gélifiant, épaississant ou stabilisant dans l'industrie alimentaire. A l'échelle industrielle, elles sont obtenues par extraction en condition acide à partir des pulpes de betteraves, marcs de pommes et d'agrumes. Ce sont seulement ces pectines qu'on rencontre sur le marché des polymères.

Les arabinogalactanes de *M. communis* ont un squelette de résidus D-galactose liés β (1 \rightarrow 4). Cette chaîne principale porte des arabinanes en position O-6. Ce polyside est associé à d'autres substances pectiques. Les arabinogalactanes peuvent être isolées et utilisées dans des applications variées en fonction de leurs divers caractéristiques.

Le xyloglucane est une hémicellulose apparemment typique des parois primaires de dicotylédones. Ce polysaccharide présente un squelette de base constitué d'un enchaînement de restes de D-glucopyranose joints par liaison β (1 \rightarrow 4), sur lequel sont fixés latéralement des restes de D-xylopyranoses attachés au C-6 du glucose par liaisons α (1 \rightarrow 6). Ses débouchés sont principalement la fabrication de sirops de xylose, la synthèse de xylitol et de xylooligosaccharides.

Dans la phase éthanolique (70%), les oligosaccharides et les anthocyanes peuvent présenter un intérêt pour les industries agro-alimentaires et pharmaceutiques. Il serait intéressant d'isoler des quantités suffisantes pour l'élucidation de la structure primaire des oligosaccharides présents.

Les anthocyanes sont des glycosides phénoliques en C₁₅.

Ce sont généralement des substances colorés très répandus chez les végétaux et sont connues sous le nom de flavonoïdes. Actuellement, ces substances suscitent un intérêt croissant pour leur utilisation en pathologie humaine.

Toutefois la valorisation possible de ces biopolymères et molécules reste conditionnée par l'installation d'unités de production de denrées alimentaires (jus, boisson gazeuse) à partir de ce fruit.

Références bibliographiques

1. Keegstra, K., Talmadge, K.W., Bauer, W. D., & Albersheim, P. (1973). The structure of plant cell walls. III. A model of the walls of suspension-cultured sycamore cells based on the interconnections of the macromolecular components. *Plant Physiology*, 51, 188-196.
2. Huang, S-Q., & Ning, Z-X. (2010). Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47, 336-341.
3. Churms, S. C. (1996). Recent progress in carbohydrate separation by high performance liquid chromatography based on size exclusion. *Journal of Chromatography A*, 720, 151-166.
4. Lina, L., Ping, Z., Yaqi, C., & Shifen, M. (2006). High-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection for simultaneous determination of monosaccharides and uronic acids. Chinese. *Journal of Analytical Chemistry*, 34, 1371-1374.
5. Wang, C. C., Chang, S. C., Inbaraj, S. B., & Chen, B. H. (2010). Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 120, 184-192.
6. Wang, Q., & Fang, Y. (2004). Analysis of sugars in traditional Chinese drugs. *Journal of Chromatography B*, 812, 309-324.
7. Bock, K., & Pedersen, C. (1983). Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of monosaccharides. In R. S. Tipson, & D. Horton (Eds.), *Advances in carbohydrates chemistry and biochemistry* (Vol. 41; pp. 27-45). New York: Academic Press Inc.
8. Boullard, B. (1988). *Dictionnaire de Botanique*. Marketing. 398 p.
9. Guignard, J.L. (1993). *Abrégé de botanique*. Masson. 274 p.
10. APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161, 105-121.

11. Soltis, D. ., Smith, S. A., Cellinese, N., Wirdack, K. J., Tank, D. C., Brockington, S. F., et al. (2011). Angiosperm phylogeny: 17 genes, 640 taxa. *American Journal of Botany*, 98, 704-730.
12. Goetz, P., Ghedira, K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. France, Paris: Springer-Verlag. Pp. 313-318.
13. Migliore, J. (2011). *Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre Myrtus en méditerranée et au sahara*. Thèse de doctorat, Université paul cézanne d'Aix-Marseille III. Pp.66-117.
14. Tuberoso, C. I. G., Rosa, A., Dessì, M. A et al. (2010) Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chemistry*, 123,1242-51.
15. Kaddem, S-E. (1990). *Les plantes médicinales en Algérie*. Paris: Le monde pharmaciens. 113 p.
16. Rameau, J. C., Mansion, D., Dume, G. & Gauberville, C. (2008). *Flore forestière française. Guide écologique illustré. Région méditerranéenne* (Vol. 3) Paris: Institut pour le développement forestier. 771 p.
17. Amigues, S. (2010). *Théophraste. Recherches sur les plantes à l'origine de la botanique*. Belin: Paris. 432 p.
18. Rosalino, L. M., Rosa, S., & Santos-Reis, M. (2010). The role of carnivores as Mediterranean seed dispersers. *Annales of Zoologici Fennici*, 47, 195-205.
19. Khadidja, K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister, Université Aboubekr Belkaid: Tlemcen. 48 p.
20. Grigoraş, C. G. (2012). *Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs*. Thèse en cotutelle internationale, Université d'Orléans et de l'Université « Vasile Alecsandri » de Bacău. 41 p.
21. Nadkarni, K. M. (1989) (3rd ed.). *Indian materia medica* (Vol. 1) Bombay, India: Popular Prakashan. 838 p.
22. Theron, M. M., & Rykers Lues, J. F. (2011). *Organic acids and food preservation*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group. Pp. 29-127.

23. Wannes, A.W., Mhamdi, B., & Marzouk, B. (2009). Variations in essential oil and fatty acid composition during *Myrtus communis* var. *italica* fruit maturation. *Food Chemistry*, *112*, 621-6.
24. Serce, S., Ercisli, S., Sengul, M., Gunduz, K., & Orhan, E. (2010). Antioxidant activities and fatty acid composition of wild grown myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits. *Pharmacognosy Magazine*, *6*, 9-12.
25. Raisonnier, A. (2010). *Structures Biologiques*. Université Pierre et Marie Curie. Pp. 52-5
26. Montoro, P., Tuberoso, C. I. G., Piacente, S., Perrone, A., De Feo, V., & Cabras, P. (2006). Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *41*, 1614-1619.
27. Wannes, A.W., & Marzouk, B. (2013). Differences between myrtle fruit parts (*Myrtus communis* var. *italica*) in phenolics and antioxidant contents. *Journal of Food Biochemistry*, *37*, 585–594.
28. Beloued, A. (2003). *Plantes médicinales d'Algérie*. Alger: Office des Publications Universitaires. 227 p.
29. Boukef, M. K. (1986). *Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne*. Paris : Agence de coopération culturelle et technique. 320 p.
30. Bellakhdar, J. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Paris: Ibis Press. 764 p.
31. Sumbul, S., Aftab Ahmad, M., Asif, M., & Akhtar, M. (2011). *Myrtus communis* Linn. - A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, *2*, 395-402.
32. Mulas, M., Francesconi, A.H.D., Perinu, B., & Fadda, A. (2002). 'Barbara' and 'Daniela': Two Cultivars for Myrtle Berries Production. *Acta Horticulturae*, *576*, 169-175.
33. Couplan, F. (2009). *Le régal végétal: Plantes sauvages comestibles*. Edition sang de la terre. 189 p.
34. Sarl, T. (2007). *La boutique en corse, les plantes adaptées aux jardins et espaces verts varois*. France: régis rostein. Pp. 4-8.

35. Mulas, M., Francesconi, A. H. D., & Perinu, B. (2002). Myrtle (*Myrtus communis* L.) as a new aromatic crop: cultivar selection. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9, 127–131.
36. Aydýn, C., & Özcan, M. M. (2007). Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 79, 453-458.
37. Couverchel, F-J. (1839). *Traité des fruits tant indigènes qu'exotiques, ou dictionnaire carpologique*. Paris, ville de Lyon: Imprimerie et librairie de Bouchard-Huzard. 619 p.
38. Lehninger, A. L. (1994) (2^{ème} ed). *Principes de Biochimie*. Paris: Flammarion Medecine-Sciences. Pp. 245-270.
39. Aouadi, S., Heyraud, A., Seigle-Murandi, F., Steiman, R., Kraus, J., & Franz, G. (1991). Structure and properties of an extracellular polysaccharide from *Laetisaria arvalis*. Evaluation of its antitumour activity. *Carbohydrate Polymers*, 16, 155-165.
40. Goring, D. A. I. A. (1997). Speculative picture of the delignification process. *ACS Symposium Series*, 298, 273-277.
41. Salmén, L., Olsson, A. M. (1998). Interaction between hemicelluloses, lignin and cellulose: Structure-property relationships. *Journal of Pulp and Paper Science*, 24, 99-103.
42. Aman, P. (1993). Composition and structure of cell wall polysaccharides in forages. In H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield, & J. Ralph (Eds.), *Forage Cell Wall Structure and Digestibility* (pp. 183-196). Madison: American Society of Agronomy.
43. Hafrén, J., Fujino, T., & Itoh, T. (1999). Changes in cell wall architecture of differentiating tracheids of *Pinus thunbergii* during lignification. *Plant Cell Physiology*, 40, 532-541.
44. Harris, P. J., & Smith, B. G. (2006). Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: structures, properties and uses in food products. *International Journal of Food Science & Technology*, 41, 129-143.
45. McCann, T. H., Fabre, F. & Day, L. (2011). Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. *Food Research International*, 44, 884-892.

46. McDougall, G. J., Morrison, I. M., Stewart, D., & Hillman, J. R. (1996). Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70, 133-150.
47. Kunzek, H., Kabbert, R., & Gloyna, D. (1999). Aspects of material science in food processing: changes in plant cell walls of fruits and vegetables. *Z. Lebensm Unters Forsch A*, 208, 233-250.
48. Guignard, J-L. (2000). *Biochimie végétale*. Paris: Dunod. 274 p.
49. Scheller, H. V., & Ulvskov, P. (2010). Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 263-289.
50. Dinand, E. (1997). *Microfibrilles de cellulose. Isolement à partir de pulpes de betterave, caractérisation et propriétés*. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier-Grenoble I. Pp. 22-80.
51. Carpita, N. C., & Gibeaut D. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal*, 3, 1-30.
52. Carpita, N. C., & McCann, M. C. (2000). The cell wall. In B.B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of plants* (pp. 65-69). Rockville: American Society of Plant Physiologists.
53. Muschitz, A. (2009). *Réponses physiologiques de végétaux supérieurs aux stress métalliques. Caractérisation du rôle des parois cellulaires dans les stratégies défensives des cellules de tomate (Solanum lycopersicum L.) face aux éléments traces métalliques*. Thèse de doctorat, Université d'Artois. Pp. 35-41.
54. Douglas, W. J., Preiss, J. R. J., & Elbein, A. D. (1985). Biosynthesis of Polysaccharides. In *The Polysaccharides* (pp. 107-196). New York: Academic Press.
55. Gatenholm, P., & M. Tenkanen (2004). Hemicelluloses: Science and Technology, ACS Symposium Series. Pp 254-268.
56. Aspinall, G. O. (1980). Chemistry of cell wall polysaccharides. In J. Preiss (Ed.), *The Biochemistry of Plants* (Vol. 3; pp. 473-500). New York: Academic Press.
57. Nevell, T. P., & Zeronian, S. H. (1985). *Cellulose chemistry and its applications*. Chichester: Elis Horwood. Pp. 552.
58. Klemm, D., Philipp, B., Heinze, T., Heinze, U., & Wagenknecht, W. (2004). General Considerations on Structure and Reactivity of Cellulose: Section 2.1–2.1.4.

In *Comprehensive Cellulose Chemistry* (pp. 9-29). Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

59. Raynal-Ioualalen, R. (1996). *Procédé de fractionnement des sons de blé. Extraction et étude des propriétés fonctionnelles des arabinoxylanes*. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. Pp. 324

60. Zeitoun, R. (2011). *Procédés de fractionnement de la matière végétale – Application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé. Thèse de doctorat, l'Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)*. Pp. 33-34.

61. Frénot, M., & Vierling, E. (2001). *Biochimie des aliments: diététique du sujet bien portant* (2nd ed.). Bordeaux: Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. 68 p.

62. Lohmann, J. (2009). *Copolymères à blocs « hybrides » à base de xyloglucane et de polymère vinylique en combinant modification chimio-enzymatique et polymérisation radicalaire contrôlée*. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier-Grenoble I. 11 p.

63. Chambat, G., Barnoud, F., & Joseleau, J. P. (1984). Structure of the primary cell walls of suspension-cultured *Rosa glauca* Cells, 1. *Plant Physiology*, 74, 687-693.

64. Hayashi, T., Mardsen, M. P. F., & Delmar, D. P. (1987). Pea xyloglucan and cellulose. V. xyloglucan-cellulose interactions *in vitro* and *in vivo*. *Plant Physiology*, 83, 384-389.

65. Mcneil, M., Albersheim, P., Taiz, L., & Jones, R. (1975). The structure of plant cell walls. VII. Barley aleurone cells. *Plant Physiology*, 55, 64-68.

66. Bansal, N., Trwari, R., Gupta, J. K., Soni, R., & Soni, S. K. (2011). A novel strain of *Aspergillus niger* producing a cocktail of hydrolytic depolymerising enzymes for the production of second generation biofuels. *BioResources*, 6, 552-569.

67. Vincken, J. P., Schols, H. A., Oomen, R. J., McCann, M. C., Ulvskov, P., Voragen, A. G., et al. (2003). If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, 132, 1781-1789.

68. Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (2002). The chemical structure of pectins. In G. B. Seymour, & J. P. Knox (Eds.), *pectins and their manipulations* (1-29). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

69. Voragen, A. G. J., Pilnik, W., Thibault, J. F., Axelos, M. A.V., & Renard, C. M. G. C. (1995). Pectins. In A. M, Stephen (Ed.), *Food polysaccharides and their applications. Food Science and Technology series* (pp. 287-339). New York: Marcel Dekker.

70. Ishii, T. (1997). O-acetylated oligosaccharides from pectins of potato tuber cell walls. *Plant Physiology*, *113*, 1265-1272.
71. Voragen, A. G. J., Coenen, G. J., Verhoef, R. P., & Shols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, *20*, 263-275.
72. O'Neill, M. A., Albersheim, P., & Darvil, A. (1990). The pectic polysaccharides of primary cell walls. In D. M. Dey (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry* (pp. 415-441). London, UK: Academic Press.
73. Stephen, A. M. Other plant polysaccharides. (1983). In G. O. Aspinall (Ed.), *The polysaccharides* (Vol. 2; pp. 98-193). New York: Academic Press.
74. Arifkhodzhaev, A. O. (2000). Galactans and galactan-containing polysaccharides of higher plants. *Chemistry of Natural Compounds*, *36*, 229-244.
75. Habibi, Y. (2004). *Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie Les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique*. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier – Grenoble I & Université Cadi Ayyad, Semlali –Marrakech. Pp. 13-150.
76. Linden, G., & Lorient, D. (1994). *Biochimie agro-industrielle: valorisation alimentaire de la production agricole*. Paris: Masson. 335 p.
77. Danishefky, R. W., & Bettelheim, F.A. (1970). The Introduction to Polysaccharids Chemistry. In W. Pigmon, & Harton, D (Eds.), *the: carbohydrates Chemistry and biochemistry* (2nd ed; Vol.2A). New-York and London: Word Pigmon and Derec Harton Academic Press.
78. Timell, T. E. (1965). *Methods in Carbohydrate Chemistry I*, 301. In the: Introduction to Polysaccharids Chemistry in the: Danishefky Royl. Whistler & F.A Bettelheim (1970). *Carbohydrates Chemistry and Biochemistry 2nd edition Vol.2A* (1970) editors: Word Pigmon and Derec Harton Academic Press, New-York &London.
79. Cui, S. T. (2005). *Food Carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group. Pp. 76-153.
80. Warand, J. (2004). *Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (Linum usitatissimum)*. Thèse de doctorat, Université de Picardie jules verne. 238 p.
81. Boual, Z., Kemassi, A., Bouhoun, M. D., Michaud, P., & Ould El Had, M. D. (2012). Isolation and Partial Characterization of Water Soluble Polysaccharides from

One Saharian Medicinal Plant: *Plantago Notata* Lagasca. *International Conference on Environment, Chemistry and Biology*, 49, 61-65.

82. Monties, B. (1980). *Les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés*. Paris: Gauthier-Villars. Pp. 66-98.

83. Hakomori, S. (1964). A rapid permethylation of glycolipid, and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbanion in dimethyl sulfoxide. *The Journal of Biochemistry*, 55, 205-208.

84. Goldstein, I. J., Hay, G. W., Lewis, B. A., & Smith, F. (1965). Controlled degradation of polysaccharides by periodate oxidation, reduction and hydrolysis. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 5, 361-370.

85. Hoffman, J., Lindberg, B., Svensson, S. (1972). Determination of the Anomeric Configuration of Sugar Residues in Acetylated Oligo- and Polysaccharides by Oxidation with Chromium Trioxide in Acetic Acid. *Acta Chemica Scandinavica*, 26, 661-666.

86. Wang, I., Zhang, J., Zhao, B., Wu, Y., Wang, C., & Wang, Y. (2012). Structural features and hypoglycaemic effects of *Cynamorium sangaricum* polysaccharides on ST2-induced rats. *Food Chemistry*, 120, 443-451.

87. Kappor, V. P., Taravel, F. R., Joseleau, I. P., Milas, M., Chanzy, H., & Rinaudo, M. (1998). *Cassia spectabilis* DC seed galactomannan : Structural, crystallographical and rheological studies. *Carbohydrate Research*, 306, 231-241.

88. Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B., & Katthain, R. (2000). Rheological properties of mucilage gum (*Opuntia ficus indica*), *Food Hydrocolloids*, 14, 417-424.

89. Whistler, R. L., & BeMiller, J. N. (1993). *Industrial gums: Polysaccharides and their derivatives* (3rd ed.). San Diego: Academic Press. Pp 1-19.

90. Ndjouenkeu, R., Goycoolea, F. M., Morris, E. R., & Akingbala, J. O. (1996). Rheology of okra (*Hibiscus. esculentus* L) and dika nut (*Irvingia gabonensis*) polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 29, 263-269.

91. Taboada, E., Fisher, P., Jara, R., Zúniga, E., Gidekel, M., Cabrera, J. C., et al. (2010).

Isolation and characterisation of pectic substances from murta (*Ugni molinae* Turcz) fruits. *Food Chemistry*, 123, 669-678.

92. Mkedder, I. (2012). *Modification et Dégradation Enzymatique de polysaccharides : Investigation par Imagerie et Diffusion de Rayonnement*. Thèse de doctorat, Université de Grenoble. Pp. 7-45.
93. Rouessac, F., & Rouessac, A. (2004). *Chromatographie d'exclusion stérique, analyse chimique méthodes et techniques instrumentales modernes* (6th ed.). Paris: Dunod. Pp. 113-114.
94. Lorentz, C. (2010). *Caractérisation de carburants alternatifs par chromatographie d'exclusion stérique et résonance magnétique nucléaire*. Mémoire d'ingénieur, Conservatoire National des Arts et Métiers de Lyon. 9 p.
95. Moreau, Y. (2001). *Couverture des besoins énergétiques des poissons tropicaux en aquaculture Purification et comparaison des amylases de deux tilapias Oreochromis niloticus et Sarotherodon melanotheron*. Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille III. 57 p.
96. Les Éditions de la Chenelière inc. (2008). *Compléments: Spectroscopie*. 5 p.
97. Tong, H., Liang, Z., & Wang, G. (2008). Structural characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Physalis alkekengi* L. *Carbohydrate Polymers*, 71, 316-323
98. Boual, Z., Kemassi, A., Michaud, P., & Ould el hadj, M. D. (2011). Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*Asphodelus tenuifolius* cavan (liliaceae): effet prébiotique des oligosaccharides issus de l'hydrolyse des polysaccharides. *Algerian journal of arid environment*, 1, 52-60.
99. Ge, Y., Duan, Y., Fang, G., Zhang, Y., & Wang, S. (2009). Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* var. *francheti*: Isolation, purification, structural features and antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 77, 188-193.
100. Ying-kun, C., Lei, L., Zhao-kun, M., A-li, H., Yu-jie, W., & Li-rong, T. (2008). Component Analysis and Free Radicals Scavenging Activity of *Physalis alkekengi* L. Polysaccharide. *Chemical Research in Chinese Universities*, 24, 167-170.
101. Zhou, G. F., Sun, Y. P., Xin, H., Zhang, Y., Li, Z., & Xu, Z. (2004). In vivo antitumor and immunomodulation activities of different molecular weight lambdacarrageenans from *Chondrus ocellatns*. *Pharmacological Research*, 50, 47–53.

102. Whistler, R. L., & Sannella, J. L. (1965). Fractional precipitation with ethanol. In R. L. Whistler, J. N. BeMiller, & M. L. Wolfrom (Eds.), *Methods in carbohydrate chemistry* (Vol. 5; pp. 34-35). New York: Academic Press Inc.
103. Mendham, J. (2006). *Analyse chimique quantitative de Vogel*. Bruxelles: De Boeck & Larcier. 287 p.
104. Guide de sélection des colonnes Zorbax Agilent pour la CLHP. (2007). Agilent Technologies, Imprimé en Allemagne. 8 p.
105. Guide de sélection rapide de colonnes et d'étalons pour chromatographie par perméation sur gel et chromatographie d'exclusion stérique. (2010). Agilent Technologies, Imprimé aux États-Unis. 4 p.
106. Normand, F. L., Ory, R. L., & Mod, R. R. (1987). Binding of bile acids and trace minerals by soluble hemicelluloses of rice. *Food Technology*, *41*, 86–99.
107. Bittner, A. S., Burritt, E. A., Moser, J., & Street, J. C. (1982). Composition of dietary fiber: neutral and acidic sugar composition of the alcohol insoluble residue from human foods. *Journal of Food Science*, *47*, 1469-1477.
108. Thomas, M., Guillemin, F., Guillon, F., & Thibault, J-F. (2003). Pectins in the fruits of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*). *Carbohydrate Polymers*, *53*, 361-372.
109. Buchanan, B. B., Gruissen, W., & Jones, R. L. (2000). *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists. 1408 p.
110. Hoffmann, D. (2003). *Medical herbalism: the Science and practice of herbal medicine*. Library of Congress cataloging-in-publication data: Healing Arts Press. Pp. 46-47.
111. Milani, J., & Maleki, G. (2012). *Food Industrial Processes – Methods and Equipment, Hydrocolloids in Food Industry*. Iran: Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University. 24 p.
112. Code of Federal Regulations. (1974). Title 21.
113. D'Adamo, P. (1996). Larch Arabinogalactan is a Novel Immune Modulator. *Journal of Naturopathic Medicine*, *4*, 32-39.
114. Cheftel, J. C., & Cheftel, H. (1980). *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments* (3rd ed.). Paris: Technique et Documentation Lavoisier. Pp. 154-160.

115. Jonhston, J. W., Hewett, E. W., & Hertog, M. L. A. T. M. (2002). Postharvest softening of apple (*Malus domestica*) fruit: a review. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 30, 145-160.
116. Inari, T., Yamauchi, R., Kato, K., & Takeuchi, T. (2000). Purification and some properties of pectinesterase from fruits of a miniature-fruited red type tomato. *Food Science and Technology Research*, 6, 54-58.
117. Yoshioka, H., Aoba, K., & Kashimura, Y. (1992). Molecular weight and degree of methoxylation in cell wall polyuronide during softening in pear and apple fruit. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 117, 600-606.
118. Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (1996). Progress in biotechnology. In J. Visser, & A. G. J. Voragen (Eds.), *Pectins and pectinases* (pp. 3-19). Amsterdam: Elsevier Science BV.
119. Aboughe-Angone, S., Nguerna-Ona, E., Ghosh, P., Lerouge, P., Ishii, T., Ray, B., et al. (2008). Cell wall carbohydrates from fruit pulp of *Argania spinosa*: structural analysis of pectin and xyloglucan polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 343, 67-72.
120. Schols, H. A., Voragen, A. G. J. (2002). In G. B. Seymour, & J. P. Knox (Eds.), *Pectins and their Manipulation Sheffield Biological Sciences* (pp 1-29). Oxford: Blackwell Publishing.
121. Byg, I., Diaz, J., Øgendal, L. H., Harholt, J., Jørgensen, B., Rolin, C., et al. (2012). Large-scale extraction of rhamnogalacturonan I from industrial potato waste. *Food Chemistry*, 131, 1207-1216.
122. Brudieux, V. (2007). Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure / activité à la dermocosmétique. Thèse de doctorat, Université de Limoges. 108 p.
123. Sengkhamparn, N., Verhoef, R., Schols, H. A., Sajjaanantakul, T., Voragen, A. G. J. (2009). Characterisation of cell wall polysaccharides from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Carbohydrate Research*, 344, 1824-1832.
124. Oosterveld, A., Beldman, G., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (1996). Arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides extracted from sugar-beet pulp. *Carbohydrate Research*, 288, 143-153.

125. Darvill, A. G., Albersheim, P., Mc Neil, M., Lau, J. M., York, W. S., Stevenson, T. T., et al. (1985). Structure and function of plant cell wall polysaccharides. *Journal of Cell Science Supplements*, 2, 203-217.
126. York, W. S., Darvill, A. G., MC Neil, M., Stevenson, T. & T., Albersheim, P. (1986). Isolation and characterization of plant cell walls and cell components. *Methods in Enzymology*, 118, 3-40.
127. Thomas, J. R., Darvill, A. G., & Albersheim, P. (1989). Rhamnogalacturonan I, a pectic polysaccharide that is a component of monocot cell walls. *Carbohydrate Research*, 185, 279-306.
128. Miyamoto, A., & Chang, K. C. (1992). Extraction and physicochemical characterization of pectin from sunflower head residue. *Journal of Food Science*, 57, 1439-1443.
129. Turquois, T., Best, E., Vanacker, P., Saint Clair, G., Rinaudo, M., Taravel, F.R., et al. (1997). *Pectinaceous gelling agent*. Brévet.
130. Rinaudo, M., & Reguant, J. (2000). Autres polysaccharides végétaux importants. In *Initiation à la chimie et à la physico-chimie macromoléculaires* (Vol. 13; pp. 457-471). GFP.
131. Thakur, B. R., Singh, R. K., & Handa, A. K. (1997). Chemistry and uses of pectin-a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 47-73.
132. Rolin, C., Nielsen, B. N., & Glahn, P. E. (1998). Pectin. In S. Dimitriu (Ed.), *Polysaccharides. Structural diversity and functional versatility* (pp. 377). Inc, Sherbrooke (Canada)/New York: Marcel Dekker.
133. Yamada, H. (1996). Contribution of pectins on health care. In J. Visser and A. G. J. Voragen, (Eds.), *Pectins and Pectinases* (pp. 173). Elsevier Science B. V.
134. Vidal, S., Williams, P., O'Neil, M. A., & Pellerin, P. (2001). Polysaccharides from grape berry cell walls. Part I: tissue distribution and structural characterization of the pectic polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 45, 315-323.
135. Carpita, N. (1996). Structure and Biogenesis of the Cell Walls of Grasses. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47, 445-476.
136. Doco, T., Williams, P., Pauly, M., O'Neill, M. A., & Pellerin, P. (2003). Polysaccharides from grape berry cell walls. Part II. Structural characterization of the xyloglucan polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 53, 253-261.

137. Jose, J. K. (2012). *Xyloglucan-based polymers and nanocomposites – modification, properties and barrier film applications*. Thèse de doctorat, KTH, Royal Institute of Technology. Pp. 2-4.
138. De Souza, C. F., Lucyszyn, N., Woehl, M. A., Riegel-Vidotti, I. C., Borsali, & R., Sierakowski, M. R. (2013). Property evaluations of dry-cast reconstituted bacterial cellulose/tamarind xyloglucan biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, *93*, 144-153.
139. Mahajan, H. S., Tyagi, V. K., Patil, R. R., Dusunge, S. B. R. C. (2013). Thiolated xyloglucan: Synthesis, characterization and evaluation as mucoadhesive *in situ* gelling agent. *Carbohydrate Polymers*, *91*, 618-625.
140. Glicksman, M. (1986). Tamarind seed gum. In M. Glicksman (Ed.), *Food hydrocolloids* (Vol. 3, pp.191–202). Boca Raton, FL: CRC Press.
141. Martini, M. C., & Seiller, M. (1992). *Actifs et additifs en cosmétologie*. Paris: Technique et Documentation Lavoisier. 431 p.
142. Coimbra, M. A., Waldron, K. W., & Selvendran, R. R. (1994). Isolation and characterisation of cell wall polymers from olive pulp (*Olea europaea* L.). *Carbohydrate Research*, *252*, 245-262.
143. Rosell, K-G., & Svensson, S. (1975). Studies on the distribution of the 4-O-methyl-D-glucuronic acid residues in birch xylan. *Carbohydrate Research*, *42*, 297-304.
144. Kubačková, M., Karácsonyi, S., Bilisics, L., & Toman, R. (1979). On the specificity and mode of action of a xylanase from *trametes hirsuta* (wulf.) pilát. *Carbohydrate Research*, *76*, 177-188.
145. Selvendran, R. R., & O'Neil, M. A. (1987). Isolation and analysis of cell walls from plant material. In D. Glick (Ed.), *Methods of biochemical analysis* (Vol. 32; pp. 25-154). New York: John Wiley & Sons.
146. Kordan, B., Lahuta, L. B., Dancewicz, K., Sądej, & W., Gabryś, B. (2011). Effect of lupin cyclitols on pea aphid probing behaviour. *Journal of Plant Protection Research*, *51*, 171-178.

147. Haber, B., M-C, Metodio., P-O, L., A. M. Marcos., & R-Z, Calvo De Mora Baltaz. (2004). Farine de caroube dénaturée (dcf) contenant un faible taux de tanins et de sucres solubles, destinée a l'alimentation humaine et procédé permettant d'obtenir ladite farine. WO 2004014150 A9, Brevet.
148. Szczeciński, P., Gryff-Keller, A., Horbowicz, A., & Lahuta, L.B. (2000). Galactosylpinitols isolated from vetch (*Vicia villosa* Roth.) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2717-2720.
149. Baumgartner, S., Ritzmann, R. G., Haas, J., Amadb, R., & Neukom, H. (1986). Isolation and Identification of Cyclitols in Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 827-829.
150. Drew, E.A. (1978). Carbohydrate and inositol metabolism in the seagrass, *Cymodocea nodosa*. *New Phytologist*, 81, 249-264.
151. Drew, E.A. (1980). Soluble carbohydrate composition of seagrasses. In: R.C. Phillips, & C.P. McRoy (Eds.), *Handbook of Seagrass Biology - an Ecosystem Perspective* (pp. 247-259). New York: Garland STPM Press.
152. Wentink, A. E., Micović, J, Gerlach, K., & Raventos, M. *Purification of cyclitols using bioextraction*. Department of Biochemical and Chemical Engineering. Universität Dortmund: Emil-Figge-Str.
153. Holland, N., Sala, J. M., Menezes., H. C., & Lafuente, M. T. (1999). Carbohydrate content and metabolism as related to maturity and chilling sensitivity of cv. *Fortune* mandarins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2513-2518.
154. Fadda, A., & Mulas, M. (2010). Chemical changes during myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 125, 477-485.
155. Van der Schaft, P. (2007). Chemical conversion of natural precursors. In R. Berger (ed.), *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability* (pp. 285-302). Heidelberg: Springer.
156. Jansz, E. R., Nikawela, J. K., Gooneratne, J., Theivendirarajah, K. (1994). Studies on the bitter principle and debittering of Palmyrah fruit pulp. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65, 185-189.
157. Carlberg, G. E., & Percival, E. (1977). The carbohydrates of the green seaweeds *Urospora wormskioldii* and *Codiolum pusillum*. *Carbohydrate Research*, 57, 223-234.

158. Rana, V., & Kumar, V. (2011). Linkage Analysis in a Trisaccharide from *Dalbergia* by Methylation and Periodate Oxidation Methods. *International Journal of ChemTech Research*, 3, 483-487.
159. Hilz, H., Bakx, E. J., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (2005). Cell wall polysaccharides in black currants and bilberries-characterisation in berries, juice, and press cake. *Carbohydrate Polymers*, 59, 477-488.
160. Fondation Internationale de la Maison de la Chimie. La chimie des confitures. Union des Industries Chimiques. Pp. 2-4.
161. Champagnol, F. (1984). *Eléments de physiologie de la vigne et de viticulture générale*. Montpellier: Saint-Gély-du-Fesc, François Champagnol. 352 p.
162. Hrazdina, G., Parsons, G. F, Mattick, L. R. (1984). Physiological and biochemical events during development and maturation of grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 35, 220-227.
163. Cardoso, S. M., Silva, A. M. S., & Coimbra, M. A. (2002). Structural characterisation of the olive pomace pectic polysaccharide arabinan side chains. *Carbohydrate Research*, 337, 917-924.
164. Navarro, D. A., Cerezo, A. S., & Stortz, C. A. (2002). NMR spectroscopy and chemical studies of an arabinan-rich system from the endosperm of the seed of *Gleditsia triacanthos*. *Carbohydrate Research*, 337, 255-263.
165. Davis, E. A., Derouet, C., Penhoat, C. H. D., Morvan, C. (1990). Isolation and an N.M.R. study of pectins from flax (*linum usitatissimum* L.). *Carbohydrate Research*, 197, 205-215.
166. Vignon, M. R., & Garcia-Jaldon, C. (1996). Structural features of the pectic polysaccharides isolated from retted hemp bast fibres. *Carbohydrate Research*, 296, 249-260.
167. Westerlund, E., Åman, P., Andersson, R., Andersson, R.E. (1991). Chemical characterization of water-soluble pectin in papaya fruit. *Carbohydrate Polymers*, 15, 67-78.
168. Catoire, L., Goldberg, R., Pierron, M., Morvan, C., & Penhoat, C. H. (1998). An efficient procedure for studying pectin structure which combines limited depolymerization and ¹³C NMR. *European Biophysics Journal*, 27, 127-316.

169. Jones, C., & Mulloy, B. (1993). The application of nuclear magnetic resonance to structural studies of polysaccharides. In C. Jones, B. Mulloy, & A. H. Thomas (Eds.), *Methods in molecular biology, spectroscopic methods and analysis NMR, spectrometry and metalloprotein techniques* (vol. 17; pp. 149-167). Totowa, NJ: Humans Press inc.
170. Kashif, A., Federica, M., Reinhard, T., Young, H. C., & Robert, V. (2011). Metabolic characterization of Palatinate German white wines according to sensory attributes, varieties, and vintages using NMR spectroscopy and multivariate data analyses. *Journal of Biomolecular NMR*, 49, 255-266.
171. Hervé, A., Cosette, G., Michèle, G-B., Fabienne, R-B., Raphaëlle, T-M. (2008). *Les bactéries lactiques en œnologie*. Paris: Lavoisier. 17 p.
172. Campo, G. D., Berregi, I., Caracena, R., & Santos, J. I. (2006). Quantitative analysis of malic and citric acids in fruit juices using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 556, 462-468.
173. Winnacker, K., & Küchler, L. (1969). *Chimie organique*. Paris: Editions Eyrolles. 888 p.
174. Traveset, A., Riera, N., & Mas, R. E. (2001). Blackwell Science, Ltd Ecology of fruit-colour polymorphism in *Myrtus communis* and differential effects of birds and mammals on seed germination and seedling growth. *Journal of Ecology*, 89, 749-760.
175. Minker, C. (2011). *Myrtille et autres fruits rouges Par Carole Minker*. Paris: Groupe Eyrolles. Pp. 40-48.
176. Bensouici, C. (2008). *Etude phytochimique de l'extrait butanolique de l'espèce Centaurea Maroccana*. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine. 2 p.
177. ABABSA, Z. E. A. (2009). *Caractérisation pharmacotoxicologique et étude phytochimique de : Centaurea dimorpha*. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine. 15 p.
178. John, M. A., & Dey, P. M. (1986). Postharvest changes in fruit cell wall. In C. O. Chichester, E. M. Mrak, & B. S. Schweigert (Eds.), *Advances in food research* (Vol. 30; pp. 169). New York: Academic Press Inc.
179. Cabrita, L., M. Andersen, Ø. M. (1999). Anthocyanins in blue berries of *Vaccinium padifolium*. *Phytochemistry*, 52, 1693-1696.

180. Qin, C., Li, Y., Niu, W., Ding, Y., Zhang, R., & Shang, X. (2010). Analysis and Characterisation of Anthocyanins in Mulberry Fruit. *Czech Journal of Food Sciences*, 28, 117-126.
181. Acevedo De la Cruz, A., Hilbert, G., Rivière, C., Mengin, V., Ollat, N., Bordenave, L., et al. (2012). Anthocyanin identification and composition of wild *Vitis* spp. accessions by using LC–MS and LC–NMR. *Analytica Chimica Acta*, 732, 145-152.
182. Wichtl, M., & Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Paris: Editions Technique & Documentation. Pp. 14-616.
183. Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Paris: Editions Technique & Documentation. 1269-1288.
184. Wichienchot, S., Jatupornpipat, M., Rastall, R. A. (2010). Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry*, 120, 850-857.
185. Jiang, G., Jiang, Y., Yang, B., Yu, C., Tsao, R., Zhang, H., et al. (2009). Structural Characteristics and Antioxidant Activities of Oligosaccharides from Longan Fruit Pericarp. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57, 9293-9298.
186. Sengkhampan, N., Chanshotikul, N., Assawajitpukdee, C., & Khamjae, T. (2013). Effects of blanching and drying on fiber rich powder from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. *International Food Research Journal*, 20, 1595-1600.
187. Cipriani, T. R., Mellinger, C. G., Gorin, P. A. J., & Iacomini, M. (2004). An arabinogalactan isolated from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. *Journal of Natural Products*, 67, 703-706.
188. Habibi, Y., Mahrouz, M., Marais, M-F., & Vignon, M. R. (2004). An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus Indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 339, 1201-1205.
189. Bock, K., & Pedersen, C. (1983). Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of monosaccharides. In R. S. Tipson, & D. Horton (Eds.), *Advances in carbohydrates chemistry and biochemistry* (Vol. 41; pp. 27-45). New York: Academic Press Inc.

190. Gorin, P. A. J., & Mazurek, M. (1975). Further studies on the assignment of signals in ^{13}C magnetic resonance spectra of aldoses and derived methyl glycosides. *Canadian Journal of Chemistry*, 53, 1212-1223.

191. Garcia, I. S., Souza, A., Barbedo, C. J., Dietrich, S. M. C., & Figueiredo-Ribeiro, R. C. L. (2006). Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* LAM. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Biology*, 66, 739-745.