

CARACTÉRISATION PARTIELLE DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES DES FEUILLES DE *MALVA PARVIFLORA* L. (MALVACEAE): ACTIVITÉ PRÉBIOTIQUE

Zakaria Boual¹, Abdellah Kemassi¹, Aicha Hamid Oudjana¹, Philippe Michaud²
et Ould El Hadj Mohammed Didi^{1,3}

¹Université Kasdi Merbah-Ouargla, Laboratoire Protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides, 30000 Ouargla, Algérie

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

³Université Kasdi Merbah-Ouargla, Laboratoire de Biogéochimie des milieux désertiques, 30000 Ouargla, Algérie
biozakaria@yahoo.fr

(Received 21 March 2011 - Accepted 12 March 2012)

RÉSUMÉ

Malva parviflora L. (Malvaceae), plante spontanée à caractère médicinal pousse dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien). Les feuilles séchées sont traitées à l'éthanol à 75%. Après filtration, le résidu séché à température ordinaire est macéré à l'eau distillée. Des polysaccharides hydrosolubles des feuilles sont obtenus par macération à l'eau distillée. L'addition à cet extrait d'éthanol à 75% précipite les polysaccharides. Le rendement massique est de 1,46%. L'étude de l'extrait aqueux après lyophilisation a donné les valeurs moyennes suivantes : cendres totales (15±2,64%), protéines totales (17,14 ± 1,43%) et oses totaux (68,18±0,94%). Parmi ces derniers, 55 ± 0,62% sont des oses neutres et 44,96 ± 0,42% sont des oses acides. L'hydrolyse des polysaccharides donne le meilleur résultat quand elle est effectuée en milieu trifluoroacétique (4 M) durant 5 heures à 80°C. La chromatographie haute performance sur échangeurs d'anions des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parviflora* indique la présence de galactose (56,86%), d'acide glucuronique (20,57%), d'arabinose (9,04%), de rhamnose (8,46%) et de mannose (5,05%). Les oligosaccharides provenant de l'hydrolyse partielle des polysaccharides hydrosolubles (concentration de 0,333 mg/mL) stimulent de manière significative pour 0,1 DO après 24 heures la croissance de *Bifidobacterium longum*. Ainsi, l'effet prébiotique de ces oligosaccharides sur cette souche est notable.

Mots-clés: polysaccharides, plante spontanée, hydrolyse, oligosaccharides, effet prébiotique

ABSTRACT

Malva parviflora L. (Malvaceae), a spontaneous plant used in traditional medicine is found in Ghardaïa (Septentrional East Algerian Sahara). This paper reports on the extraction and partial characterization of water-soluble polysaccharides from *M. parviflora*

leaves. These polysaccharides were obtained by elimination of the ethanol extract and sequential extraction in distilled water, followed by precipitation in 75% ethanol. The yield of extract is of 1.46%. The crude water-soluble polysaccharide extract was further characterized and revealed the average values: $15 \pm 2,64\%$ total ashes, $17,14 \pm 1,43\%$ proteins and $68,18 \pm 0,94\%$ carbohydrates, among them $44,96 \pm 0,42\%$ are acidic monosaccharides and the rest $55 \pm 0,62\%$ are neutral monosaccharides. The considered optimum conditions of hydrolysis by trifluoroacetic acid were: 4 M during 5 hours at 80°C. Anion exchange high performance chromatography of hydrosoluble polysaccharides of Malva leaves indicates the presence of galactose (56.86%), glucuronic acid (20.57%), arabinose (9.04%), rhamnose (8.46%) and mannose (5.05%). The oligosaccharides resulting from the partial hydrolysis of the hydrosoluble polysaccharides stimulate significantly (concentration of 0,333 mg/mL) for 0,1 DO after 24 hours, the growth of *Bifidobacterium longum*. Their prebiotic effect is notable.

Keywords: polysaccharides, spontaneous plant, hydrolysis, oligosaccharides, prebiotic effect

INTRODUCTION

Les poly- et oligosaccharides représentent de véritables auxiliaires indispensables au bon fonctionnement de la vie quotidienne. Un intérêt grandissant concerne leurs applications comme activateurs biologiques. Les oligosaccharides sont de véritables modulateurs biologiques qui participent à de nombreux phénomènes de signalisation dans l'organisme. Ainsi, les oligosaccharides provenant de la dégradation des polysaccharides des plantes (xyloglucane et pectine) ou de champignons (β -glucane et chitine) sont largement décrits comme des régulateurs biologiques actifs, sur des mécanismes tels que la croissance, le développement cellulaire, la symbiose et les réactions de défense. Lors de l'agression d'une plante par un phytopathogène, différents signaux éliciteurs sont émis. Aux premiers stades, les oligogalacturonates issus de la dégradation de la paroi pectocellulosique, vont déclencher une résistance systémique acquise chez le végétal (Aldington & Fry, 1993). Au regard d'activités d'élicitation des réactions de défense des plantes et des algues *via* des oligosaccharides, leurs utilisations comme agents biopesticides et phytosanitaires ont été envisagées dans l'agro-industrie. Ainsi, la production de pénicilline à partir de champignons filamenteux comme *Penicillium chrysogenum* est largement optimisée par des oligo-mannanes et des oligo-alginates issus de *Laminaria hyperborea* (Liu *et al.*, 2001). Ainsi, les oligo-glycosaminoglycanes issues des hyaluronanes sont impliqués dans une grande variété de processus biologiques notamment comme agents cofacteurs de croissance cellulaire, de production de cytokines et de chemokines (Liu *et al.*, 2001). Un rôle dans la régulation de la coagulation sanguine leur a aussi été attribué (Pineo & Hull, 1997; Ghatak *et al.*, 2002). D'autres formes de glucuronanes acétylées ou modifiées chimiquement avec des sulfates présentent des activités de régénération tissulaire chez le rat (Petit *et al.*, 2004). Ces biomolécules présentent des potentiels de régulation biologique sophistiquée, il n'en reste pas moins que de nombreuses applications restent encore peu exploitées du fait d'un manque de stratégies de production de ces composés. Il est en effet difficile d'obtenir quantitativement des oligosaccharides par extraction directe à partir de substances naturelles. Au cours de ces dernières décennies, les voies de dépolymérisation des polysaccharides ont été les plus décrites pour générer des familles oligosaccharidiques originales et variées. Dans ce contexte, et dans le cadre de projet de valorisation de la biodiversité de la flore spontanée du Sahara Septentrional Est algérien, le présent travail consiste à extraire des constituants polysaccharidiques, et bien entendu non décrits à ce jour, de quelques plantes spontanées à

caractère médicinal de la région de Ghardaïa de les caractériser chimiquement et d'optimiser un processus de dépolymérisation et leur bioconversion en oligosaccharides. Les différentes fractions d'oligomères obtenues, ont enfin été testées quant à leur aptitude à répondre aux activités biologiques à savoir l'effet prébiotique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

Les feuilles de *M. parviflora*, sont récoltées d'Oued Touzouz (région de Ghardaïa) en Mars 2008. Les feuilles sont séchées à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre et à température ambiante durant trois semaines (Diallo *et al.*, 2004). Les feuilles ainsi séchées sont conservées à température ambiante (15 à 20 °C) dans des boîtes dans un milieu sec à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse.

Extraction des polysaccharides

Les feuilles séchées sont écrasées et prétraitées par de l'éthanol 75% pendant 5 heures (Diallo *et al.*, 2004), à température ambiante et sous agitation douce; puis filtrées à travers un tamis en papier Whatmann N°1, afin d'éliminer les composés solubles dans l'éthanol, tels que les polyphénols, les oses simples et les acides aminés (Wu *et al.*, 2007). Le résidu des feuilles prétraitées, est séché une seconde fois à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre et à la température ambiante pendant 48 heures (Diallo *et al.*, 2004). Les feuilles ainsi séchées sont macérées dans 2 volumes d'eau distillée froide, pendant 24 heures à la température ambiante et sous agitation douce. Le mélange est filtré à travers un tamis de porosité 100 µm. Le filtrat est concentré à 60°C à 72 mbar jusqu'à l'obtention du 1/3 du volume initial, dans un évaporateur rotatif (Diallo *et al.*, 2004). Les polysaccharides du concentrat sont précipités à l'aide de 3 volumes éthanol à 75% pendant 24 heures à une température de 4°C. Après centrifugation à 3560 g pendant 10 mn (Diallo *et al.*, 2004 ; Wu *et al.*, 2007), le culot est récupéré puis lavé 3 fois à l'éthanol à 75%, avant d'être séché par lyophilisation (Ebringerova *et al.*, 2003). Le lyophilisat obtenu représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles, pour l'étude de la composition qualitative et quantitative des polysaccharides bruts.

Composition de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles

Les cendres totales sont déterminées par incinération de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles lyophilisés dans un four à moufle électrique de type Heraeus 6072 à 600°C (Audigie *et al.*, 1984). La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Bradford. La concentration en protéines est obtenue par référence avec une gamme étalon de sérum albumine bovine, après coloration au bleu de Coomassie (Autran, 1991). Le dosage des oses constitutifs des polysaccharides repose sur la réaction des dérivés sulfuriques obtenus par action à chaud, d'un acide concentré comme l'acide sulfurique (H₂SO₄), pour divers composés aromatiques, tels que le phénol pour le dosage des oses neutres (Monsigny *et al.*, 1988), et le méta-hydroxydiphényle pour le dosage des acides uroniques (Blumenkrantz & Asboe-Hansen, 1973). La concentration en oses neutres est obtenue par référence à une gamme étalon d'arabinose et celle des oses acides avec une gamme étalon d'acide glucuronique (Monsigny *et al.*, 1988).

Caractérisation qualitative des résidus glycosidiques

Afin de déterminer la composition osidique d'un polysaccharide, on procède à son hydrolyse (Ruiz, 2005).

Optimisation de l'hydrolyse des liaisons glycosidiques

Le suivi cinétique d'une hydrolyse est une étape préliminaire indispensable pour définir les conditions optimales de la libération des oses simples et d'oligosaccharides. Les modalités pratiques de la mise en œuvre de l'hydrolyse sont définies en termes de concentration en acide trifluoroacétique 2 M et 4 M sur une période de 5 heures à 100°C d'une part. D'autre part, en fonction de la température à 80 °C et 100 °C tout en gardant la concentration en acide trifluoroacétique fixe à 4 M durant 5 heures. L'évolution du profil est suivie par chromatographie sur couche mince.

Chromatographie sur couche mince des résidus glycosidiques

Pour la présente étude, il sera utilisé différents étalons oses que peuvent renfermer les polysaccharides. Il s'agit du galactose, de l'arabinose, du glucose, de la xylose, du mannose, du fructose et de l'acide glucuronique (Doat, 1974). Les plaques chromatographiques utilisées sont des plaques en gel de silice type Silica gel 60 F 254 de 0.25 mm d'épaisseur (Wang & Fang, 2004). La phase mobile utilisée: Butanol- Acide acétique-Eau, dans les proportions de 2-1-1 (Ruiz, 2005). Le réactif de Nigrum est utilisé comme révélateur des spots (Paulsen *et al.*, 2002).

Caractérisation quantitative des résidus glycosidiques par HPAEC-PAD

La chromatographie à haute performance sur échangeurs d'anions à détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD) permet d'identifier les oses par leur temps de rétention spécifique et de les quantifier après intégration du signal (Chromeleon management system Dionex) par comparaison avec les monosaccharides de référence. Le lyophilisat (3 mg, 0.6% m/v) est placé dans des tubes hermétiques pour être hydrolysé à l'acide trifluoroacétique 4 M pendant 5 heures à 80°C dans un bain Marie à sec thermostaté. Il est ensuite lyophilisé et remis en solution dans 1 ml d'eau distillée. La colonne utilisée est de type CarboPac PA 1 avec un débit d'élution de 1 ml.mn⁻¹ à l'aide d'un système isocratique d'une solution de NaOH 16 mM (éluant A) pendant 10mn, suivie d'un gradient d'acétate de sodium 600 mM (éluant B) en 4 étapes: 0-10mn, 100% de A ; puis de 10 à 40mn, un gradient linéaire de 0% à 100% de B ; puis de 40 à 45 mn à 100% de B ; et enfin de 45 à 60 mn de 100 à 0% de B (Kamerling *et al.*, 2007). Après détection, les différents oses sont identifiés par leur temps de rétention spécifique et quantifiés après intégration du signal hroomeleon management system ionex par comparaison avec des courbes étalons établies avec les monosaccharides de référence (Sigma).

Effet prébiotique d'hydrolysats partiel des polysaccharides sur *Bifidobacterium longum*

Toute substance non digestible qui induit un effet physiologique bénéfique à l'hôte en stimulant de façon spécifique la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le côlon comme *Lactobacillus* spp et *Bifidobacterium* spp possède un effet prébiotique. Parmi ces substances, on trouve certains

oligosaccharides et polysaccharides (Rousseau, 2004). Les oligosaccharides issus de la dégradation de polysaccharides naturels comme les fructooligosaccharides, les galactooligosaccharides, et les arabinogalactooligosaccharides ont été étudiés pour leur action prébiotique (Delattre, 2005). Face à ce constat, tester l'activité des oligosaccharides issus de l'hydrolyse partielle des 3 extraits polysaccharidiques s'impose.

Hydrolyse partielle des polysaccharides

10 mg de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles lyophilisé est hydrolysé par 2 ml d'acide trifluoroacétique 2 M, à 80°C pendant 3 heures, dans des tubes fermés. Après refroidissement, l'hydrolysate est centrifugé à 2000 g pendant 5 mn. Le surnageant est récupéré. L'acide est évaporé dans un dessiccateur sous vide (Genestie, 2006).

Matériel biologique

L'activité est testée sur *Bifidobacterium longum*, isolé à partir de muqueuses intestinales humaines (adulte). *Bifidobacterium longum* est cultivé sur milieu Trypticase-Soja Bouillon (TSB) sans glucose. Il est constitué de 17 g.l⁻¹ peptone tryptique de caséine, 3 g.l⁻¹ peptone papainique de soja, 5 g.l⁻¹ de NaCl et de 2,5 g.l⁻¹ de phosphate dipotassique. Le milieu est autoclavé à 121°C pendant 15 mn. Le pH final est de 7,3 (Marchal *et al.*, 1987).

Mesure de l'activité biologique

L'activité prébiotique est définie comme les concentrations stimulant, après 24 heures de contact à 37 °C, une croissance bactérienne, mesurée par absorbance à la longueur d'onde de 620 nm, supérieure de 0,1DO par rapport au témoin négatif (milieu de culture sans addition d'oligosaccharides) (Genestie, 2006). On distribue dans un premier temps, dans une série d'écouvillons stériles sur un volume de 1 ml de milieu de culture, des concentrations décroissantes de l'hydrolysate, en régression de 1/2, l'écouvillon représentant l'étalon est constitué seulement de 1 ml de milieu de culture. Puis on ajoute dans chaque écouvillon 1 ml de la suspension bactérienne en phase exponentielle de croissance, diluée de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10⁶ bactéries.ml⁻¹ (Berche *et al.*, 1988). Après 24 heures de culture à 37°C, les mesures des absorbances à 620 nm sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre de type Clinical Chemistry System RA-50 contre une référence constituée de milieu de culture stérile.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Caractérisations de l'extrait brut de polysaccharides

Le rendement de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *M. parviflora* par rapport à la matière sèche est de 1,46%. Atkhamova *et al.* (1997), rapportent un rendement supérieur de *M. mavitana* (Malvaceae), soit 2%. Toutefois, les résultats des analyses physico-chimiques de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *M. parviflora*, montrent des valeurs moyennes de 15 ± 2,64% de cendres totales, 17,14 ± 1,43% de protéines totales et 68,18 ± 0,94% d'oses totaux. Parmi les oses, 55 ± 0,62% sont des oses neutres et 44,96 ± 0,42% sont des oses acides (Tab. 1). Il est trouvé 52,2% d'oses totaux dans l'extrait polysaccharidique des feuilles de *M. mavitana* (Atkhamova *et al.* 1997). Le rapport des pourcentages [oses acides] / [oses neutres] pour l'extrait brut de

polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *M. parviflora* est de 0,81, très proche de ceux de *M. mavritana*, soit 0,91.

TABLEAU 1

Composition de l'Extrait Brut de Polysaccharides

Teneur en oses (%)			Protéines (%)	Cendres (%)
totales	acides	Neutres		
68,18±0,94	44,96±0,42 ^a	55±0,62 ^a	17,14 ± 1,43	15±2,64

a : (%) des oses acides et des oses neutres sont exprimés par rapport aux oses totaux

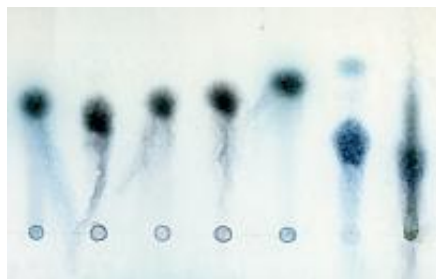
Optimisation de l'hydrolyse des liaisons glycosidiques

Au vu des Figures 1 et 2, les résultats montrent une variation d'hydrolyse des polysaccharides. L'hydrolyse à 4M montre une dépolymérisation notable par rapport à celle de 2M. Le profil chromatographique de l'hydrolysate de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles (Fig. 1), montre une bande de facteur de rétention (R_f) de 0,24 avec des traînées au parcourt de tache, par rapport à 6 ou 7 bandes de R_f variable de 0,23 à 0,66 pour l'hydrolyse à 4M (Fig. 2). En raison de la grande labilité des polysaccharides de l'extrait et le risque d'une altération des oses simples libérés à 4M et à 100°C, il est suivi la cinétique de leur hydrolyse dans des conditions plus douces, en utilisant de l'acide trifluoroacétique à 4 M mais à 80°C durant 5 heures. L'hydrolyse par l'acide trifluoroacétique dans des conditions opératoires douces entraîne une dépolymérisation notable et une bonne résolution des spots par rapport à celle de 4 M à 100°C. La Figure 3 laisse apparaître 8 bandes bien distinctes par rapport à 7 bandes dans la Figure 2 où 4 bandes ont des R_f très proches et intercalées par des traînées (0.36, 0.41) et (0.52, 0.56). Ceci semble correspondre à une altération des oses. Donc un abaissement de la température d'hydrolyse de 100°C à 80°C, semble préserver la structure des oses. L'emploi d'une solution d'acide trifluoroacétique 4M, conduit à une hydrolyse significative après 60 mn de réaction à 80°C, avec apparition de 8 taches (Fig. 4). La concentration de coloration des taches de R_f 0.12 et 0.17 entre 2 et 3 heures semble montrer qu'une augmentation du temps de réaction s'accompagne d'une libération accrue d'entités oligosaccharidiques. La disparition des taches de R_f 0.12 entre 4 et 5 heures, et le renforcement de l'intensité des autres taches semblent indiquer une libération des oses simples; comme l'acide glucuronique, de R_f 0.23, selon Kamerling *et al.* (2007), les liaisons uronosidyles sont extrêmement stables.

Détermination de la composition en oses constitutifs

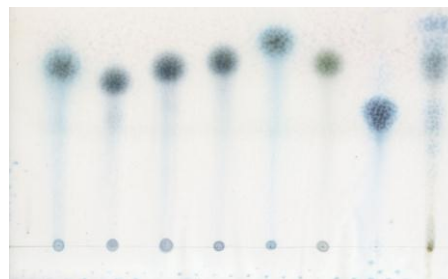
La Figure 5 représente le profil d'HPAEC-PAD de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *M. parviflora*. Il apparaît que l'extrait est constitué principalement de galactose (56,86%), de rhamnose (8,46%), d'arabinose (9,04%), de mannose (5,05%), et d'acide glucuronique (20,57%) (Fig. 6). Les pourcentages des oses constitutifs principaux par rapport au pourcentage de mannose (8,46% sont : Gal/A Glc. /Ara/Rha est 6,72 /2,43 /1,06 /1. Tomoda *et al.* (1989), rapportent comme pourcentage d'oses simples de l'extrait de polysaccharides de feuilles de *M. sylvestris* (Malvaceae), 40,2% de rhamnose, 22,2% de galactose, 16,0% d'acide galacturonique et 16,0% d'acide glucuronique. De même, en plus du glucose dans l'étude d'Atkhamova *et al.* (1997) sur les

polysaccharides hydrosolubles d'extrait des feuilles de *M. mavritana*, avec 10% de rhamnose, 5% d'arabinose, 7,5% de galactose, 1,5% de mannose, 1% de glucose et 27% d'acide uronique. Les polysaccharides des Malvaceae présentent une chaîne Rhamnogalacturonique et des ramifications par des acides uroniques et du galactose (Paulsen *et al.*, 2002). L'analyse des pourcentages des oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *M. parviflora*, montre des valeurs très proches de celles de la gomme arabique soit 32% de galactose, 17-34% d'arabinose, 19% d'acide glucuronique et 11% de rhamnose (Al Assaf *et al.*, 2007).



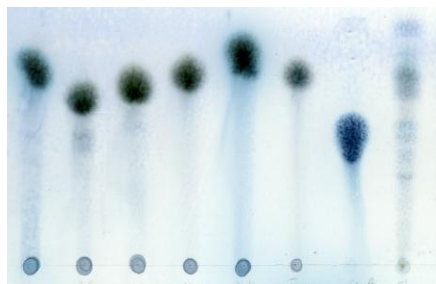
Ara Gal Glc Man Xyl A Glc. M

Figure 1. Chromatogramme d'hydrolysats d'extrait de polysaccharides hydrosolubles (TFA, 2M, 5 h, 100°C, M: *M. parviflora*).



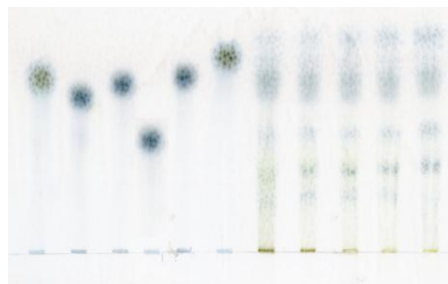
Ara Gal Glc Man Xyl Fru . A Glc M

Figure 2. Chromatogramme d'hydrolysats d'extrait de polysaccharides hydrosolubles (TFA, 4M, 5 h, 100°C, M: *M. parviflora*).



Ara Gal Glc Man Xyl Fru A Glc. M

Figure 3. Chromatogramme d'hydrolysats d'extrait de polysaccharides hydrosolubles, (TFA, 4M, 5 h, 80°C, M: *M. parviflora*).



Ara Gal Glc AGlc.Man Xyl 1h 2h 3h 4h 5h

Figure 4. Suivi par CCM de l'hydrolyse d'extrait de polysaccharides par TFA 4 M à 80°C en fonction du temps.

Effet prébiotique

L'hydrolysats partiel de polysaccharides hydrosolubles de feuilles de *Malva*

parviflora engendre une amélioration de la croissance de *B. longum* comparativement aux témoins négatifs (milieu de culture sans addition d'oligosaccharides) (Fig. 7). L'évolution de l'absorbance en fonction de la concentration d'hydrolysats montre une croissance fluctuante, pour les faibles concentrations et n'est effective qu'à partir de 0,166 mg/mL. La différence d'absorbance des milieux de culture additionnés d'oligosaccharides et l'absorbance de milieu de culture étalon dépasse le 0,1 DO. Ils sont donc considérés à effet prébiotique selon Genestie (2006). Les fluctuations à des faibles concentrations de la multiplication dans les milieux de culture contenant des hydrolysats partiels de polysaccharides révèlent les perturbations métaboliques consécutives au changement de source carbonée (Lambin & German, 1969). L'augmentation de la concentration bactérienne pour l'hydrolysats partiels de polysaccharides semble due à l'effet des oligosaccharides, ce qui reflète leur fermentation (Delattre, 2005). Genestie (2006) attribue un caractère prébiotique à la préparation oligosaccharidique testée dès lors que celle-ci engendre un accroissement de 0,1 DO après 24 heures de culture, comparativement aux valeurs mesurées sur témoin négatif (milieu de culture sans addition d'oligosaccharides) pour certaines bactéries intestinales. Cela est remarqué seulement à 0,333 mg.ml⁻¹.

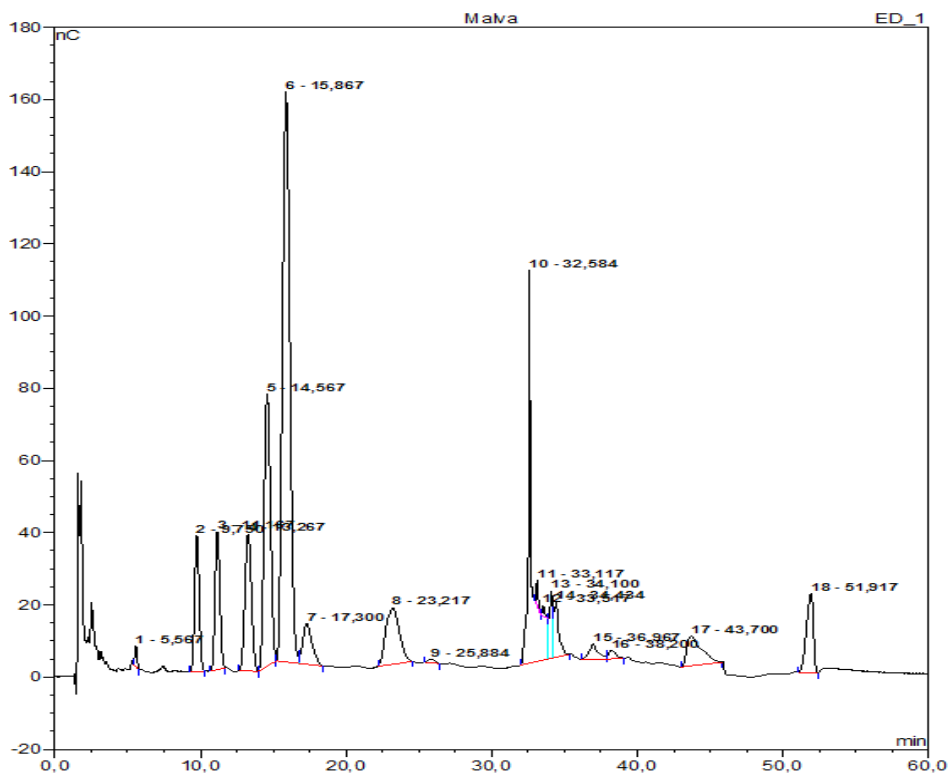


Figure 5. Profil HPAEC des oses constitutifs de polysaccharides hydrosolubles.

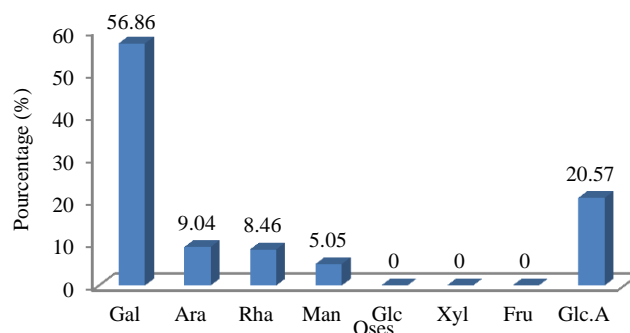


Figure 6. Pourcentage des oses constitutifs de polysaccharides hydrosolubles.

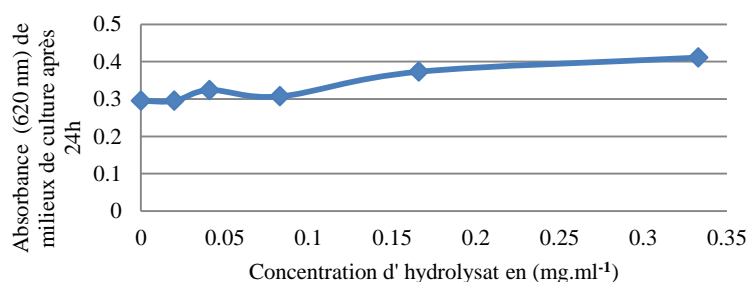


Figure 7. Croissances de *B. longum* après 24 heures en milieu de culture supplémenté par des hydrolysats des polysaccharides hydrosolubles de feuilles de *M. parviflora* à différentes concentrations, estimé par mesure des absorbances à 620 nm.

CONCLUSION

L'étude de la composition de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *M. parviflora* révèle la prédominance des oses neutres. L'hydrolyse par l'acide trifluoroacétique pendant 5 heures à 80°C semble donner les meilleurs résultats. L'analyse des polysaccharides hydrosolubles montre une hétérogénéité et une diversité d'oses; on trouve, en fait, les oses neutres et acides (pentoses et hexoses). Ils sont constitués principalement de galactose, d'acide glucuronique, d'arabinose, de rhamnose, et de mannose. L'action prébiotique des oligosaccharides issus des hydrolysats partiels des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *M. parviflora* sur *B. longum* est appréciable.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Laboratoire Protection des Écosystèmes en Zones Arides et Semi-Arides de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla pour son soutien financier. Ainsi que le Laboratoire de génie chimique et biochimique à l'Université Blaise Pascal de Clermont Ferrand (France) pour sa collaboration.

RÉFÉRENCES

- Al Assaf, S., Phillips, G.O. et Williams, P.A. 2007. Studies on *Acacia* exudate gums. Part I: the molecular weight of *Acacia* senegal gum exudates. *Food Hydrocolloids*, 19: 647-660.
- Aldington, S., Fry, S. 1993. Oligosaccharins. *Adv. Bot. Res.*, 19: 1-101.
- Atkhamova, S.K., Rakhimov, D.A., Kristallovieh, E.L., Karimdzhanov, A.K., et Ismailov, A. I. 1997. Plant polysaccharide. VI. Polysaccharides of representatives of the Malvaceae family. *Chemistry of Natural Compounds*, 33(5): 590- 593.
- Audigie, C., Figarella, J. et Zonszain, F. 1984. *Manipulations d'analyse biochimique*. Ed. Doin, Paris, p. 3-4.
- Autran, J.C. 1991. *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. Ed. Tec et Doc, Paris, p. 115-137.
- Berche, P., Gaillard, J.L., Simonet, M. 1988. *Bactériologie*. Flammarion, Paris, p. 595-599.
- Blumenkrantz, N. et Asboe-Hansen, G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54: 484-489.
- Delattre, C. 2005. *Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes*. Thèse de doctorat de l'université de Picardie Jules Verne, Valois Santerre, p. 5-10.
- Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K. et Maiga, A. 2004. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Chimie*, 7: 1073-1080.
- Doat, J. 1974. Application de la chromatographie sur couche mince à l'analyse des gommages et des bois tropicaux. *Revue Bois et Forêts Tropiques*, 156: 63-74.
- Ebringerova, A., Kardosova, A., Hromadkova, Z. et Hribalova, V. 2003. Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, 74: 52-61.
- Genestie, B. 2006. *Optimisation de la production d'arabinoxyloligosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales: approches méthodologiques*. Thèse de doctorat de l'université de Limoges, p. 30-50.
- Ghatak, S., Misra, S., Toole, B.P. 2002. Hyaluronan oligosaccharides inhibit anchorage-independent growth of tumor cells by suppressing the phosphoinositide 3-kinase/Akt cell survival pathway. *J. Biol. Chem.*, 277(41): 38013-38020.
- Kamerling, G.L., Boons, G.L., Lee, Y.C., Suzuki, A., Taniguchi, N. et Voragen, A. 2007. *Comprehensive glycoscience*. Ed. Elsevier, vol. 2, Paris, p. 654-681.
- Lambin, S. et German, A. 1969. *Précis de microbiologie*. Ed. Masson et cie, Paris, 515 p.
- Liu, G., Casqueiro, J., Gutierrez, S., Kosalkova, K., Castillo, N.I., Martin, J.F. 2001. Elicitation of penicillin biosynthesis by alginate in *Penicillium chrysogenum*, exerted on pcbAB, pcbC, and penDE genes at the transcriptional level. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 11(5): 812-818.
- Marchal, N., Bourdon, J.L., Richard, Cl. 1987. *Les milieux de culture*. Ed. Doin, Paris, 36 p.
- Monsigny, M., Petit, C. et Roche, A.C. 1988. Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acid micromethod. *Analytical Biochemistry*, 175: 525-530.
- Paulsen, B.S., Olafsdottir, E.S. et Ingolfssdottir, K. 2002. Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. *Journal of Chromatography A*, 967: 163-171.

- Petit, E., Papy, D., Muller, G., Caruelle, J.P., Courtois, J. 2004. Controlled sulfatation of natural anionic bacterial polysaccharides can yield agents with specific regenerating activity *in vivo*. *Biomacromolecules*, 5(2): 445- 452.
- Pineo, G.F. et Hull, R.D. 1997. Low-molecular-weight heparin: prophylaxis and treatment of venous thromboembolism. *Annu. Rev. Med.*, 48: 79-91.
- Ruiz, G. 2005. *Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges*. Thèse de doctorat de l'université de Limoges, p. 36-38.
- Rousseau, V. 2004. *Évaluation d'oligosaccharides à effet prébiotique vis-à-vis de la microflore vaginale*. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, Cedex 4, pp. 42-54.
- Tomoda, M., Kanari, M., Gonda, R. et Shimizu, N. 1989. A reticuloendothelial system-activating glycan from the seeds of *Malva verticillata*. *Phytochemistry*, 28: 2609-2611.
- Wang, Q. et Fang, Y. 2004. Analysis of sugars in traditional Chinese drugs. *Journal of Chromatography B*, 812: 309–324.
- Wu, Y., Cui, S.W., Tang, J., Wang, Q. et Gu, X. 2007. Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited *Sterculia* seeds. *Carbohydrate Polymers*, 70: 437–443.