



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

N° d'ordre :

N° de série :

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

### THEME

**Extraction, caractérisation physicochimique des polysaccharides  
de déchet d'olive Chemlal**

Présenté par :

M<sup>elle</sup> BOUCHOUL Mouna

M<sup>elle</sup> SALHI Rania

Devant le jury composé de :

Président : Dr. MEDILA Ifriqya

M.C.A, Université d'El Oued

Examineur : Dr. AOUMER Meriem

M.A.A, Université d'El Oued

Promoteur : Dr. GHANIA Ahmed

M.A.A, Université d'El Oued

## **Remerciement**

*Au début nos remerciements vont en particulier à Dieu, le tout puissant, qui nous a donné la force et le courage pour poursuivre nos études.*

*Au moment où s'achève ce travail, permettez-nous de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant ce temps de travail, nous ont dirigés, soutenus, aidés et encouragés.*

*Notre première dette de gratitude doit aller à **Mr.GHANIA Ahmed** à la Faculté des sciences naturelles et de la vie à l'université D'Echahid Hamma Lakhdar \_El Oued, avec qui nous avons eu le grand plaisir de travailler tout au long de ce mémoire.*

*Nous avons trouvé auprès de lui rigueur et disponibilité. Il nous est particulièrement agréablement de le remercier pour l'aide constante et efficace qu'il n'a cessé de nous prodiguer. Qu'il en soit vivement remercié.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements et notre reconnaissance à **Mme. MEDILAIfriqya** est enseignante à la Faculté des sciences naturelles et la vie à l'Université El-Oued, car elle nous a fait l'honneur de présider ce jury*

*Nous exprimons également notre profonde gratitude à **Mme. AOUIMEUR Meriem** Faculté des sciences naturelles et la vie à l'Université El-Oued, qui a consacré son temps revoir ce travail.*

*A l'ensemble du personnel des laboratoires où les analyses ont été réalisées, **GOUBI Sana, SOLTANE Abdelhak, BENAMMARA Selma, KHATRAOUI Latifa**, nous présentons nos vifs remerciements pour leurs conseils et aides constants.*

**MOUNA & RANIA**

## ***Dédicaces***

*A ceux qui m'ont donné tous sans demander rien en retour, A ceux qui m'ont encouragé et*

*Soutenu dans mes moments les plus difficiles, Et ceux à qui je dois tant.*

*A mes chers parents "**Rabah** et **BOUCHOUL Zohra**" pour leur amour et leur support continu,  
Je vous dois tous mes sucées, tous mes bonheurs et toutes mes joies. Je suis très heureuse et fière  
de votre présence à mes côtés.*

*Je vous aime qu'Allah vous protèges.*

*Mes adorables et précieux chers frères **Nasreddine, Hicham, Oualid** et **Abdallah**, leur  
encouragement et leur soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments  
pénibles, de solitude et de souffrance. Merci d'être toujours à mes côtés, par leur présence, par  
leur amour dévoué et leur tendresse, pour donner du goût et du sens à ma vie.*

*Que Dieu vous protèges et vous gardes.*

*À mes amis (es): **kaouther, Kenza, Imaen, Hadjer** et **Nassima***

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons  
passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et  
mon affection la plus sincère.*

*À mon beau binôme **Rania** qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*Et a tous mes amis et mes collègues de promotion.*

***MOUNA***

## ***Dédicaces***

*Quoi que de plus que de pouvoir partager les meilleurs Moments de sa vie avec les êtres qu'on aime. Arrivé au terme de mes études, j'ai le grand plaisir de Dédier ce modeste travail A mes chers parents **El Djelani** , **NESIB Yamina**.*

*Je remercie particulièrement mon très cher père "**El Djelani**" pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour Et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices bien que je ne vous en acquitterai jamais assez*

*Je vous aime qu'Allah vous protèges.*

*À vous mes frères **Mouhamed, Hamza, Abdelmagid, Bilal et AbdElraouf**, et soeures **Atika, Karima ,widad et Nassima** ,et vos familles .En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur.*

*À mes belles sœurs: **Sabah, Samira, Nour elhouda***

*A notre petit ange **Iyad** en lui souhaitant un bon rétablissement.*

*A ma inspiration dans cette vie **Hadil**, le symbole de la lutte.*

*Que Dieu vous protèges et vous gardes.*

*À mes amis (es) : **Manel et Houria***

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère. Aussi à ma beau binôme **Mouna** qui a travaillé avec moi cet mémoire ,et a tous mes collègues de la promotion.*

*Enfin, à tout le peuple palestinien colonialisme, nous demandons à Dieu une victoire proche.*

**RANIA**

# *Résumé*

## *Résumé*

L'objectif de notre travail est l'étude des activités biologique antioxydant, anti-inflammatoires, anticoagulant, anti hémolyse et antibactérienne des polysaccharides hydrosolubles noyaux d'olives (PNOH) et polysaccharide alcalisolubles noyaux d'olives 0,5M (PNOA 0,5) , polysaccharide alcalisolubles noyaux d'olives 4M (PNOA 4M) des noyaux d'olives récoltée dans la région de EL-OUED. Les rendement massique des extraits des polysaccharides sont PNOH (0,53%), PNOA 0,5M(4,346%), PNOA 4M(28,04%). Les teneurs en oses totaux sont des PNOH(12,14%), PNOA 0,5M(2,4%), PNOA 4M(0,6%). Les protéines représentent faible teneurs se situant entre (0,28%) et (0,36%).

L'activité anticoagulante de fraction testées le temps de TCK sont de PNOH(34,75s), PNOA 0,5M(34,5s) et PNOA 4M (35,5s). Le suivie des tests d'activité antioxydant en trois test défèrent : DPPH obtenir PNOH (7,61%), PNOA 0,5M (0,51%) , PNOA 4M (0,76%) et possède forte activité dans le test FRAP obtenir PNOH(95,94%), PNOA 0,5M(95,93%), PNOA 4M(96,04%) et test  $\beta$ -carotène obtenir moyenne activité PNOH(35,54%), PNOA0,5M(39,79%), PNOA 4M(41,9%) . Tous les extrait PNOH, PNOA 0,5M, PNOA4M possèdent un fort activité anti inflammatoire et activité anti hémolyse possède un forte activité par PNOA 0,5M(77,84%) . Mais dernier activité anti-bactéries ne pas présenter dans extrait.

**Mots clés :** polysaccharides, noyaux d'olives, Chemlal, activités biologique, valorisation.

## الملخص

الهدف من عملنا هو استخلاص و دراسة النشاط المضاد للأكسدة ومضاد الالتهابات ومضاد التخثر وانهلال الدم والنشاط البيولوجي المضاد للبكتيريا من السكريات القابلة للذوبان في الماء لنوى الزيتون (PNOH)والسكريات القابلة للذوبان في القلويات لنوى الزيتون0.5 (PNOA0,5M)والسكريات القابلة للذوبان في القلويات4(PNOA4M). لنوى الزيتون التي يتم حصادها في منطقة الوادي ، المرود الكتلي للمستخلصات السكريةوالسكريات القابلة للذوبان في الماء(0,53%) PNOH، (4.346%) PNOA0.5M، (28.04%) PNOA4M. ولقد كانت قيمة السكريات الكلية في كل مستخلص هي (12.14%) PNOH، (2.4%) PNOA0.5M، (0.6%) PNOA4M. تمثل البروتينات مستويات منخفضة تتراوح بين (0.28%) و(0,36%).

النشاط المضاد للتخثر للجزء الذي تم اختباره في وقتTCK هو (34.75s) PNOH و PNOA0.5 (34.5s) و(35.5s) PNOA4. كما تم متابعة اختبارات نشاط مضادات الأكسدة في ثلاث اختبارات: DPPH: تم الحصول على(7.61%) PNOH، (0.76%) PNOA 0.5 و(0.51%) PNOA 4 بينما تمتلك نشاطا قويا في اختبار FRAP تم الحصول على(95.94%) PNOH، (95.93%) PNOA0.5 و(96.04%) PNOA4، كما حصلنا على نتائج متوسطة لنشاط التبييض بيتا كروتين (35.54%) PNOH، (39.79%) PNOA0.5 و(41.9%) PNOA4.

تحتوي جميع المستخلصات PNOH، PNOA0.5، PNOA4 على نشاط قوي مضاد للالتهابات. أما مضاد لانهلال الدم كان له نشاط قوي في المستخلص (77.84%) PNOA0.5. ولكن ان آخر نشاط مضاد للبكتيريا غير موجود في المستخلص .

**الكلمات المفتاحية :** عديد السكريات ، نواة الزيتون ، شمال ، النشاطات البيولوجية ، تقييم.

## Abstract

The objective of our works the study of antioxidant, anti-inflammatory, anticoagulant, anti-hemolytic and antibacterial biological activity of water-soluble polysaccharides olives seeds (PNOH) and alkali-soluble polysaccharides olives seeds 0.5M (PNOA0,5M), alkali-soluble polysaccharides olives seeds 4M (PNOA4M) of olive pits harvested in the EL-OUED region. The mass yields of the polysaccharide extracts are PNOH (0.53%), PNOA 0.5M (4.346%), PNOA 4M (28.04%). The total ose contents are PNOH (12.14%), PNOA 0.5M (2.4%), PNOA4M (0.6%). The proteins represent low levels ranging between (0.28%) and (0.36%).

The time-tested fraction anticoagulant activity of TCK are PNOH (34.75s), PNOA 0.5M (34.5s) and PNOA 4M (35.5s). The follow-up of antioxidant activity tests in three tests challenge: DPPH to obtain PNOH (7.61%), PNOA 0.5M (0.51%), PNOA 4M (0.76%) and has high activity in the FRAP test to obtain PNOH (95.94%), PNOA 0.5M (95.93%), PNOA 4M (96.04%) and  $\beta$ -carotene test obtain average PNOH activity (35.54%), PNOA0.5M (39.79%), PNOA 4M (41.9%) All the extracts PNOH, PNOA 0.5M, PNOA 4M have a strong anti-inflammatory activity and anti-hemolysis activity has a strong activity by PNOA 0.5M (77.84%). But last anti-bacteria activity not present in extract.

**Keywords:** polysaccharides, olive seeds, Chmlal, biological activities, valorization.

# Liste des abréviations

**PNOH** : polysaccharide hydrosoluble de noyaux d'olive.

**PNOA** : polysaccharide alcalisoluble de noyaux d'olive.

**Abs** : Absorbance.

**AC**: absorbance du control.

**At** : absorbance du test.

**BSA**: Sérum Albumine Bovine.

**BHT**: Buty hydroxy toluène.

**BIO CK**: Réactif de céphaline-Kolin.

**C**: Concentration.

**C°**: Degré Celsius.

**Cacl2**:Chlorure de Calcium.

**DPPH**: Diphényle picrylhydrazyl.

**DO**: Densité optique.

**EDTA**: Ethylène diamine tétra acétique.

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power(Puissance de l'activité de la réduction ferrique).

**Fe**: Fer

**Fe2**:Ion ferreux.

**Fe3**:Ion ferrique.

**Fecl3**:Chlorure ferrique.

**FAO**: Food Agriculture Organisation (organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).

**G**:Gramme.

**G/l**: gramme par litre.

**GM**: Galactomannanes.

**HCL**: Chlorure Hydrogène.

**H2O2**: Le peroxyde hydrogène.

**H2O**: Eau.

**H:** heure.

**IC 50:** Concentration D'inhibition de 50%.

**I%:** Pourcentage d'inhibition.

**KOH:** Hydroxyde de Potassium.

**Ml:** millilitre.

**Mg:** milligramme.

**Mg/ml:** milligramme par millilitre.

**Mm:** millimètre.

**Mole:** Concentration molaire (molarité).

**Min:** minute.

**M:** Moyenne.

**MH:** Mueller-Hinton.

**µl:** microlitre.

**µg/ml:** microgramme par millilitre.

**Nm:** nanomètre.

**N°:** Nombre.

**PH:** Potentiel Hydrogène.

**R:** Rendement.

**TCK:** Temps du céphaline-Koline.

**TCA:** Acide trichloracétique.

**Tr/min:** Tour par minute.

**T°:** Température.

**UV:** Ultra-violet.

**UV-VIS:** visible spectrophotomètre.

**Vit C:** Vitamine C.

**%:** Pourcentage.

### Liste de tableaux

<b>N</b>	<b>Titre des tableau</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	La classification botanique de l'olivier	<b>07</b>
<b>02</b>	Principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie : Orientation variétales de l'olivier en Algérie	<b>14</b>
<b>03</b>	Apport nutritionnel moyen de 100 g d'olive noir	<b>15</b>
<b>04</b>	Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose	<b>35</b>
<b>05</b>	Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose	<b>36</b>
<b>06</b>	Rendements massiques d'extraction de lipides et polysaccharides des noyaux d'olives	<b>45</b>
<b>07</b>	Contenu des extraits de polysaccharides de noyau d'olives Chemlal	<b>46</b>

## Liste des figures

N	Titres des figures	Page
<b>01</b>	Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde	<b>08</b>
<b>02</b>	Répartition des oliviers dans la région méditerranéenne	<b>08</b>
<b>03</b>	Arbre d'olivier cultivé	<b>11</b>
<b>04</b>	Le tronc d'olivier	<b>12</b>
<b>05</b>	Feuilles de l'oliviers	<b>12</b>
<b>06</b>	Les fleurs d'oliviers	<b>12</b>
<b>07</b>	Composition du fruit d'olive	<b>13</b>
<b>08</b>	Structure du glycogène	<b>21</b>
<b>09</b>	Structure de l'héparine	<b>21</b>
<b>10</b>	Structure de la cellulose	<b>22</b>
<b>11</b>	Structure pectin	<b>23</b>
<b>12</b>	Structure du l'amylose	<b>24</b>
<b>13</b>	Structure de galactomannane	<b>24</b>
<b>14</b>	Situation géographique de la région du Souf	<b>30</b>
<b>15</b>	Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de noyaux d'olive	<b>32</b>
<b>16</b>	Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides alcalisolubles (0.5 et4) à partire des noyaux d'olive	<b>33</b>
<b>17</b>	Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides	<b>34</b>
<b>18</b>	Temps de céphaline activée (TCA) de trois extraits polysaccharides de noyaux d'olives de cultives Chemlal à un concentration 10 µg /ml	<b>47</b>
<b>19</b>	Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration 50 µg/ml par Test DPPH	<b>48</b>
<b>20</b>	Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration mg/ml par Test FRAP	<b>49</b>
<b>21</b>	Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration mg/ml par Test	<b>50</b>

<b>22</b>	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrait mg/ml	<b>50</b>
<b>23</b>	Histogramme comparatif d'taux Hémolyses d'acide ascorbique et des trois extraits testés en concentration mg/ml	<b>52</b>
<b>24</b>	Histogramme comparatif d'taux Anti-hémolyses et des trois extraits testés en concentration mg /ml	<b>52</b>

### Liste de Photos

<b>N</b>	<b>Titre des Photos</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Noyaux d'olives	<b>17</b>
<b>02</b>	Poudre du noyau d'olives	<b>31</b>
<b>03</b>	Effet de l'extrait PNOH. PNOA0,5 . PNOA4 sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>53</b>
<b>04</b>	Effet de l'extrait PNOH. PNOA0,5 . PNOA4 sur la croissance <i>d'Escherichia coli</i>	<b>53</b>
<b>05</b>	Effet de l'extrait PNOH. PNOA0,5 . PNOA4 sur la croissance de <i>staphylococcus aureus</i>	<b>53</b>

# Sommaire

Remerciement.....	2
Dédicaces .....	3
Résumé .....	6
Liste de tableaux.....	11
Liste des figures .....	12
INTRODUCTION.....	20

## Partie Bibliographique

### chapitre I Généralité sur l'olive

I.1. Historique et origine: .....	6
I.2. Classification botanique d'olivier :.....	7
I.3. Répartition géographique de l'Olivier:.....	7
I.3.1. Répartition géographique en le monde : .....	7
I.3.2. Répartition géographique en Algérie :.....	8
I.3.3. Répartition géographique en Sud de l'Algérie : .....	9
I.4. Définition Olive : .....	10
I.5. Caractéristiques morphologiques de l'olivier :.....	10
A - Arbre: .....	10
B – Système des racines : .....	11
C - System aérienne : .....	11
I.6. Les principales variété olive en Algérie: .....	13
I.7. Caractéristiques de la variété Chemlal :.....	14
I.8. La valeur nutritionnelle de l'olive: .....	15
I.9. Propriétés d'olives: .....	16
A - Propriété nutritionnelles:.....	16

B- Propriété de la fleur d'olivier: .....	16
I.10.Noyau d'olive: .....	16
I.11.Poudre de noyaux d'olive : .....	17
A – Utilisations des noyaux d'olives au cosmétique et la santé : .....	17
B-Poudre de noyaux d'olives pour différentes applications industrielles : .....	18

## **Chapitre II Généralités sur les polysaccharides**

II.1.Définition : .....	20
II.2.Classification du polysaccharide : .....	20
II.2.1. Selon la structure : .....	20
II.2.1.1. Homopolysaccharides: .....	20
II.2.1.2. Hétéropolysaccharides : .....	20
II.2.2. Selon l'origine : .....	20
II.2.2.1. Polysaccharides animaux : .....	20
II.2.2.2. Polysaccharides végétaux : .....	22
II.2.2.3. Les polysaccharides de réserves : .....	23
II.3. Activités biologiques des polysaccharides : .....	24
II.3.1. Activité anticoagulante : .....	25
II.3.2. Activité antioxydante : .....	26
II.3.3. Activité anti-inflammatoire : .....	26
II.3.4. Activité antiviral : .....	27

## **Partie Pratique**

### **Matériel et Méthodes**

I.1. Principe d'étude : .....	30
I.2. Situation géographique de la région d'Oued Souf : .....	30
I.3. Matériel d'étude : .....	31
I.3.1 .Matériel non biologique : .....	31
I.3.2. Matériel biologique : .....	31
I.4. Méthodologie de travail : .....	31

I.4.1. Extraction des polysaccharides hydrosolubles :	31
I.4.2. Extraction des polysaccharides alcalisolubles :	32
I.5. Extraction des polysaccharides :	34
I.5.1. Rendement d'extraction :	34
I.5.2. Dosage des composants des extraits bruts des polysaccharides :	34
I.5.2.1. Dosage des oses totaux :	35
I.5.2.2. Dosage des oses neutres :	35
I.5.2.3. Dosage des protéines :	36
I.6. Activités biologiques des polysaccharides :	37
I.6.1. Evaluation in vitro de l'activité anticoagulante :	37
I.6.2. Activité anti-oxydante :	38
I.6.2.1. Test de piégeage du radical DPPH :	38
I.6.2.2. Teste de la réduction ferrique (FRAP) (Ferricreducingantioxidant power):	39
I.6.2.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène :	40
I.6.3. Activité anti-inflammatoire :	40
I.6.4. Test hémolytique :	41
I.6.4. Activité antibactérienne:	42

## **Chapitre II**

### **Résultats et Discussion**

II.1. Rendement d'extraction :	45
II.2. Contenu de polysaccharides des noyaux d'olives :	45
II.3. L'activité biologique :	46
II.3.1. Activité anticoagulante :	46
II.3.2. Activité antioxydante :	47
II.3.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH :	48
II.3.2.2. Réductions du fer FRAP :	49
II.3.2.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène :	49
II.3.3. Activité anti-inflammatoire :	50

II.3.4.Activité hémolytique : .....	51
II.3.5.Activité anti-hémolytique : .....	52
II.3.6.Activités antibactérienne : .....	53
Conclusion.....	54
Références .....	57
Annexes .....	68

# **Introduction**

---

## INTRODUCTION

L'olivier (*Olea europea*L.), arbre ancestral profondément ancré dans les civilisations méditerranéennes et arabo - musulmanes, a toujours constitué, de par sa forte charge emblématique en termes de paix et de prospérité, un facteur d'atténuation des clivages culturels des peuples du bassin méditerranéen.

De nos jours, la place de l'oléiculture sur l'échiquier agricole méditerranéen ne cesse de se raffermir et le rayonnement de ses produits sur le marché mondial des denrées alimentaires ne fait que s'élargir (**Mataix et Barbancho., 2006**). Les produits de l'olivier, aux vertus nutritionnelles et sanitaires et aux propriétés physicochimiques confirmées, a franchi les frontières traditionnelles de consommation pour aller conquérir de nouveaux marchés en Amérique du Nord, en Asie, au Moyen Orient et en Australie (**Loussert et Brousse., 1978**).

Par ailleurs, cette plante constitue un thème scientifique qui n'a cessé d'interpeller les chercheurs dans différents domaines tels que la géographie rurale, la sociologie, l'anthropologie, l'économie, l'écologie, la médecine, l'agronomie, la biologie et la génétique (**Claridge et Walton., 1992**).

Actuellement, l'oléiculture a suscité un intérêt particulier à l'échelle mondiale, mais aussi au niveau d'autres continents notamment américain et australien (**Cuneo et Leishman.,2006, Binetet al., 2007**).

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

L'olivier est de longue date connu en Algérie, il aurait été importé par les phéniciens puis développé par les berbères. Notre verger oléicole comprend une diversité variétale répartie sur ses différentes régions oléicoles. Elle représente la culture fruitière la plus répandue; et couvre 24% de la surface agricole utilisée soit 234 177 ha répartis notamment sur les zones Est et Centre-Est du pays, en particulier Bejaia, TiziOuzou, Bouira, Bordj-Bourreridj, Sétif, Ouedsouf et Jijel, qui représentent ensemble 69% de la superficie totale de l'oléiculture (**Boukhari. ,2014**).

Les polysaccharides sont des biopolymères organiques naturelle largement présente chez les animaux, les plantes et les microorganismes. Récemment, les polysaccharides ont attiré une attention considérable en raison de leur utilisation répandue dans des domaines industriels tels que les produits alimentaires et pharmaceutiques (**Song et al .,2019; Mirzadeh., 2019**). Ils représentent les candidats les plus attractifs pour les applications biomédicales à cause de leurs propriétés physicochimiques exceptionnelles, de leur biocompatibilité, et al de leur biodégradabilité et de leur no toxicité (**Salama et al ., 2020**) .

Les polysaccharides végétaux sont devenus une classe importante de produits naturels bioactifs et largement utilisés dans les produits pharmaceutiques et les biomatériaux. Ils possède en diverses activités biologiques, telles que les effets immun stimulateurs, antioxydants, anti-inflammatoires, antiviraux, anti tumoraux, radio protecteurs, hépato protecteurs et antifatique (**Lukova et al ., 2017**)

L'objectif de notre travail est l'extraction et la caractérisation physico-chimique des polysaccharides des noyaux des d'olive variété Chemlal évaluer et valoriser leurs activités biologiques. Ce document est présenté selon le plan suivant et qui comprend :

- Partie Bibliographique

Chapitre 01: Généralité sur l'olive et la caractérisation physico-chimique des noyaux de olives,

Chapitre 02: Généralités sur les polysaccharides, leur composition chimique et utilisations avec des généralités sur les polysaccharides et leur intérêt et leur rôle.

- Partie Pratique

Chapitre 01: la méthodologie d'extraction, la caractérisation et l'évaluation de quelques activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles et alcali solubles des noyaux d'olive de cultivars Chemlal.

Chapitre 02: les principaux résultats obtenus avec la discussion et enfin une conclusion générale.

# **Partie Bibliographique**

# **CHAPITRE I**

**Généralité sur l'olive :**

### I.1. Historique et origine :

L'olivier a une origine très ancienne son apparition et sa culture remonterait à la préhistoire(Viila.,2006).De tout temps l'olivier a été associé à des vertus telles que la sagesse, la paix, la victoire, la richesse et la fidélité(Besnardetberville. ,2005).

*Olea europaea* est une espèce domestiquée de l'oléastre, plante endémique de la zone méditerranéenne connue depuis 50 000 ans, arrivé e d'Asie en passant par la Grèce antique et Lemoyne-orient (Syrie, Palestine)(Fouine et Sarfati.,2002; Bedgaoui et Bensalem, 2012).D'après l' origine de l'olivier reste toujours incertaine,mais le plus fréquemment retenue désigne la Syrie et l'Iran comme lieux origine (Besnard et Berville. ,2005).

En Islam, l'olivier symbolise la présence du prophète. Grâce à cet arbre béni, l'humanité dispose de la lumière que fait naître la lampe à huile, cette lueur divine qui rapproche les hommes d'Allah. On y retrouve cette évocation dans la vingt-quatrième sourate du Coran, verset 35 «Allah est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est semblable à celle d'une lampe allumée grâce à un arbre béni, un olivier dont l'huile éclairerait même si nul feu ne le touchait(Henry.,2003).

En Afrique du Nord, la culture de l'olivier existait déjà avant l'arrivée des romains, car les berbères savaient greffer les oléastres (Camps-fabrer, 1953). Cependant, les romains ont permis l'extension des champs aux régions plus arides, considérées jusqu'alors comme peu propices à cette culture. C'est le cas de la région de Sufetula, l'actuelle Sbeïbla en Tunisie(Barbery et Delhoune., 1982). De plus, une foule de mosaïques trouvée en Tunisie et en Algérie témoigne de l'importance de l'olivier dans la civilisation romaine(Camps-fabrer,1953). La colonisation française a contribué à l'extension de l'oléiculture en Afrique du Nord, telles que l'oliveraie de Sfax en Tunisie, de Sig en Algérie(Mendil et Sabri ., 2006) et des oliveraies entre Meknès et Fez, au Maroc(Loussert et Brousse.,1978).

En Algérie les hommes du néolithique au sein du tassili ont su conserver cette histoire avec des gravures rupestres sur les rochers, ces dessins représentent des hommes couronnés de rameaux d'olive et cela remonte de 5000 à 2500 avant J.C.(Eihachemil.,2010).

## I.2. Classification botanique d'olivier :

L'olivier fait partie de la famille des Oléacées. Le naturaliste suédois Carl Von Linné a regroupé au XVIIIe siècle les variétés d'olivier sous le genre d'*Olea* comportant diverses espèces parmi lesquelles seule *Olea europaea* L. porte des fruits comestibles et qui se subdivise en trois grandes sous-espèces (**Ghout et Hadjam., 2013**): Euroméditerranéenne, La Perrin et Cuspidata. La sous- espèce *Euromediterranea* se subdiviserait en deux grands groupes :

-L'oléastre : ou olivier sauvage (*Olea europaea* var. *oleaster*).

-L'olivier cultivé : ou olivier domestiqué (*Olea europaea* var. *sativa*).

**Tableau 1:** La classification botanique de l'olivier (**Guignard., 2004**):

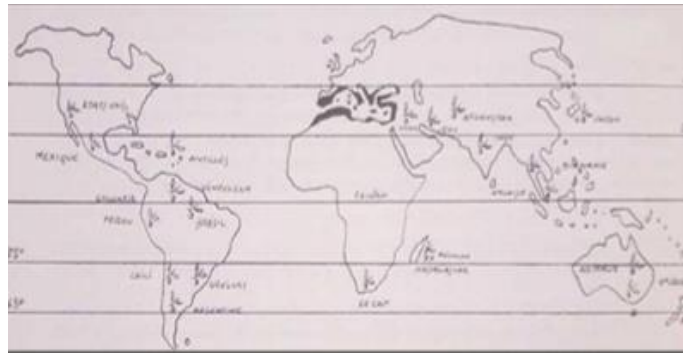
<b>Embranchement</b>	<i>Spermaphytes</i>
<b>Sous-embranchement</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Classe</b>	<i>Eudicotyledones</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Astèridées</i>
<b>Ordre</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Oléacées</i>
<b>Genre</b>	<i>Olèa</i>
<b>Espèce</b>	<i>Olèa européa</i>

La famille des oléacées comporte environ 30 genres et 600 espèces. L'espèce *Olea europaea* a longtemps été subdivisée en deux sous-espèces, *Olea europaea* var. *Europeaea* pour l'olivier domestique, et *Olea europaea* var. *sylvestris* pour l'oléastre, ou olivier sauvage (**Guignard et al. ,2004; Tourteet al. ,2005**).

## I.3. Répartition géographique de l'Olivier:

### I.3.1. Répartition géographique en le monde :

La zone naturelle de répartition géographique de l'olivier dans le monde se situe principalement entre le 26e et le 45e degré de latitude nord et sud (Fig :01), ce qui explique son introduction avec succès en Chine, au Japon, aux Etats Unis (Californie), et au Mexique pour l'hémisphère nord, en Australie, en Afrique du Sud et dans divers pays de l'Amérique du Sud pour l'hémisphère Sud (**Aouidi., 2012**).



**Figure01** : Zone de répartition géographique de la culture de l'olivier dans le monde (Pagnol., 1996)

On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (Ghalmirym., 2012).



**Figure02**: Répartition des oliviers dans la région méditerranéenne (Argenson., 2008)

L'oléiculture joue un rôle prépondérant dans cette région tant sur le plan agro économique, que social et environnemental (Nasales.,2006).

La surface oléicole mondiale est estimée à 8. 600 000 ha pour une production d'environ 17,3 millions de tonnes d'olives, sur laquelle sont plantés plus de 800 millions d'oliviers. Les quatre premiers pays producteurs (Espagne, Italie, Grèce et Turquie) représentent 80% de la production mondiale d'olives et les dix premiers, tous situés dans la zone méditerranéenne (Argenson.,2008).

### I.3.2. Répartition géographique en Algérie :

L'oléiculture représente la culture fruitière la plus répandue en Algérie. C'est l'un des pays du bassin méditerranéen dont les conditions climatiques favorisent la culture de l'olivier. Il

ne faut pas oublier que même pendant la période coloniale, l'oléiculture était une filière totalement algérienne (Aït mouloud., 2014).

L'oléiculture algérienne est constituée d'environ 32 millions d'arbres (Bensemmane., 2009; Mendil., 2009), répartie sur une superficie d'environ 328.884 hectares (Fao., 2013), soit 34,09% du verger arboricole national. L'olivier, de par ses fonctions multiples de lutte contre l'érosion, de valorisation des terres agricoles et de fixation des populations dans les zones de montagne, s'étend sur tout le territoire national. D'après Chaux in (Sekoura., 2012), il se concentre notamment dans trois principales zones (Siouda et Lalami., 2020).

L'oliveraie algérienne se répartit sur trois zones oléicoles importantes :

**A)** - La zone de la région ouest, représentant 31 400 hectares répartis entre Cinq wilayas: Tlemcen, Ain Ti mouchent, Mascara, Sidi Belabas et Relizan. Cette zone représente 16,40 du verger oléicole national (Sekour., 2012).

**B)** - La zone de la région centrale du pays, de loin la plus importante, couvre une superficie de 110200 hectares répartis entre les wilayas d'Ain Defla, Blida, Boumerdés, Tizi Ouzou, Bouira et Bejaia : cette zone représente 57,5 du verger oléicole national. La région de centre, Kabylie (Bouira, Bejaia et Tizi-Ouzou) détient à elle seule près de 44% de la superficie oléicole nationale, il s'agit surtout des vergers extensifs situés sur des sols à forte déclivité, ce qui constitue une contrainte à tout recours à l'intensification (Sekour., 2012).

**C)** - La zone de la région Est, est représentée par des oliveraies de 49900 hectares, donc 26,1 du patrimoine national, et répartis entre les wilayas de Jijel-Skikda-Mila et Guelma (Sekour., 2012).

En effet la production nationale d'huile d'olive est estimée à 28.595 t/an et ne couvre qu'environ 30 à 40 % des besoins nationaux en huile végétale alimentaire fluide, tandis que la production d'olives de table est estimée à 72.920 t/an (Oudina et Baziz., 2017).

### **I.3.3. Répartition géographique en Sud de l'Algérie :**

La superficie oléicole commençait, depuis plus d'une quinzaine d'années, à évoluer à la faveur des réformes qu'a connues le secteur de l'agriculture, en plus de l'engouement des agriculteurs pour cette filière stratégique, ce qui a permis d'atteindre, en 2015, une superficie de 12.973 hectares répartis sur le territoire de différentes wilayas du Sud (notamment Biskra, El-Oued, Ghardaïa, Laghouat, Bechar et Ouargla).

Durant la même année, la production oléicole en zones sahariennes, qui totalisent un effectif de 3.409.308 oliviers, dont 1673619 productifs.

La wilaya de Biskra occupe le premier rang avec une superficie implantée de 4.245 ha, soit un taux 33 % de la superficie totale au Sud, suivie de la wilaya d'El-Oued pour la campagne 2014 estimée à 2 913 ha avec un effectif total de 1098629 arbres dont 502500 en rapport. Avec 3.000ha (23 %) pour la campagne de 2015 et la wilaya de Laghouat en troisième position avec une superficie de 2.082 ha (16 %), selon le CDARS. (Bekkari et Gui .,2019).

#### **I.4. Définition Olive :**

L'olive est appelé drupe botaniquement, de couleur verte au début et devenant généralement noirâtre pourpre à pleine maturité. Quelques variétés sont vertes même à maturité, et certaines virent au brun cuivré. Les olives sont constituées d'un carpelle et la paroi de l'ovaire présente des parties charnues et sèches. La peau (exo carpe) est exempte de poils et contient des stomates. La chair (mésocarpe) est le tissu que l'on mange et la fosse (endocarpe) renferme la graine. La taille, la forme, la teneur en huile et le goût des cultivars d'olivier varient considérablement. Les olives crues contiennent un alcaloïde qui les rend amères et désagréables. Quelques variétés sont suffisamment sucrées pour être consommées après un séchage au soleil(Rabiei., 2012).

#### **I.5. Caractéristiques morphologiques de l'olivier :**

L'olivier est une espèce vivace à feuillage persistant dont la croissance est rythmée dans les régions tempérées, il se distinguant par sa pérennité et sa grande longévité. Aussi, il est réputé pour sa grande rusticité et sa plasticité lui permettant de se développer dans différentes conditions environnementales. Il n'est pas rare de voir de vieux oliviers dépasser 15 à 20 mètres de hauteur, avec un tronc de 1,5 à 2 mètre de diamètre (Abdessamed., 2017).

#### **A - Arbre:**

L'olivier cultivé est un arbre toujours vert grâce à ses feuilles persistantes. Le port et la forme de l'arbre sont des caractéristiques variétales mais leur développement dépend des conditions climatiques, de la qualité du sol et des techniques culturales(Trigui., 1983).caractères retenus pour la description de l'arbre sont le port (retombant, étalé, dressé), la densité de feuillage compacte et la longueur des entrenœuds qui peut être courte, moyenne ou longue. l'olivier est régulier et lisse, généra Les : La vigueur (Fai qui blé, moyenne ou élevée), est qualifiée de lâche, moyenne ou Le tronc de le ment de couleur grise et devient irrégulier,

rugueux et tortueux lorsqu'il est dans la force de son âge (Coi, 1997; Barranco et al., 2000; Villa., 2003).



**Figure 03 :** Arbre d'olivier cultivé (Latef., 2018)

### **B – Système des racines :**

Le développement du système racinaire de l'arbre dépend des caractéristiques physicochimiques du sol, sa profondeur, sa texture et sa structure. Le jeune plant issu de semis développe une racine pivotante. A l'état adulte, l'olivier présente deux ou trois racines pivotantes qui s'enfoncent profondément et de celles-ci, part un système racinaire peu profond à développement latéral, qui donne naissance à des racines secondaires et des radicelles pouvant explorer une surface de sol considérable (Kasraoui., 2010). Ce réseau de racines forme une souche ligneuse ; appelée la « matre », qui va permettre de puiser très grande quantité dans le sol. (Loussert et Brousse., 1978).

### **C - System aérienne :**

**C.1. Le tronc :** sur les jeunes arbres, le tronc est droit et circulaire puis il se déforme, au fur et à mesure de leur vieillissement, pour donner naissance à des « cordes » ( zones successives de dépressions donnant au tronc un aspect, tourmenté, caractéristique de l'olivier). Ce dernier se développe en:

**Des charpentières:** composées de charpentières maitresse et sous-charpentières; des branches : trois sortes: branches à bois, branches à fruits et branches mixtes (Gharabi., 2019).



**Figure04:** le tronc d'olivier(Latef.,2018)

**C.2. Les feuilles :** la feuille de l'olivier est simple, entière, à pétiole court et à limbe lancéolé qui se termine par un mucron. Les feuilles sont opposées et persistantes, leur durée de vie est de l'ordre de 3 ans. Elles possèdent des formes et des dimensions très variables suivant les variétés. Elles peuvent être ovales, ovales oblongues, lancéolées et parfois presque linéaires. Les dimensions peuvent varier de 3 à 8 cm de long et de 1 à 1,25 cm de large( **Abdessamed., 2019**).



**Figure05:** Feuilles de l'oliviers (**Breton et Berville., 2012**) .

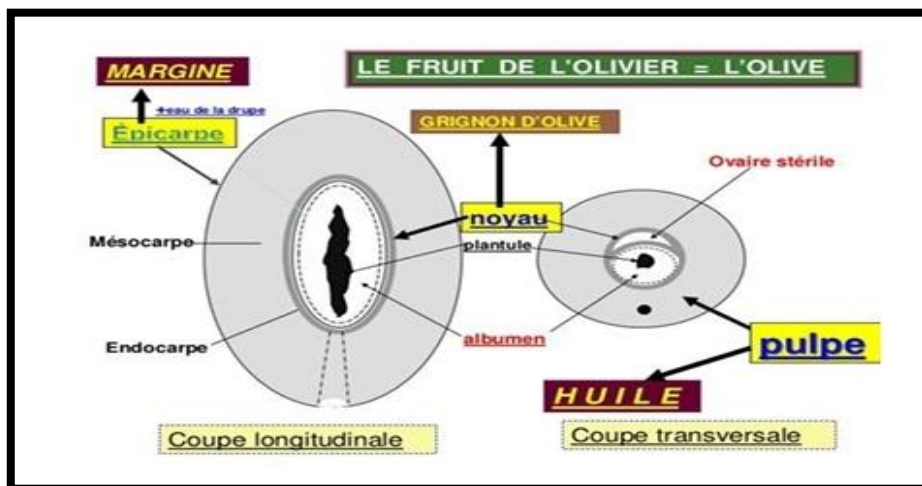
**C.3. Les fleurs :** les fleurs d'oliviers sont groupées en inflorescence comportant un nombre de fleurs, variables d'un cultivar à un autre de 10 à plus de 40 par grappe en moyenne. Les fleurs individuelles peuvent être hermaphrodites ou staminées(**Loussert et Brousse., 1978**)



**Figure06 :** Les fleurs d'olivier ( **Haddou., 2017** )

**C.4. Le fruit:** le fruit est une petite drupe ovoïde, noir violacé à maturité, riche en huile :trois parties :

- **Epicarpe(peau):** recouverte d'une matière cireuse imperméable à l'eau (la pruine). Le changement de couleur est dû à une oxydation effectuée par des phénol oxydases (**Loussert et Brousse.,1978**).
- **Mésocarpe(pulpe) :** charnue et riche en matière grasse stockée durant la lipogenèse de la fin d'aout jusqu'à la véraison(**Loussert et Brousse.,1978**).
- **Endocarpe(peau):** osseux très dur, formé d'une enveloppe qui se sclérifie l'été (à partir de la fin juillet) et contient une amande avec ovaires, dont l'un est généralement stérile et non fonctionnel cette graine produit un embryon, qui donnera un nouvel olivier si les conditions sont favorable(**Gharabi., 2019**).



**Figure 07:** composition du fruit d'olive (**Kabotet Saad.,2020**)

### I.6.La principale variété olive en Algérie:

**Classification des variétés d'olivaies:** on distingue les différentes variétés d'olives en fonction de la destination finale du fruit, soit en 3 typologies:

**A. Les olives à huile :** Leur production doit être constante et garantir une bonne rentabilité en termes de quantité et de qualité d'huile (**Villa.,2003**).

**B. Les olives de table :** Elles impliquent une certaine grosseur du fruit et un contenu riche en pulpe et en noyau mais faible en huile(**Villa.,2003**) .

**C. Les olives mixtes :** Elles présentent des propriétés à cheval entre les deux groupes, en fonction du moment de sa récolte et de son adaptation à la zone de culture, on destine le fruit soit

à la table (une fois la taille adéquate atteinte) soit à l'extraction de l'huile (Oudina., et Baziz., A 2017).

**Tableau02** : Principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie : Orientation variétales de l'olivier en Algérie (Loussert et Brousse., 1998).

Variétés	Aire de culture	Destination	Caractéristiques
<b>Chemlal</b>	Centre algérien Kabylie	Huile	Huile très appréciée résiste en culture sèche, inconvénients : autostérile, floraison tardive.
<b>Sigoise</b>	Ouest algérien (Oranie, tlemcen)	Table+ Huile	Très estimée pour la conservation et l'huilerie, rendement élevé en huile, variété auto fertile.
<b>Azeraadj</b>	Centre algérien	Table+ Huile	Très bon pollinisateur de chemlal
<b>Bouchouk la fayette</b>	Centre algérien	Table+ Huile	Intéressante pour la région de bouгаа
<b>Bouricha</b>	Est algérien (Collo-Oued El Kebir)	Huile	Cultivée dans les régions à fort pluviométrie
<b>Aberkane</b>	Kabylie	Table+ Huile	/
<b>Ferkani</b>	Tébessa, Aurès	Huile	Vigueur moyenne, résistante au froid et à la sécheresse, fruite moyen de forme allongée .

### I.7. Caractéristiques de la variété Chemlal :

Cette variété est cultivée essentiellement en grande Kabylie ou elle occupe une place important dans l'économie de la région. Elle représente environ 40 % des oliviers cultivés en Algérie. Il ne s'agit pas d'une variété mais probablement d'une population, car il existe

Plusieurs types de Chemlal :

- Chemlal de TiziOuzou.
- Chemlal précoce de Tazmalt.
- Petite Chemlal pendante.

-Chemlal de l'Oued Aissa.

-Chemlal Blanche d'Ali- Chérif.

Les arbres sont très vigoureux, de grande dimension à port sphérique et semi-retombant. Ses rameaux fruitiers sont longs et souples. Les fruits sont petits d'un poids de 2.5 g et sont destinés à la production d'huile. Le rendement en huile est de l'ordre de 18 % à 24 %.(Mouriada., 2014).

Cette variété est reconnue pour être auto stérile par absence de pollen. En Kabylie, elle se trouve toujours associée à d'autres variétés qui assurent sa pollinisation. (Mouriada.,2014 ).

### I.8.La valeur nutritionnelle de l'olive:

On connaît actuellement plus de variétés d'olives cultivées pour la consommation de table vert ou noir, mais surtout pour son huile riche en acides gras insaturés. Les feuilles d'olivier ont des propriétés Hypotensives, vasodilatatrices, hypoglycémiantes et d'autres utilisations médicinales (Meslacet., 2007). A part les valeurs médicinales, l'olive contient d'autres éléments comme reporté dans le tableau ci-dessous :

**Tableau03** : apport nutritionnel moyen de 100 g d'olive noir (Larabi et Khanous.,2016)

L'élément	La concentration
Eau	77%
Calories	103
Protéine	0.9g
AcidesGras	11g
Carbohydrates	0
VitamineA	180g
VitamineC	0

### **I.9. Propriétés d'olives:**

Depuis des siècles, les olives sont un riche aliment de base dans la zone de la Méditerranée. De nos jours, les effets bénéfiques pour la santé de l'huile d'olive et des feuilles d'olivier sont également connus dans d'autres parties du monde. Les extraits (de noyaux) d'olives sont donc devenus des ingrédients prouvés pour de nombreux produits, en particulier des médicaments, des compléments alimentaires et des produits cosmétiques (**Rabiei.,2012**).

#### **A - Propriété nutritionnelles:**

L'olive présente une forte teneur en calcium et en vitamine A. Par contre, l'huile d'olive est un stimulant hépatique, elle est conseillée pour les digestions difficiles (**Belgelkebir., 2007**).

L'huile d'olive contient de l'acide oléique (de 56 à 83 %), acide qui permet de réduire la première cause de mortalité : les maladies cardio-vasculaires. Elle contient également de l'acide linoléique (Oméga 6) à même taux de concentration que dans le lait maternel. Les Oméga 3 et 6 sont des acides gras essentiels que nous ne produisons pas nous-mêmes et que nous ne pouvons nous procurer qu'à travers notre alimentation. Attention cependant aux doses excessives puisque les Oméga 6 doivent être toujours pensés en équilibre avec les Oméga 3, que nous ne consommons que trop peu. De plus, l'huile d'olive a des propriétés anti-oxydantes (vitamine E, C et poly phénols) qui permettent d'avoir une action préventive face aux cancers puisque ces propriétés favorisent une anticipation du vieillissement des cellules. Si vous faites chauffer de l'huile, sachez qu'à plus de 210°C elle devient cancérigène ; si votre huile fume, il faut donc la jeter (**Malvina., 2017**).

#### **B- Propriété de la fleur d'olivier:**

Sachez que seulement 1 fleur sur 20 devient une olive. Les fleurs d'olivier peuvent également être utilisées pour leurs propriétés énergétiques. À consommer séchées et en tisane. Elles sont anti-cancérigènes, nourrissent la peau, peuvent être utilisées comme laxatif doux, pour les rhumatismes et sont bonnes pour le cerveau (**Malvina.,2017**).

### **I.10. Noyau d'olive:**

Est constitué par un noyau fusiforme, très dur. Sa forme et sa dimension varient suivant la variété. Ainsi, la morphologie du noyau permet de caractériser et d'identifier les cultivars d'olivier (**Barranco et Rallo., 1984**). L'endocarpe est formé de deux types de cellules : l'enveloppe qui se sclérifie l'été à partir de fin juillet et de l'aman don à l'intérieur du noyau, il contient deux ovaires dont l'un stérile et le second produit un embryon (**Saad.,2009**).

Le noyau d'olive est issu de la séparation de la coque du grignon d'olive rejeté lors de la trituration de l'olive par une huilerie moderne. D'après l'analyse chimique du noyau d'olive, cette matière est composée principalement de cellulose (40.2%), la lignine (24.21%), hémicellulose (20.19%), les cendres (1.62%) et une quantité de matières grasses (1.2%) (Djadouf et al., 2019).



**Photo01:** noyaux d'olives

#### **I.11.Poudre de noyaux d'olive :**

La poudre de noyaux d'olives est le résultat d'un traitement complexe des résidus de la fabrication de l'huile d'olive. Pour produire l'huile d'olive, l'olive est toujours pressée entièrement, c'est-à-dire avec le noyau. Les résidus dégraissés (grignons d'olives) encore humides sont ensuite traités à l'aide de machines spéciales. Durant une étape de centrifugation, les noyaux d'olives broyés sont séparés de la pulpe et des restes de pelure savant d'être mécaniquement nettoyés, séchés et filtrés. Le résultat: des granulés beige clair, quasiment sans odeur, sans résidus de poussière et de fruits. Ensuite, il est possible de procéder à la micronisation pour produire des granulés de haute qualité et de la poudre (Meslaycet .,2007).

#### **A –Utilisations des noyaux d'olives au cosmétique et la santé :**

Dans les produits cosmétiques et ménagers, les poudres de noyaux d'olives constituent une alternative durable au micro plastique ,ont une utilités essentiellement par rapport aux autres granulés naturels en bois, maïs, cellulose, silicone, pierres ponces et autres. La stabilité et la dureté des particules permet une efficacités améliorée: en particulier pour les applications avec effet d'usure (abrasif) (peelings / pâtes pour le lavage des mains / produits nettoyants), notre granulé de noyaux d'olives peut atteindre l'effet souhaité avec en moyenne 5 % de matériaux en moins (Bzlkebir., 2007).

En ce qui concerne les applications alimentaires, les poudres de noyaux d'olives fournissent beaucoup de glucides (saccharose, glucose, fructose, pectine, xylose, mannitol et myo-inositol) ainsi que des fibres faciles à digérer (cellulose, hémicellulose et lignine) (**Rabiei., 2012**).

D'autre part, la poudre de noyaux d'olives constitue une alternative végétale et sans substance nocive à la farine de poisson, à la farine d'os et aux autres ingrédients animaux dans la nourriture pour animaux végétarien. Les avantages alimentaires des olives sont une contribution précieuse à la santé des animaux et des humains (**Rabiei ., 2012**).

#### **B-Poudre de noyaux d'olives pour différentes applications industrielles :**

Dans le cadre des applications en science des matériaux, le granulé de noyaux d'olives constitue une matière de remplissage appréciée pour la céramique, les revêtements, les matériaux composites, le polymère, l'asphalte et le bitume. Les avantages résultent non seulement de l'augmentation de la part de biomatériaux mais aussi des propriétés réactives et de la fonction de la poudre / du granulé en tant qu'agent liant et structurant. La poudre de noyaux d'olives peut être facilement colorée et il a été démontré qu'elle améliore la résistance, la résistance à la traction et à la flexion ainsi que la durée de vie de matériaux variés (**Rabiei.,2012**).

# **Chapitre II**

## **Généralités sur les polysaccharides**

**II.1.Définition :**

Les polysaccharides sont des polymères d'unités mono saccharidiques, et leur nombre et leur degré de polymérisation varient selon la source(Djabali et al.,2016 ).

Les glucides ou saccharides sont des composés énergétiques essentiels pour tous les organismes vivants(animaux, végétaux, microorganismes).Les éléments les plus importants du stockage et de la transmission de l'énergie(Percheron et al.,1981 / Voet et Voet., 2005).

**II.2.Classification du polysaccharide:**

Les polysaccharides peuvent être classes selon : leur origine c'est-à-dire animal ou végétal, leur structure, leur nature soit de réserve ou de structure.

**II.2.1. Selon la structure :**

La classification chimique permet de distinguer deux grands types de polysaccharides :

**II.2.1.1. Homopolysaccharides:**

Ne comportent qu'un seul type de monosaccharides (homogène) :

- Les glucanes sont des monomères de D-glucose.
- Les galactanes sont des monomères de D- galactose.
- Les xylanes sont des monomères de D-xylose.
- Les chitosanes sont des monomères de D-glucosamine.(Moussard., 2006).

**II.2.1.2. Hétéropolysaccharides :**

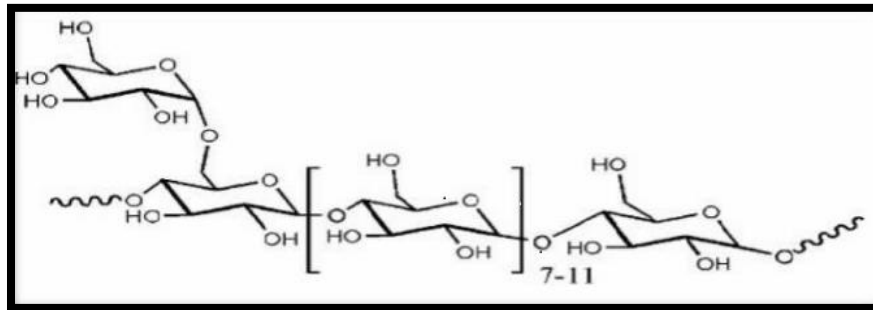
Les hétéropolysaccharides sont généralement formés que de quelques types de monosaccharides qui alternent selon une séquence répétitive. Ces hétéroglycanes renferment deux groupes différents sont : les polysaccharides neutres et polysaccharides acides (Voet et Voet., 2005).

**II.2.2.Selon l'origine :****II.2.2.1. Polysaccharides animaux :**

Les polysaccharides animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycane et sont issus des protéoglycanes Ces polymères sont soit impliqués dans la structure des tissus conjonctifs soit dans des mécanismes de communication cellulaires via leur propriétéfonctionnelles (héparine et héparane sulfate). (Delattre., 2005)

- **Glycogène :**

Le glycogène est un homopolysaccharide de réserve utilisé comme source de carbone et d'énergie pour les animaux et les bactéries(Jerome et al .,2004). Le glycogène est un polymère ne contenant qu'un seul type de monomère (le glucose) la plupart de sucre élémentaires d'une molécule de glycogène sont unis entre eux par des liaisons glycosidiques $\alpha(1\text{---}4)$  fig(8)(Gerald., 2010 ).



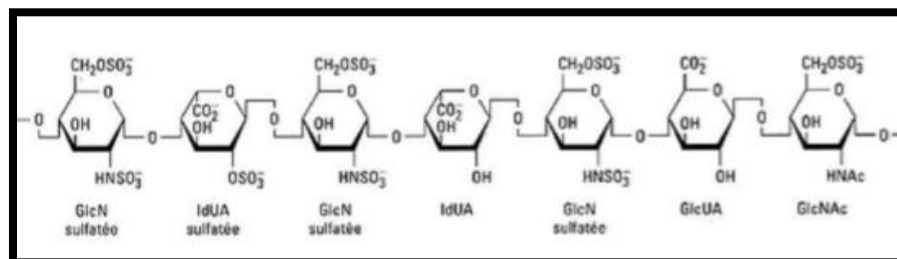
**Figure 08 :** structure du glycogène (Pal et al ; 2015 )

- **Acide hyaluronique :**

L'acide hyaluronique qui appartient à la famille des glycosaminoglycanes, est produit par Union 250 à 25 000 unités di saccharidiques, composées de dimères acides. L'acide glucuronique et la N-acétyl-glucosamine sont alternativement liés par des liaisons $\beta$ -glycosidiques (1-3) et  $\beta(1-4)$ . (Necas et al ., 2008 )

- **Héparine:**

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



**Figure 09 :** Structure de l'héparine (Malledan; 2017)

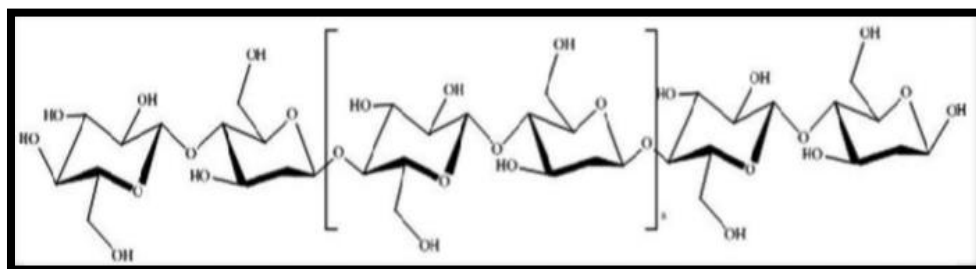
### II.2.2.2. Polysaccharides végétaux :

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

- **Cellulose :**

La cellulose est le polysaccharide le plus abondant dans le monde (Dinoro *et al.*, 2019). C'est un polymère naturel, renouvelable, biodégradable et biocompatible (Salama., 2019). Elle est produite par de nombreuses plantes ainsi que par certaines bactéries, champignons, et même certains animaux marins par exemple les tuniciers (Tchobanian *et al.*, 2018).

La cellulose est un polymère organique associé à la lignine et à l'hémicellulose, qui forment une couche protectrice ou un bouclier de la cellulose (Mwene-Mbeja *et al.*, 2019). C'est un homo-polysaccharide (Zaman *et al.*, 2019) linéaire composé d'unités anhydroglucose ( $\beta$ -D-glucopyranose) (Abu-Danso *et al.*, 2019) liées les unes aux autres par des liaisons  $\beta$  1-4 glucosidiques, chaque deux unités de D-glucopyranose liées entre eux forme une molécule appelée cellobiose dont l'unité de base du cellulose (Fig 10: ) (Yahia *et al.*, 2019 ,Chouana., 2017). Les molécules de cellulose se regroupent pour former des longues chaînes qui s'agrègent en micro-fibrilles partiellement cristallines de quelques nanomètres de diamètre (Imre *et al.*, 2018). Ces micro-fibrilles se disposent en groupes parallèles appelés fibres (Yahia *et al.*, 2019)



**Figure 10 :** Structure de la cellulose ( Yves; 2008 )

- **Pectine :**

Les pectines sont une classe de polysaccharides hétérogènes trouvés dans les parois cellulaires de la plante. La pectine commerciale est extraite de citrus, de pomme, ou d'autres plantes supérieures. Elle est utilisée en tant que stabilisant, épaississant, agent gélifiant, émulsifiant, et comme véhicule de médicaments dans les industries alimentaires et

pharmaceutiques. Les structures des pectines varient grandement en raison de ses diverses sources et méthodes d'extraction, mais elles peuvent être classées en trois catégories en fonction de caractéristiques communes à savoir homogalacturonane, rhamnogalacturonane-I et galacturonanes substitués. Fig(11). (Zhang *et al.*, 2015).

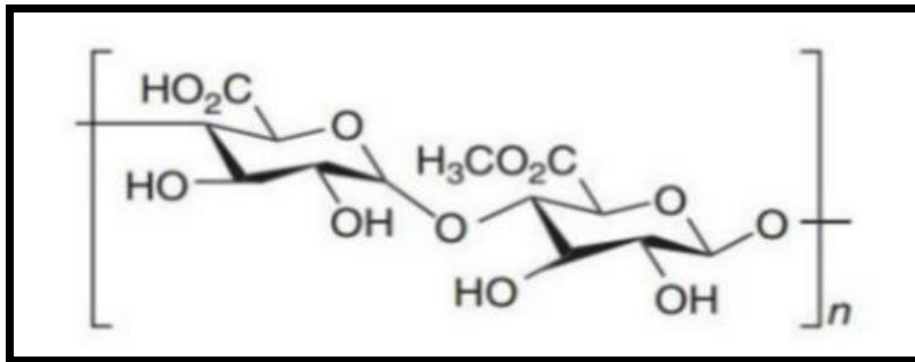


Figure 11 : Structure pectine (Popa ., 2011 )

- **Hémicellulose :**

Les hémicelluloses constituent un groupe diversifié de polysaccharides pariétaux insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solutions alcalines (Cosgrove ., 1997).

L'hémicellulose est un polysaccharide hétérogène. L'hémicellulose agit comme une substance de soutien dans les parois cellulaires. Elles ou ils Il est facilement décomposé par les acides en ses monomères constitutifs, qui consistent en D-glucose, de D-mannose, de D-galactose, de D- d'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique et de D-galaxie. En raison de ses structures amorphes, l'hémicellulose a une réaction Supérieur à la cellulose (Ashter ., 2018).

### II.2.2.3. Les polysaccharides de réserves :

Les plantes stockent des polysaccharides comme réserve. Les plus importantes de ces réserves sont les amidons, les fructanes, les mannanes et les galactomannanes.

- **Amidon :**

L'amidon est une réserve nutritionnelle par les plants et un aliment majeur pour les animaux, est mélange de glucanes que les plantes synthétisent comme réserve nutritive principale. On trouve dans le cytoplasme sous forme de granules insolubles constitués d' $\alpha$ -amylose et de amylopectin(Voet *et al.* , 2007).

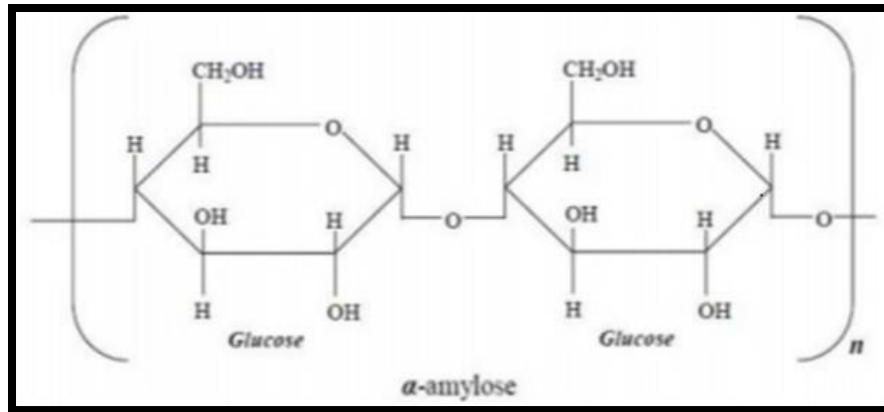


Figure 12 : Structure du l’amylose (Voet; 2005 )

- **Galactomannanes (GM) :**

Les GM sont des polysaccharides de masse moléculaire élevée issus d’endospermes de graines de certaines le guminosae (appartenant à la famille des Fabaceae) où ils servent de réserve de carbone et d’énergie lors de la germination (Prajapatietetal . ,2013). De par leurs nombreuses propriétés physico-chimiques ils sont abondamment utilisés pour diverses applications.

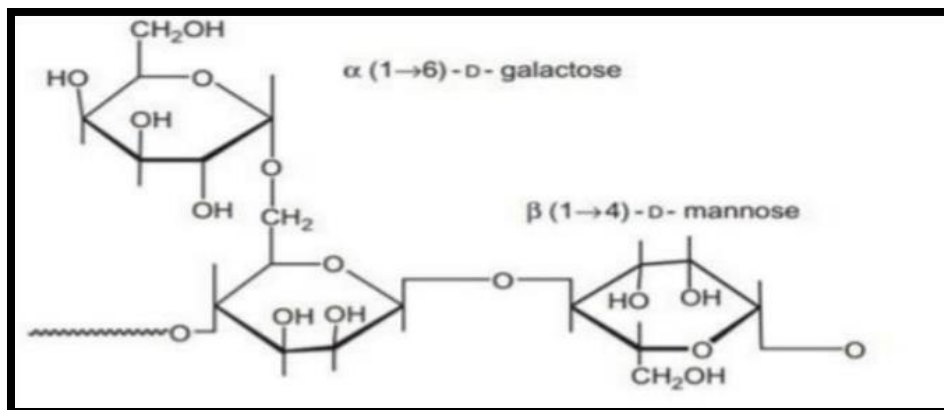


Figure 13 : Structure de galactomannane(Geeta et al ., 2018 )

- **Gomme :**

Les gommages sont des produits végétaux glucidiques s’écoulant soit naturellement, soit à la suite d’une blessure de l’écorce. Les gommages ont la propriété de gonfler au contact de l’eau et de former des masses gélatineuses ou des solutions colloïdales visqueuses (Marouf et al ;2009).

**II.3. Activités biologiques des polysaccharides :**

Les polysaccharides sont des macromolécules glucidiques largement distribué dans les plantes, les animaux et les micro-organismes. Ces dernières années, un certain nombre de

polysaccharides ont signalés à avoir une gamme d'effets biologiques, comme l'amélioration de l'activité immun-modulatrice, l'activité antivirale, l'activité anti-oxydante (DU *et al.*, 2019).

Les polysaccharides varient en fonction de leurs caractéristiques structurales telles que le type moléculaire, la taille, le rapport des monosaccharides (Venkatesan *et al.*, 2019).

### II.3.1. Activité anticoagulante :

Les anticoagulants sont utilisés pour la prévention et le traitement d'événements thrombotiques sévères. Les plus utilisés sont jusqu'à présent l'héparine et ses dérivés et les anti-vitamines K(AVK). De nombreuses études cliniques ont démontré leur action dans la prévention et le traitement de complications thromboemboliques (Kortchinsky *et al.*, 2013). L'effet anticoagulant est défini comme l'inhibition de la formation de thrombine active dans le plasma, alors que l'effet anti-thrombotique est défini comme l'inhibition de la formation de la thrombose et /ou de sa croissance (Colliec *et al.*, 1990). La thrombose (maladies vasculaires les plus fréquentes qui résultent d'une interaction complexe entre les protéines circulantes de la coagulation, les plaquettes et la paroi vasculaire) est l'une des principales causes des troubles thromboemboliques affectant des milliers de personnes dans le monde (Mansoor, 2013). Elle cause aussi la maladie cardiaque ischémique, les accidents vasculo-cérébraux (AVC) et les lésions traumatiques (Lanec., 2015). La thrombose veineuse se produit dans le monde entier à une incidence annuelle de 1 par 1000 adultes. Le traitement de la thrombose utilise des agents thrombotiques à activités anticoagulantes et antiplaquettaires (Souza *et al.*, 2015).

Quatre classes distinctes de polysaccharides sulfatés (héparine, Dermatan-sulfate, chondroïtine sulfate fucosylé et fucoïdane des algues) ont toutes une activité anticoagulante, due à leur interaction avec les enzymes et les inhibiteurs du système de la coagulation. Leurs effets anticoagulants dépendent d'un modèle exact de substitution sulfurique. Une petite modification dans la structure conduit à une perte presque complète de l'activité anticoagulante (Mulloy *et al.*, 2000).

Des polysaccharides de plantes supérieures présentent également des structures chimiques hétérogènes mais leurs actions dans la coagulation et de la thrombose sont peu explorés (Souza *et al.*, 2015). (Mansoor., 2013) signale que la consommation d'anticoagulants ou composés phytochimiques alimentaires ayant des propriétés anticoagulantes, peut réduire ou éliminer les risques de maladies thromboemboliques. Une activité anticoagulante de polysaccharides de plantes, associée à la présence de résidus d'acide uronique, sont signalées (Souza *et al.*, 2015).

### II.3.2. Activité antioxydant:

Les espèces réactives de l'oxygène, telles que les radicaux hydroxyle et les peroxydes d'hydrogène, sont souvent générées spontanément dans la cellule vivante au cours du métabolisme et jouent un rôle important dans la signalisation cellulaires. L'oxydation induisant des radicaux libres peut entraîner une désintégration de la membrane cellulaire et une dégradation des protéines membranes (Aytursun *et al.*, 2019). En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défense antioxydants. On parle de stress oxydatif lorsqu'il y a un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur des pro-oxydants conduisant à des qui perturbations cellulaires irréversibles (Caes, 2007). Les polymères naturels jouent un rôle crucial dans la défense contre le stress oxydatif chez les organismes humain et la protection contre les maladies associées telles que les maladies neurologiques, cardiovasculaires, l'asthme et diabète (Rjeibi *et al.*, 2019).

Des études récentes ont démontré que beaucoup de polysaccharide naturels jouent un rôle important dans la prévention des dommages oxydatifs induits par le stress dans les piègeurs de radicaux libres chez les organismes vivants (Gao *et al.*, 2015). Les recherche sur les plantes médicaments se sont multipliés dans le monde entier en raison de leur vaste application pharmaceutique. Il est bien signalé que les polysaccharides naturels peuvent atténuer ou supprimer les effets des espèces réactives de l'oxygène. L'utilisation accrue de ces macromolécules naturelles est essentiellement due à leurs diverses applications industrielles telles que les additifs alimentaires, des fibres alimentaires, émulsifiants (Rjeibi *et al.*, 2018).

### II.3.3. Activité anti-inflammatoire :

L'inflammation est la première réponse montrée par le système immunitaire pour se défense contre toute attaque des bactéries ou des virus. L'inflammation est responsable de La moitié de la charge mondiale de morbidité. Il se caractérise principalement par la douleur, la chaleur, le gonflement et les rougeurs. Les causes de l'inflammation peuvent être attribuées à des facteurs tels que l'irradiation ultraviolette, l'invasion bactérienne, les réactions immunitaires et le dommages physiques (Rehman *et al.*, 2019).

Une réponse inflammatoire réussie et contrôlée est un processus utile qui permet d'éliminer les stimuli nuisibles et rétablir une physiologie normale régulée avec précision par une cascade moléculaire complexe. Toute imperfection de la réponse inflammatoire peut provoquer une morbidité et raccourcit la durée de vie (Tasneem *et al.*, 2018).

**II.3.4. Activité antiviral:**

Les maladies infectieuses virales mettent gravement en danger la santé humaine. Dans la recherche de médicaments antiviraux efficaces, les chercheurs ont trouvé que les polysaccharides ont une bonne activité antivirale. En tant que composant antiviral efficace et peu toxique, les polysaccharides ont de larges perspectives d'utilisation médicinale et méritent d'être étudiées plus avant (**Chen et Hugan., 2018**).

Les polysaccharides obtenus à partir le polysaccharide extrait de la feuille de rhizophora *apiculata* a été évaluée dans des systèmes de culture cellulaire, par son activité contre les virus de l'immunodéficience humaine et simienne Ce dernier est composé principalement de galactose, galactosamineet d'acide uronique (**Martinez et al., 2005**).

# **Partie Pratique**

# CHAPITRE I

## Matériel et Méthodes

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

### I.1. Principe d'étude :

Les polysaccharides sont une sorte de polymères naturels, largement répandu chez les animaux, les plantes et les micro-organismes, qui exerce diverses activités biologiques, tel que anti tumorale à antivirale, antioxydant et immune régulatrice(Chen et Huang., 2018).

Le présent travail est une contribution à l'étude de l'activité biologique des polysaccharides issus d'une plante d'olive de la famille des Oléacées récoltée au Sahara septentrional Est Algérien (région el oued).

Le présent travail vise à caractériser les polysaccharides issus des noyaux d'olive de cultivars Chemlal et à rechercher leurs activités biologiques.

### I.2. Situation géographique de la région d'Oued Souf :

La région du Souf est située entre la limite sud-est des montagnes del'Atlas Saharien et les frontières nord de l'Erg Oriental (fig14), à une altitude de 30° 30' Nord et une longitude de 6° 47' Est (Nadjah ;1970). Cette grande région de sable est entourée par de grandes zones humides du Sahara sur les trois côtés à savoir les grands lacs de sel "Chotts" de la région de Oued Righ à l'ouest, les chotts Merouane et Melghir au nord et le Chott El-Jerid à l'est (Guezoul et al ;2013).



Figure 14 : Situation géographique de la région du Souf(Acila.,2018)

### I.3. Matériel d'étude :

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

#### I.3.1 .Matériel non biologique :

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

#### I.3.2. Matériel biologique :

Le matériel biologique utilisé est constitué des noyaux d'olive de cultivars Chemlal. Cette matière première provient de la région El oued.

Des souches bactériennes sont utilisées il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*



**Photo 01** : Noyaux d'olives



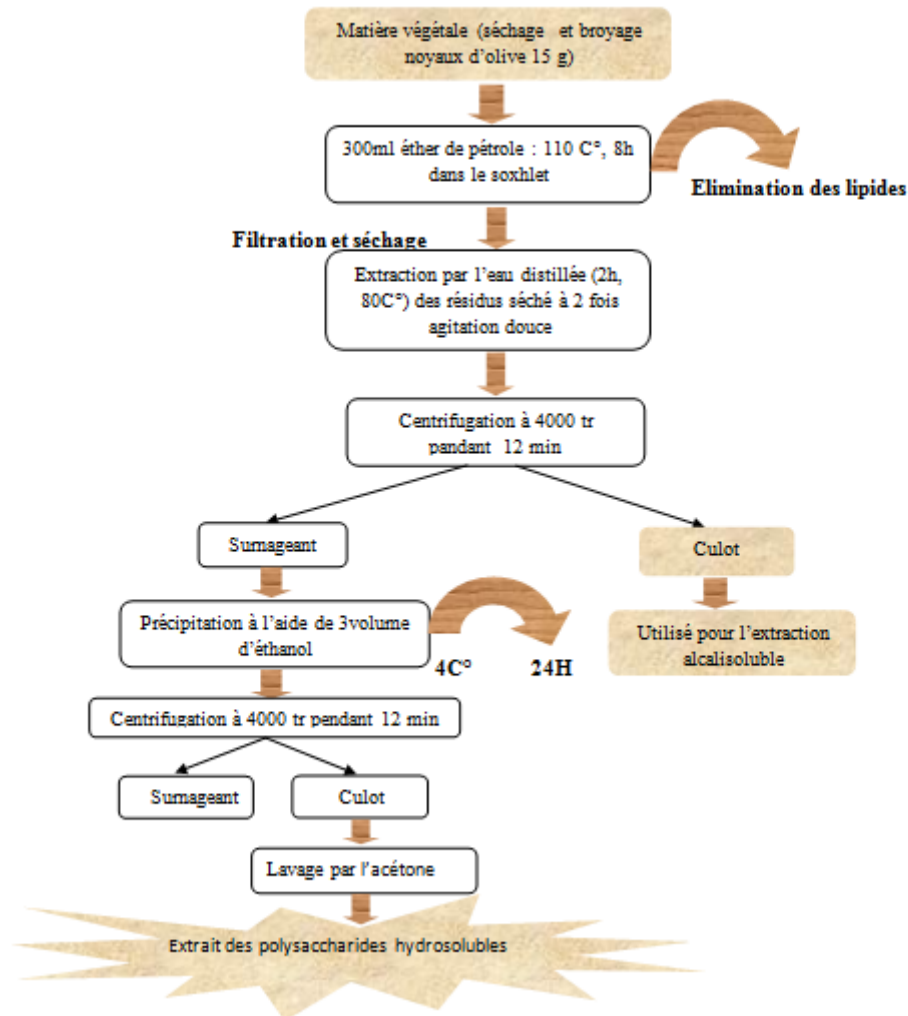
**Photo 02** : Poudre du noyau d'olives

### I.4. Méthodologie de travail :

#### I.4.1. Extraction des polysaccharides hydrosolubles :

Une quantité de 15g de poudre de noyau d'olive est placée dans une cartouche de Soxhlet avec 300 ml d'éther de pétrole pendant 8h et 30 min comme temps d'immersion et 60 min comme temps de lavage. L'opération est répétée 12 fois (Besbeset al, Après délipidation, la poudre de noyau d'olive est séchée à l'air puis, on lui ajoute 250 ml d'eau distillée et l'ensemble est placé au bain Marie pendant 2h à 80°C (Hu et al., 2015) avec une agitation constante. Après la macération, on procède à une centrifugation à 4000tr pendant 12min et le surnageant est récupéré (Chen et al., 2015). Une deuxième extraction est faite suivant le même protocole puis les deux surnageants sont réunis. L'ajout de 3 volumes d'éthanol à 96 % pendant 24h et à une

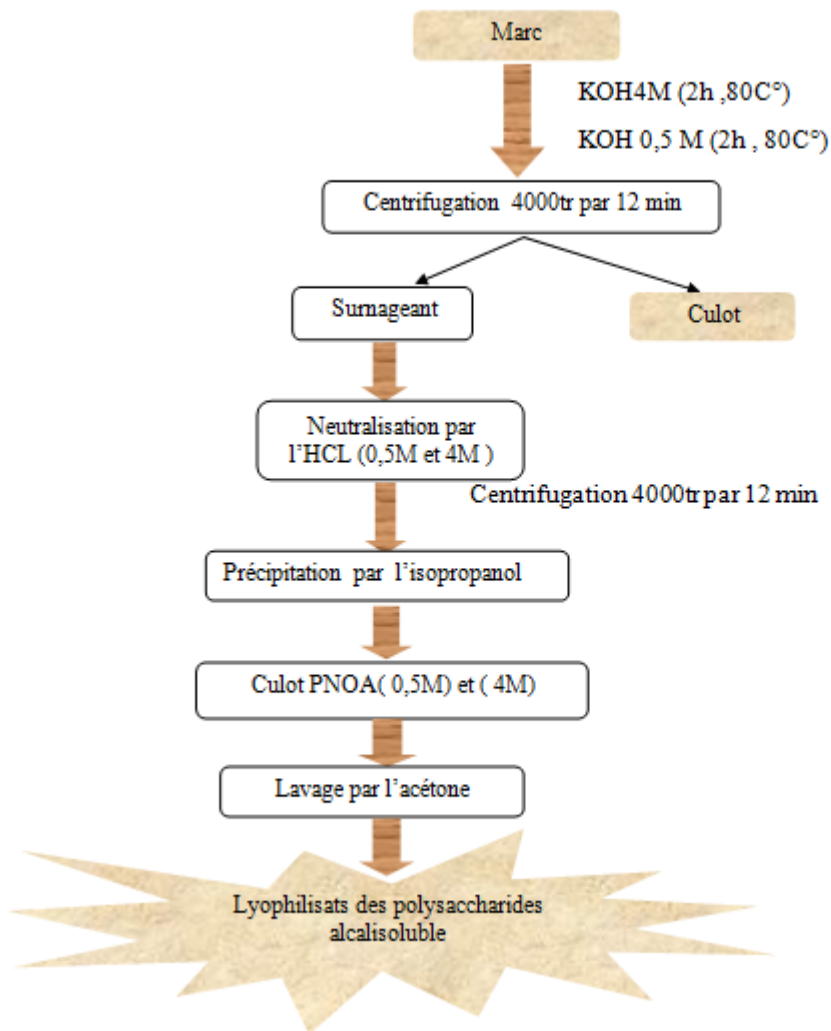
température de 4°C pour la précipitation des polysaccharides. Après centrifugation à 4000tr pendant 12min, le culot est récupéré, lavé trois fois par l'acétone puis lyophilisé (Zhao *et al.*, Hu *et al.*, 2015 ;Zhang *et al.*, 2015 ; Mei *et al.*,2015).



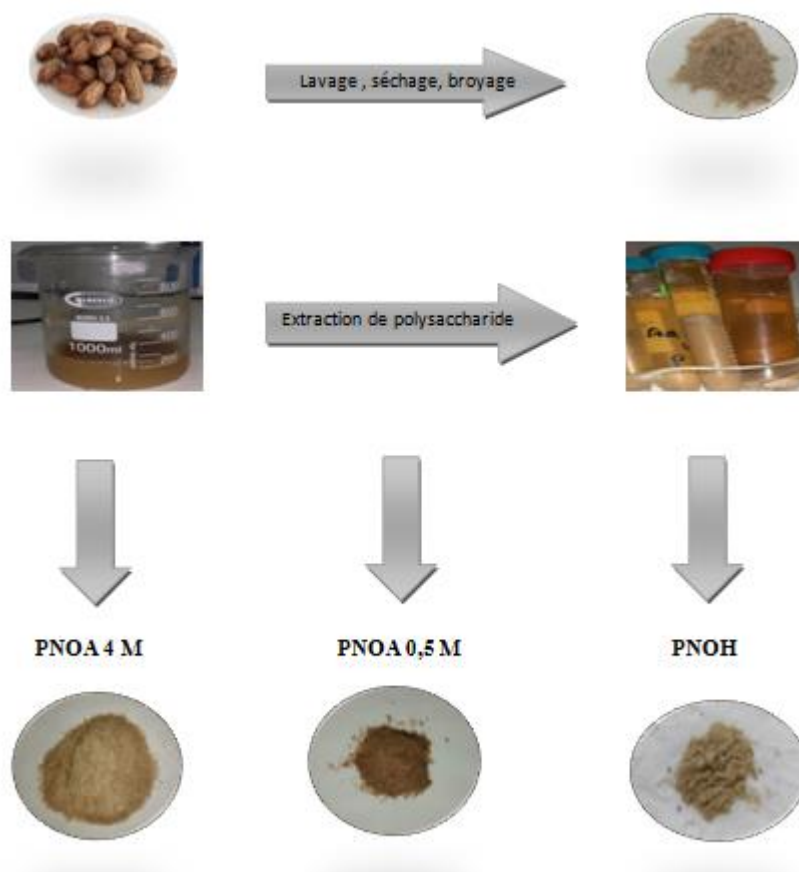
**Figure 15:**Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de noyaux d'olive (Besbes *et al.*,2004 ; Ghazala *et al.*, 2015 ; Chen *et al.*,2015) modifié

#### I.4.2. Extraction des polysaccharides alcalisolubles :

L'extraction des polysaccharides alcalisolubles est réalisée par l'ajout de 300ml de solution de KOH (0,5et 4M) (Ding *et al.*, 2014 ; Pinto *et al.*,2015) au poudre des noyaux d'olives utilisées préalablement, le mélange est mis dans un bain marie à 80°C pendant 2h. Après une centrifugation à 4000tr /12min (Chenet *et al.*,2014) les surageant sont récupérés et neutralisés par l'HCl, Une quantité de 03volume d'éthanol est ajouté aux surageants pour obtenir deux fractions polysaccharidiques PNOA 0,5 et PNOA 4 (Ueno *et al.*, 1982), les deux extraits ont subi un lavage 03 fois par l'acétone, puis ils sont lyophilisés(Huang *et al.*,2010).



**Figure 16 :** Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides alcalisolubles (0.5 et 4) à partir des noyaux d'olive (Ding et al., 2014 ; Pinot et al., 2015 ; Chen et al., 2014 ; Huang et al., 2010 ; Ueno et al., 1982) modifié



**Figure 17 :** Schéma des différentes étapes d'extraction des polysaccharides

## I.5. Extraction des polysaccharides :

### I.5.1. Rendement d'extraction :

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

Le rendement est calculé selon la formule suivante :

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

### I.5.2. Dosage des composants des extraits bruts des polysaccharides :

Pour le dosage, des solutions de 0,1% sont préparées à partir des échantillons Polysaccharidiques hydro et Alcali solubles et pour le dosage des oses (totaux, neutres,) une dilution de 1/10 est effectuée (0.01%), alors que les solutions de 0,1% sont utilisées pour le

dosage des protéines. Les différentes solutions sont congelées pour les dosages ultérieurs (Dubois., 1956).

#### I.5.2.1. Dosage des oses totaux :

##### ✓ Principe. :

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

##### ✓ Mode opératoire :

Un volume de 400 µl de solution est mis dans des tubes à essai avec 400 µl de phénol à 5% (5g de phénol sont dissout dans 100ml d'eau distillée). Puis, 2 ml d'acide sulfurique est ajouté rapidement et le mélange est agité immédiatement (Dubois et al., 1956). Les tubes sont placés au bain Marie à 100°C pendant 5 min puis refroidis à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 492 nm. Les teneurs sont déterminées en référence à une gamme étalon de glucose (Brudieux., 2007).

##### ✓ Préparation de la courbe d'étalonnage :

**Tableau 04:** Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
<b>Glucose (0,01%) µl</b>	0	40	80	200	320	400
<b>H<sub>2</sub>O (µl)</b>	400	320	200	80	40	0
<b>Phénol (5%)(µl)</b>	400	400	400	400	400	400
<b>A.Sulfurique (ml)</b>	2	2	2	2	2	2

#### I.5.2.2. Dosage des oses neutres:

##### ✓ Principe:

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

✓ **Mode opération:**

Une solution de résocinol à 6 est préparée par l'eaudistillée pour dose les oses neutres. La solution est stable pendant un mois lorsqu'elle est conservée à 4°C à l'abri de la lumière (Monsigny *et al.*, 1988)

Dans des tubes à essai 400µl des solutions à doser sont mélangés avec 400µl de résocinole et 2ml d'acide sulfurique, puis les tubes sont agités et chauffés dans un bain Marie à 90°C pendant 30mn, ensuite ils sont refroidis dans un bain de glace et à l'obscurité pendant mn la densité optique desdes déterminée à 480 nm (Monsigny *et al.*, 1988).

✓ **Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose:**

**Tableau05** : Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose

	Blanc	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
<b>Glucose(0.01%)</b>	0	40	80	200	320	400
<b>H2O(µl)</b>	400	360	320	200	80	0
<b>Résocinole(µl)</b>	400	400	400	400	400	400
<b>A.sulfirique(ml)</b>	2	2	2	2	2	2

### I.5.2.3. Dosage des protéines :

✓ **Principe :**

Méthode de Bradford (1976), cette méthode est basée sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu acide, ce colorant s'adsorbe (fixation par des liaisons non covalentes) sur les protéines, et forme un complexe coloré présentant un maximum d'absorption à 595nm. Le changement de colorations se mesure facilement par spectrophotométrie (Gavrilocet *al.*,1996).

✓ **Préparation des réactifs :**

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

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

✓ **Mode opératoire :**

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

**I.6. Activités biologiques des polysaccharides :**

**I.6.1. Evaluation in vitro de l'activité anticoagulante:**

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

Le pool plasmatique pauvre en plaquette est un mélange de plasmas de 10 jeunes adultes comme volontaires sains non traités, dont les TCK sont normaux et comparables.

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10mn à 3000rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le plasma standard obtenu est conservé à basse température (-10C°) jusqu'à son utilisation (**Athukorala et al.,2007**) .

✓ **Principe :**

Temps de céphaline kaolin activé (TCK), cet examen consiste à activer la voie intrinsèque de la coagulation par différentes substances : le Kaolin, ou plus souvent la silice micronisée ou l'acide pélagique. Dans ce test, la céphaline est un phospholipide qui remplace les plaquettes.

Le TCK n'est donc pas modifié en cas de thrombopénie ou de thrombopathie. Chez l'adulte, la valeur normale moyenne du TCK est de 30 à 34s habituellement. Un laboratoire doit donc toujours rendre un temps témoin pour permettre l'interprétation du test. Pour que le Temps de Céphaline Kaolin soit normal, il faut que les facteurs de coagulation de la voie intrinsèque soient normaux : facteur du système contact (facteur XII et XI, kininogène de haut poids moléculaire, prékallitréine), complexe anti hémophilique (facteur IX, facteur VIII), complexe de la prothrombines (facteur X, facteur V) prothrombine (facteur II), fibrinogène (facteur I) à l'exception des plaquettes (**Athukorala et al., 2007**). La mesure du TCK est utilisée principalement pour la surveillance des traitements par l'héparine.

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

✓ **Mode opératoire :**

La procédure suivie dans la réalisation de ce test est celle pratiquée par ATHUKORALA et ses collaborateurs avec modification. Une quantité de 10µl d'extrait polysaccharidique de 0,1% est ajoutée à 90µl de plasma normal. Le mélange est incubé à 37°C pendant 10min, puis on ajoute 100µl du réactif céphaline kaolin, on laisse le mélange 3min suivi d'une addition de 100 µl de CaCl<sub>2</sub> pour une recalcification du plasma Ainsi le temps d'incubation est mesuré à l'aide d'un coagulomètre de type biométrie, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (**Athukorala et al.,2007**) .

## **I.6.2. Activité antioxydant :**

### **I.6.2.1. Test de piégeage du radical DPPH :**

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par(**Mansouri et al .,2005**). Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites anti-oxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphénylpicrylhydrazine : de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants (**Sanchez et Moreno., 2002**) .

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 50 µL des solutions d'extraits ou standard (quercétine, vitamine C) sont ajoutés à 1,95ml de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante.

$$\text{Activité antiradicalaire\%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

**I.6.2.2. Teste de la réduction ferrique (FRAP) (Ferric Reducing Antioxidant Power):****✓ Principe:**

La méthode de FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des produits testés à réduire le fer (Berker., 2007). La présence de réducteurs tels qu'une substance antioxydant provoque la réduction du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Peut être surveillé en mesurant la formation de bleu de Prusse de Perl à 700 nm. La couleur brune de la solution change en diverses nuances de vert et de bleu, en fonction du pouvoir réducteur de la substance antioxydant (Ghaisas et al., 2008).

**✓ Mode opératoire :**

La capacité réductrice de l'extrait polysaccharidique est déterminée par la méthode d'OYAIKU (1986).

Cinq cent (500) µl de l'extrait avec différentes concentrations (0.01, 0.04, 0.08, 1 et 1mg/ml), ml de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 1.25 ml de solution de potassium ferricyanure (1%) sont mélangés et incubé à 50°C au bain marie pendant 20 min. Le mélange incubé est laissé à refroidir à température ambiante. Ensuite, 1.25 ml d'acide trichloroacétique TCA (10%) sont ajoutés. La solution est centrifugée à 3000rpm pendant 10 min où un aliquote de 1.25 ml est retirée et 1.25 ml d'eau distillée suivie de 0,25 ml de solution de Chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (0,1%) sont été ajoutés de sorte que le volume final était de 2.75 ml. L'absorbance de la solution résultante est mesurée après 2 min à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV VIS spectrophotomètre).

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Bougandour et Bendimerad., 2012) Le pourcentage de pouvoir réducteur de fer est calculé par la réaction suivante :

$$\text{Pouvoir réducteur de fer (\%)} = \left[ \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100$$

**A<sub>0</sub>** : est l'absorbance de FeCl<sub>3</sub>.

**A<sub>1</sub>**: est l'absorbance de FeCl<sub>3</sub> en présence de l'extrait (Ghaisas et al., 2008).

### I.6.2.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène :

#### ✓ Principe:

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

#### ✓ Mode opératoire :

Une quantité de 2 mg de  $\beta$ -carotène est solubilisée dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution dans un bécher contenant préalablement 200 mg de Tween 40 et 20 mg d'acide linoléique. Après évaporation, un volume de 50 ml d'eau saturée en oxygène est ajouté. Dans des tubes, 2ml de l'émulsion  $\beta$ -carotène/acide linoléique sont additionnée à 2 ml de la solution de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse BHT à différentes concentrations. Les tubes sont placés dans un bain marie à 50°C pendant 120 min.

Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à  $t = 120$  min. Le control négatif est constitué par 2ml d'éthanol au lieu de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse. Tous les essais sont répétés trois fois (Koleva *et al.*, 2002). L'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à  $t = 0$  min contre le blanc contenant l'émulsion sans  $\beta$ -carotène seulement pour le contrôle négative. L'activité antioxydant (%) des extraits est évaluée en termes de blanchiment de  $\beta$ -carotène en employant la formule suivante :

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

**AA (120):**représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120min **AC(0):** représente l'absorbance du contrôle à 120 min.

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

### I.6.3. Activité anti-inflammatoire :

Activité anti inflammatoire in vitro d'extrait poly saccharidique de noyau d'olive est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Chandra *et al.*, 2012).

**✓ Principe :**

Le principe de cette technique est basé sur la capacité d'extrait à empêcher la dénaturation thermique de protéine (**Chandra et al., 2012**).

**✓ Mode opératoire :**

La solution d'essai (2,5 ml) est composée de 0,1 ml de solution de BSA 1% et 1,4 ml de tampon de phosphate saline (PBS, pH 6,4) et 1 ml de concentrations variables de l'extrait ou de la solution standard (diclofénac de sodium). Ainsi, les concentrations finales deviennent 125, 250, 500, 1000 µg/ml. Les mêmes volumes sont pris pour le contrôle (eau distillé). Ensuite, les échantillons sont incubés à 37°C pendant 15 min au bain marin et puis à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, leur absorbance est mesurée à 660 nm par le spectrophotomètre UV/visible. Les résultats sont comparés avec le diclofénac de sodium (**Chandra et al., 2012**).

**✓ Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines**

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé selon (**Tattiet al., 2012**) comme suit:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = (AC - AT / AC) \times 100$$

**A c** = l'absorbance du contrôle.

**A t** = l'absorbance du test (extrait ou étalon)

**I.6.4. Test hémolytique :****✓ Principe :****✓ Méthode de dosage :**

Selon Abirami et al(2014);Le sang est récupère sur anticoagulant EDTA ensuite le tube est centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min. 1ml du culot ajoute a 1ml de H<sub>2</sub>O puis il est centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min 2 fois. 40µl de surnageant ajoute à 2ml d'extrait, et laisser le mélange 05 min en 37° C après ajouter 40µl de solution peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(30mmol), 40µl de solution fecl<sub>3</sub> (80mmol), 20µl solution acide ascorbique (50mmol), le mélange place dans l'étuve a température 37°C, après incubation 60 min le mélange est centrifugé à 700 tr/min pendant 10 min.

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

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

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

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

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

#### I.6.4. Activité antibactérienne:

##### ✓ Principe :

Les bactéries en culture sont mises en présence d'un ou plusieurs antibiotiques les conséquences de la présence d'une molécule active sur le développement bactérien sont directement observables via la formation d'halos d'inhibition autour du dépôt de l'échantillon testé. Ces halos indiquent la présence de molécules actives dans l'extrait étudié, parfois grâce à la présence d'une molécule antibiotique. Un antibiotique est une substance organique ayant pour action spécifique de détruire (activité bactéricide) ou fortement inhiber la croissance demicro-organismes (activité bactériostatique). Ces molécules sont soit d'origine naturelle (spécifiquement élaborées par des microorganismes ou présentes dans des organismes végétaux), soit synthétisées ou hémi synthétisées (la majorité des antibiotiques actuels) (**Ghania.,2015**).

##### ✓ Mode Opérateur :

On utilise le Mueller- Hinton comme un milieu de culture des souches bactériennes

(*Escherichia coli* ATCC 25922), (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853)

-Couler dans une boîte de Pétri un milieu de MH 3,8 %. Laisser sécher. - Préparer une suspension bactérienne dans du tampon phosphate à une DO comprise entre 0,10 et 0,12( $\lambda=600$  nm) à partir d'une culture d'environ 24h(en phase stationnaire).

-Inonder le milieu MH 3,8 % par la suspension bactérienne diluée (2-3 ml) et retirer l'excédent . Laisser sécher 30 min.

-Placer les disques en papier de Wattman N° 3 dans lesquels seront inoculées les différentes solutions: 30µL de l'eau distillé (témoin négatif), à tester une échantillon de concentration 1mg/ml Les diamètres des halos d'inhibition (mm) sont mesurés après 24h d'incubation à 37°C(**Ghania.,2015**).

# Chapitre II

## Résultats et Discussion

Dans le présent chapitre, il est d'étude des extraits bruts des polysaccharides et alcalisolubles de la variété olive Chemlal et leurs activités biologiques.

### II.1.Rendement d'extraction :

**Tableau 06:**Rendements massiques d'extraction de lipides et polysaccharides des noyaux d'olives

Fraction	Poids (g)	Rendement (%)
Lipide	0,38	2,53
PNOH	0,08	0,53
PNOA 0,5M	0,652	4,346
PNOA 4M	4,206	28,04
Polysaccharide total	4,938	32,92

Le rendement total de la masse lipidique des noyaux d'olive de cultivate Chemlal c'est un (2,53%). Ce rendement lipidique est plus élevée par apporte *Ferula communis L* (0,766%) mais plus faible par apporte *Ammodaucusleu cotrichus Coss. Dur* (7,86%) (**Youmbai., 2015**).

Les rendement massiques des extrait de polysaccharides sont de (0,53%) ,dans la fraction hydrosolubles.(PNOH) .Cette valeur c'est un faible par apporte *Ammodaucus leuctrichus Coss . Dur* ( 4,051% ).(**Youmbai., 2015** )mais cette valure à peu près similaire à la polysaccharides hydrosolubles des feuilles *D'Asphodelus tenuifolius* (0,65%) . (**Boual et al ; 2011**).

Dans les fractions des polysaccharides alcalisolubles (PNOA 0,5) (4,346%) cette résultats similaire par apporte Deglet-Nour (5,42%) (**Beretima et Medjour., 2021**) et plus faible par apporte Mech-Degla (12,53%)(**Belabel et Chaib.,2021**)et dans la fraction PNOA 4 (28,04%) cette résultats plus élevée par apporte Mech-Degla (4,53%) (**Belabel et Chaib ., 2021**)et Deglet-Nour (16,6%)(**Beretima et Medjour., 2021**).

Les rendement des polysaccharides total (32,92%) c'est un plus élevée par apporte Deglet-Nour (23,42%) (**Beretima et Medjour., 2021**).

### II.2.Contenu de polysaccharides des noyaux d'olives :

Les résultats de contenu de polysaccharide de noyau d'olive de cultivate Chemlal sont consignés dans le tableau suivant.

**Tableau 07:** Contenu des extraits de polysaccharides de noyau d'olives Chemlal

	<b>PNOH</b>	<b>PNOA 0,5M</b>	<b>PNOA 4M</b>
<b>Oses totaux (%)</b>	12,14	2,4	0,6
<b>Oses neutres (%)</b>	10,35	0,99	0,126
<b>Oses acides (%)</b>	1,8	1,41	0,5
<b>Protéine (%)</b>	0,28	0,36	0,03

La détermination de la composition de l'extrait polysaccharide issu des noyaux d'olives, est effectuée par des dosages colorimétriques en ose totaux, neutres, acides et protéine.

Le contenu de l'extrait polysaccharide hydrosoluble (PNOH) est de (12,14%) l'oses totaux et (10,35%) l'oses neutres et (1,8%) l'oses acide et protéine(0,28%),et la fraction (PNOA 0,5M) l'oses totaux (2,4%) , l'oses neutres (0,99%), l'oses acides (1,41%) et protéine (0,36%) et la fraction (PNOA 4M) l'oses totaux (0,6%) ,l'oses neutres (0,126%), l'oses acides (0,5%) et protéine (0,03%).

Généralement, la composition de l'extrait polysaccharide de cette variété très faible par apporte le cultivar Meche-Degla : (PNDH) l'oses totaux (80%), neutres (35%), acides (45%) et protéine (19%). (PNOA 0,5M) (60%), (25%), (35%), (5,03%) respectivement. (PNOA 4M) (31%), (22%), (9%) et(13,41%) respectivement.(Belabel et Chaib., 2021).

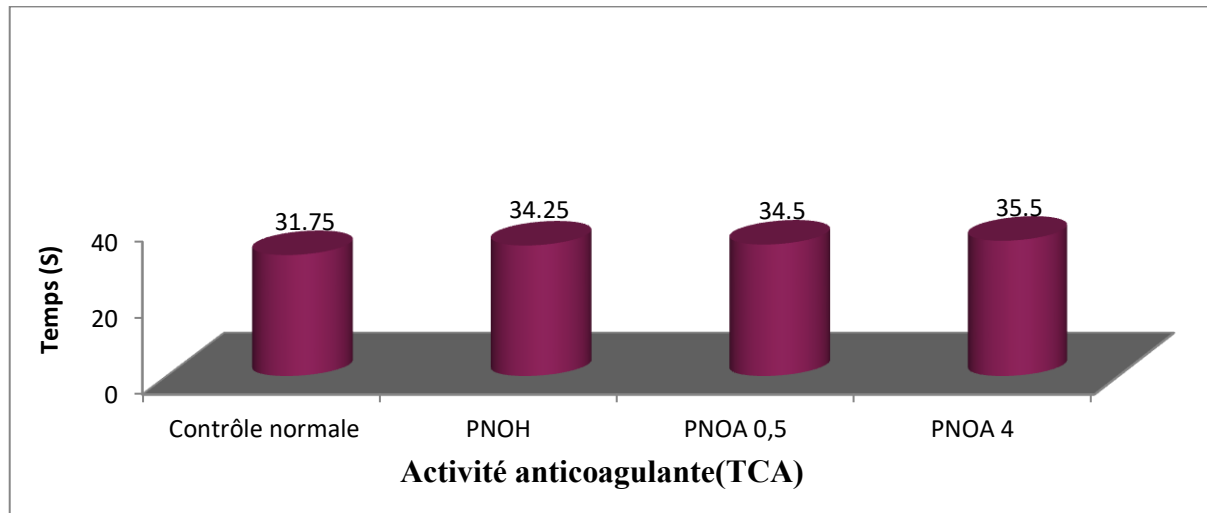
Cette variation est discutée par les facteurs et les paramètres qui peuvent influencer sur le taux des compositions brutes d'un extrait, à savoir la température d'extraction, la quantité du solvant utilisé par rapport à la matière première, le type de polysaccharide et la procédure d'extraction comme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

### **II.3.L'activité biologique :**

#### **II.3.1 Activité anticoagulante :**

L'effet anticoagulant est défini comme l'inhibition de la formation de thrombine active dans le plasma, alors que l'effet anti thrombotique est défini comme l'inhibition de la formation de la thrombose et/ou de sa croissance (Colliec et al., 1990).

La figure(18) présente l'évaluation de la capacité anticoagulante des extraits Polysaccharidiques des noyaux d'olives (chemlal) comparée au contrôle normale avec le test de temps de céphaline activée (TCA).



**Figure18 :** Temps de céphaline activée (TCA)de trois extraits polysaccharides de noyaux d'olives de cultivés Chemlal à un concentration 10 µg /ml.

On remarque les temps de TCK noté pour les fractions testées sont des PNOH (34,25s), PNOA 0,5M (34,5s), PNOA 4M (35,5s) cette résultats proche pour les contrôle normale (31,75s).

Globalement, l'évaluation de la capacité anticoagulante des extrait des noyaux d'olives par teste TCK démontre que ces extraits n'exercent pas une activité anticoagulante importante. Parce que l'activité efficace dépend de plusieurs factures :

- Concentration et l'interaction synergique avec d'autres composants (**Almela et al ., 2006**).
- Périodes de récolte (**Celiktas et al ., 2007**).
- Méthodes d'extraction (**Kosar et al., 2005**).

### II.3.2.Activité antioxydant :

Un antioxydant est toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration para rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manières significatives l'oxydation de ce substrat.

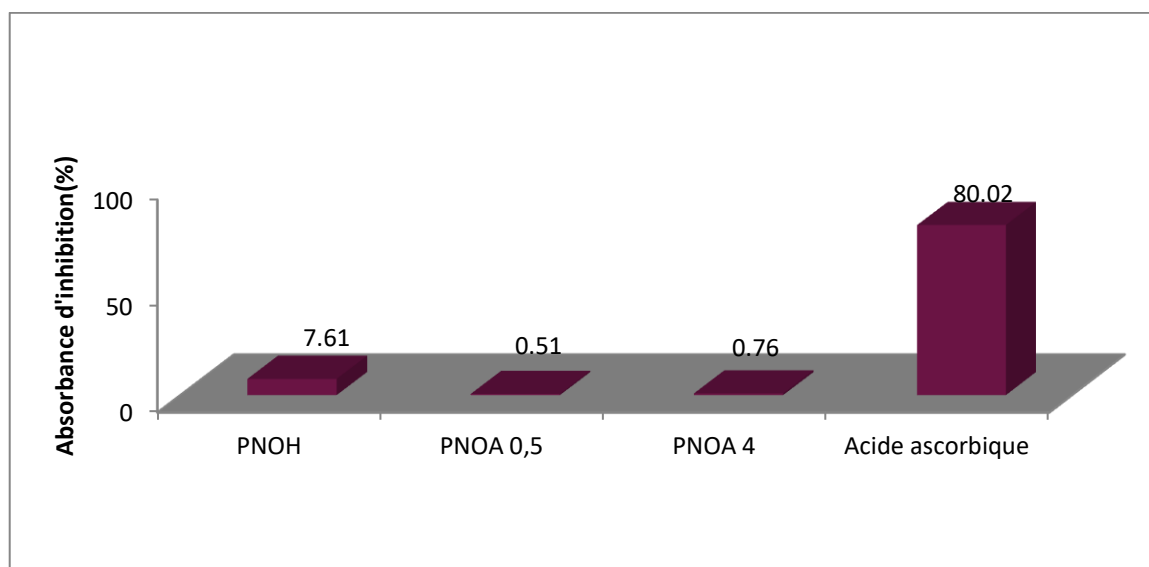
Ces antioxydants présentent un intérêt croissant car il semblerait que les formes réactives de l'oxygène (les radicaux superoxydes, hydroxyles, al oxydes et peroxydes, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet) soient, en partie du moins à l'origine de nombreuses affections comme la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'artériosclérose, la polyarthrite chronique, le mongolisme ou encore le cancer (Ils interviennent aussi dans le phénomène de vieillissement (**Timbo., 2003**).

Dans notre étude trois tests différents ont utilisé pour déterminer le pouvoir antioxydant de l'extrait brut des noyaux d'olives (Chemlal): le test de piégeage du radical DPPH, le test de FRAP (Ferric Reducing Power) et test blanchissement du  $\beta$ -carotène.

### II.3.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH :

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

L'activité anti radicalaire exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Le radical DPPH. Est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et la simplicité de l'analyse (**Bozin et al.,2008**).



**Figure19** : Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration 50  $\mu$ g/ml par Test DPPH

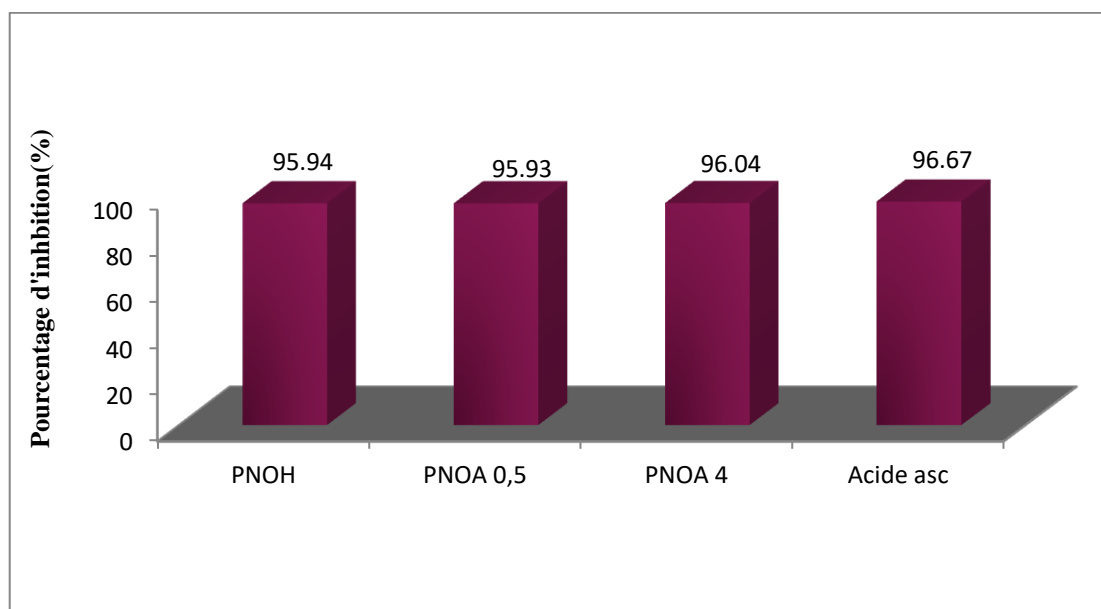
On remarque que toutes les fractionnent un pouvoir d'inhibition des radicaux libres variables pour le DPPH, les extraits polysaccharide noyaux d'olive cette variant le PNOH (7,61%), PNOA 0,5M (0,51%) et PNOA 4M (0,76%) un toutes les extraits très faibles par apporte le acide ascorbique. En revanche, les extrait des (**Beretima et Medjour.,2021**) variété Deglet-Nour c'est un PNDH (67,14%), PNDA 0,5M (45,71%) et PNDA 4M (14,28%).

Globalement, nous notons que les valeurs de notre étude étaient très faible, et cela au fait qu'elle contient un pourcentage très faible de protéine allant jusqu'à (0,36%) par apporte les protéines Deglet-Nour (23%). Cette hypothèse a été renforcée par (**Chelvalier et al .,2001**)qui

ont rapporté que des protéines glycosylées par du ribose et de l'Ara avaient des propriétés antioxydants significatives. Selon (Cao.,2013),les extrait polysaccharidique de verte à une forte activité à cause de présence de une quantité importante de protéines pour fixer les radicaux des DPPH.

### II.3.2.2. Réductions du fer FRAP :

L'activité antioxydant de nos extraits a été aussi évaluée par la méthode de FRAP, qui est une méthode simple rapide et reproductible. Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ).



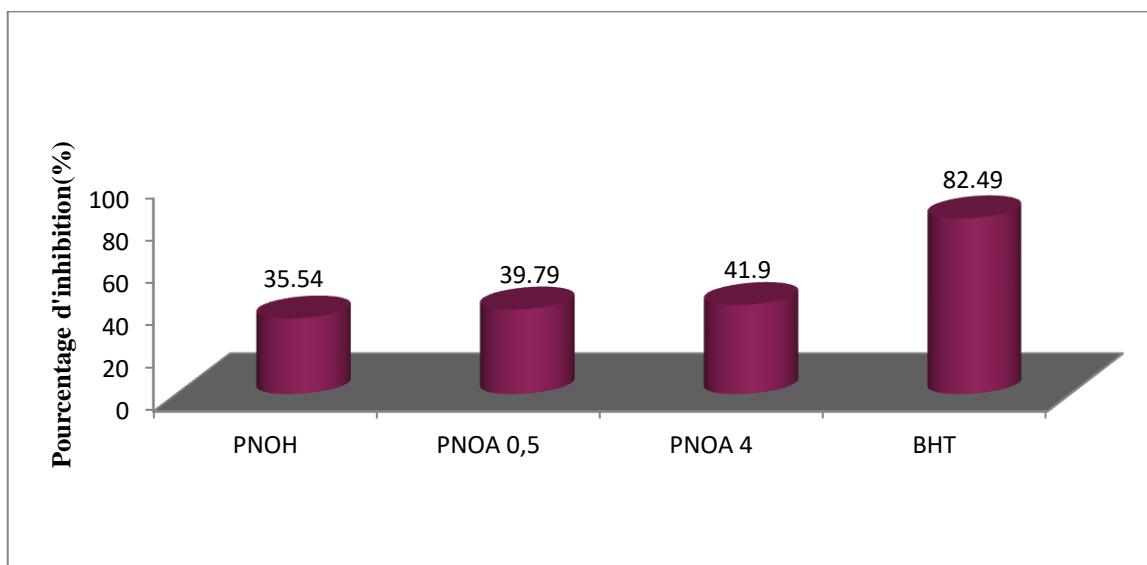
**Figure20 :** Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration mg/ml par Test FRAP

Le pouvoir réducteur de l'extrait est dose dépendant, on remarque que PNOH (95,94%), PNOA 0,5M (95,93%),PNOA 4M (96,04%) et Acide ascorbique (96,67%). Donc le pouvoir réducteur de ce polysaccharide est égal à l'acide ascorbique.

Selon l'étude statistique, l'activité antioxydant FRAP présente une corrélation positive avec les oses neutres, oses acides, oses totaux. On peut ainsi dire que cette activité antioxydant justifie la teneur ou la qualité des oses qui existent dans les noyaux d'olives.

### II.3.2.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène :

Dans le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux libres due à l'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir des groupes méthylène de l'acide linoléique. Puis le radical libre va oxyder le béta carotène hautement insaturé. la Présence d'un antioxydant dans l'extrait permet de minimiser l'oxydation du béta carotène par les hydro-péroxyde qui sont neutralisées (Porpovic et al., 2009).

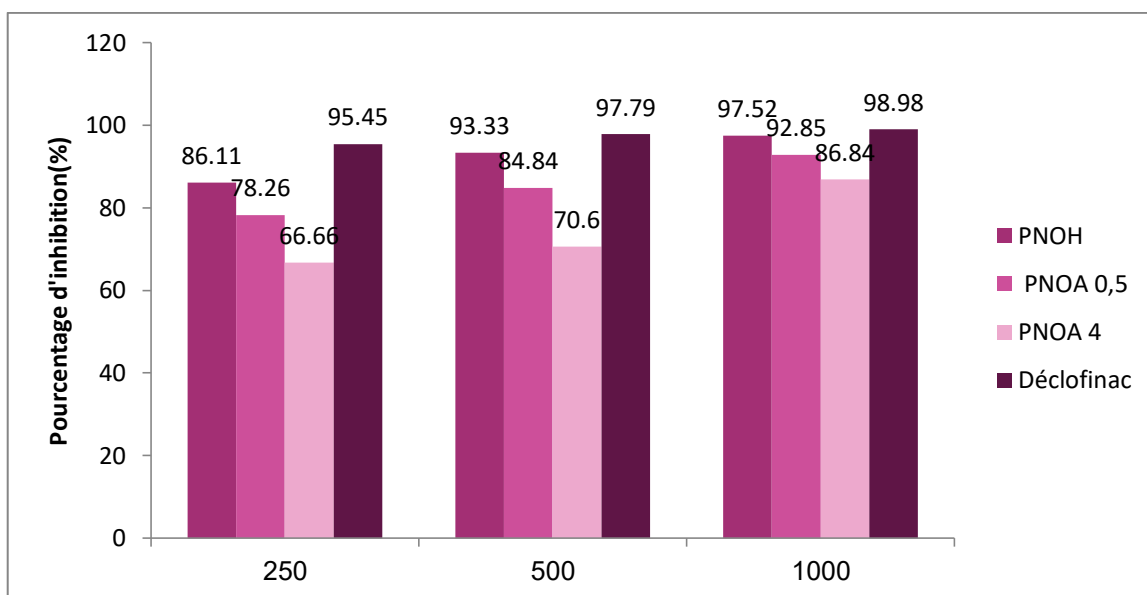


**Figure21 :** Activité antioxydant des différentes fractions à la concentration mg/ml par Test  $\beta$ -carotène

D'après les figures, remarque le pourcentage d'inhibition de l'oxydation des extrait PNOA 4 (41,9%), PNOA 0,5 (39,79%),PNOH (35,54%) respectivement faibles efficaces par apporte le BHT (82,49%).

### II.3.3 Activité anti-inflammatoire :

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



**Figure22 :** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrait mg/ml

Cette résultats présentés sur la figure (22) expliquent les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de protéines polysaccharide de variétés Chemlal . On remarque que l'augmentations des différentes concentration des extraits est proche avec celle du diclofinac sodium ,un anti-inflammatoire révèlent que l'effet inhibiteur des trois extraits.

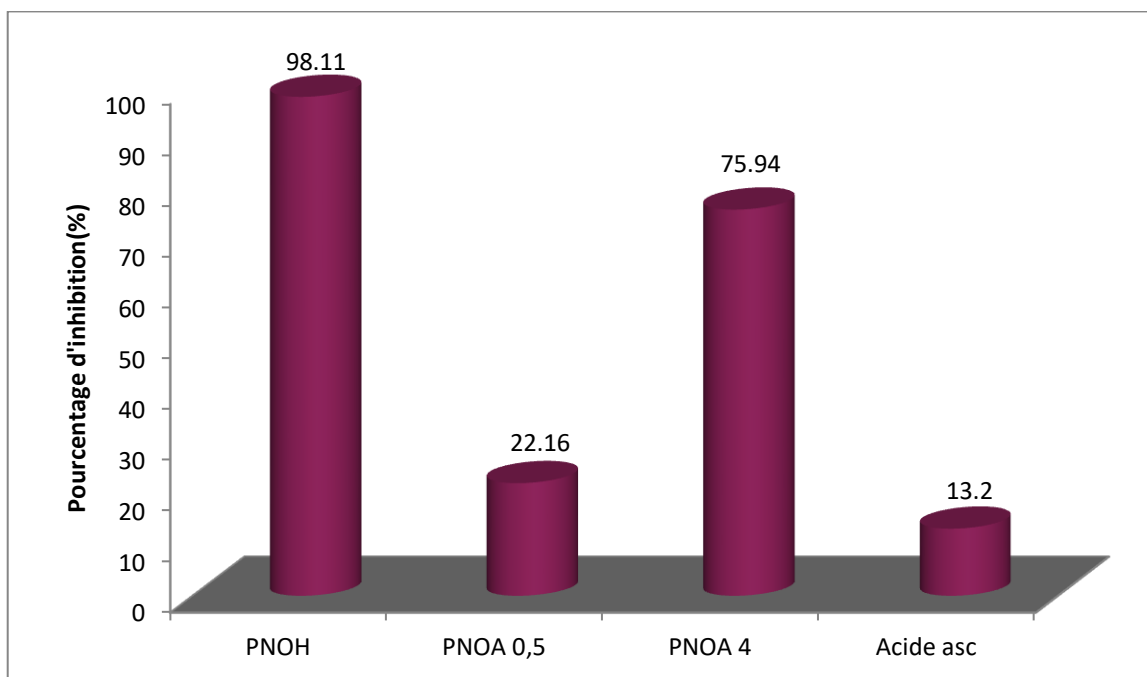
Dans la concentration 250µg/ml donne un PNOH(86,11%), PNOA 0,5(78,26%) etPNOA4(66,66%) similaire par apporte le diclofinac soduim (95,45%). Et dans la concentration 500µg/ml le PNOH(93,33%),PNOA 0,5(84,84%) PNOA 4(70,6%) proche à diclofinac sodium(97,79%) et la concentration 1000µg/ml le PNOH(97,52%), PNOA 0,5(92,85%),PNOA 4(86,84%) similaire par apporte le diclofinac sodium. Est cette résultats dans la deux concentration 250µg/ml et 500µg/ml de la variété Chemlal a plus par apporte le variété polysaccharides Mech Deglat on concentration 250µg/ml PNDH(75%),PNDA0,5(50%), PNDA4(46%) et diclofinac de sodium (82%) à la concentration 500µg/ml PNDH(92%), PNDA0,5(66%), PNDA4(53%) et diclofinac de sodium (93%) Mech Degla (**Belabel etChaib.,2021**).

L'effet inhibiteur de la dénaturation de protéine par l'extrait polysaccharide montre que ces extraits ont une activité anti-inflammatoire. Celle-ci pourrait être due à la richesse de ces extraits de noyau d'olive en composés bioactifs.

Selon l'étude statistique de l'activité anti-inflammatoire présent une corrélation négative avec le Protéine, grâce à faible quantité, donc ça explique la relation entre le DPPH et Anti-inflammatoire.

#### **II.3.4.Activité hémolytique :**

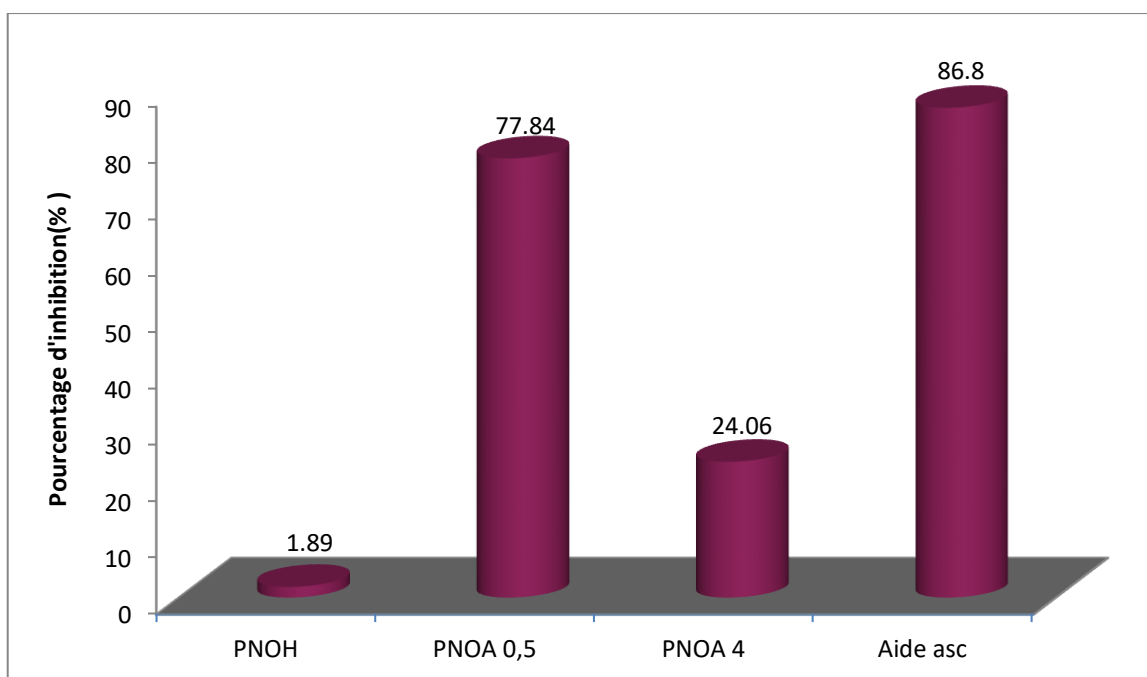
Afin d'estimer l'activité hémolyse des extraits polysaccharidique, on utilise le test hémolyse en tant que ce test le plus simple et plus rapide pour ce but ; Où les pourcentages hémolyse ont été déterminées par la formule (**Abirami et al 2014**).



**Figure23 :** Histogramme comparatif d'taux Hémolyse d'acide ascorbique et des trois extraits testés en concentration mg/ml

Les extraits polysaccharides PNOH et PNOA 4 ont présenté une faible hémolyse par le pourcentage d'inhibition différait légèrement (98,11%) et (75,94%), respectivement par apporte le pourcentage d'acide ascorbique (13,2%).Contre le pourcentage extraits PNOA 0,5 (22,2%) l'hémolytique à proche par apporte le PNOH et PNOA 4.

**II.3.5. Activité anti-hémolytique :**



**Figure 24 :** Histogramme comparatif d'taux Anti-hémolyses et des trois extraits testés en concentration mg /ml

Les extraits polysaccharides PNOH et PNOA 4 ont présenté une faible activité anti-hémolyse, le pourcentage d'inhibition (1,89%), (24,06%) par apporte le pourcentage d'acide ascorbique (86,8%).Contre le pourcentage d'extrait PNOA 0,5 (77,84%) l'activité anti-hémolyse à proche par apporte l'acide ascorbique (86,8%).

**II.3.6.Activités antibactérienne :**

Des Photos présentes les résultats de test antibactérien de l'extraite polysaccharide de la variété olives Chemlal avec différents souches bactéries à comparées de test l'eau distillée.

Les Photoes montre que tous les extraits (PNOH, PNOA0,5, PNOA4) ils n'ont aucun effet sur ces bactéries , similaire à l'eau distillée, qui n'ont aucune activité contre les bactéries.

Il a également été comparées à d'autres travaux polysaccharides MechDegla(**Belabel etChaib.,2021**) et Deglet Nour (**Berretima et Medjour .,2021**)qui ont montré les mêmes résultats, aucun effet sur les bactéries.

<p><b>Photo 03 :</b> Effet de l'extrait PNOH. PNOA0,5 . PNOA4 sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p><b>Photo 04 :</b> Effet de l'extrait PNOH. PNOA0,5 . PNOA4 sur la croissance d'<i>Escherichia coli</i></p>	<p><b>Photo 05 :</b> Effet de l'extrait PNOH. PNOA0,5 . PNOA4 sur la croissance de <i>staphylococcus aureus</i></p>

# Conclusion

---

### *Conclusion*

Le présent travail étudier les activités et les caractéristiques biologiques de plante l'olive Chemlal dans la région D'EL OUED. Après une extraction par macération à chaud avec de l'eau distillée des polysaccharides hydrosolubles et puis une macération à chaud avec une solution alcalin de KOH 0,5M et 4M.

Nous avons obtenu trois fractions, une fraction de polysaccharide hydrosoluble et deux fractions de polysaccharide alcalisoluble.

Le rendement de l'extrait lipidique obtenu (2,53%) et pour le polysaccharidique bruts (32,92%), polysaccharide hydrosoluble (0,53%), polysaccharide alcalisoluble 0,5M (4,346%) , polysaccharide 4M ( 28,04% ).

Etudiée de la composition des extraits bruts hydrosoluble et alcalisolubles , donne des valeurs d'ose totaux PNOH(12,4%) , PNOA0,5(2,4%), PNOA4(0,6%) et l'ose neutres donne PNOH(10,35%), PNOA0,5(0,99%), PNOA4(0,126%) et l'oses acides donne PNOH(1,8%), PNOA0,5(1,41%), PNOA4(0,5%) et les protéines donne PNOH(0,28%), PNOA0,5(0,36%), PNOA4(0,03%).

Les fractions polysaccharidique testées possède une activité anti-inflammatoire dans tous l'extraction PNOH, PNOA0,5, PNOA4 en différentes concentration.

L'activité anti-hémolyse montre un activité dans le polysaccharide 0,5M(77,84%) mais faible pour les PNOH(1,89%) et PNOA4M(24,06%).

L'activité antioxydant par le trois extraits par trois testes, le FRAP donne un plus activité PNOH(95,94%), PNOA0,5M(95,93%), PNOA4M(96,67%) et test  $\beta$ -carotène donne PNOH(35,54%), PNOA0,5M (39,79%), PNOA4M(41,9) et ne présentent pas d'activation dans test DPPH et l'activité anticoagulantes et antibactérienne.

---

### Perspectives

D'après nos recherches sur les polysaccharides les noyaux d'olives, les études sont encore peu nombreuses par rapport à leur grand nombre. Il serait donc intéressant d'identifier et caractériser de nouvelles activités biologiques des polysaccharides, notamment d'origine végétale, pour augmenter son utilisation dans les remèdes naturels. Comme l'utilisation de la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et chromatographie sur couche mince (CCM).

Il est également préférable de prévoir toutes les conditions et moyens nécessaires à l'extraction des polysaccharides, c'est la température, et le temps d'extraction pour augmenter le rendement d'extraction des polysaccharides et obtenir un extrait très pur. Pour ne pas être affecté il est préférable de répéter l'expérience avec les dilutions effectuées afin d'identifier la cinétique ou le dosage optimal et de sélectionner un protocole approprié pour obtenir des résultats précis. Aussi, on peut appliquer des autres activités biologiques comme : l'activité anti tumorale, l'activité antifongique, l'activité antivirale.

# Références

- Abdessmed S., (2017). -Contribution à la caractérisation et à l'identification des écotypes d'olivier *Olea europaea* dans la région des Aurès. Thèse de doctorat d'état Université de Batna 2. 106 p.
- Abirami A., Gunasekaran N., & Perumal S., (2014). -In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitory potential of fresh juice from Citrus hystrix and C. maxima fruits. Food Science and Human Wellness, (03): 18-22.
- Abu-Danso E., Peräniemi S., Leiviskä T., Kim T., Tripathi K. M., & Bhatnagar A., . (2019). -Synthesis of clay-cellulose biocomposite for the removal of toxic metal ions from aqueous medium. Journal of Hazardous Materials, 381, 120871 . doi:10.1016/j.jhazmat.2019.120871.
- Acila S., (2018). -Introduction de l'olivier (*Olea europaea* L.) à Oued Souf: situation actuelle et perspectives de développement, cas de l'exploitation Daouia. Université KasdiMerbah- Ouargla. 194p.
- Ait Mouloud M., (2014). -Terroirs en méditerranée : concepts, Théories, pratique et perspectives de la valorisation de l'huile d'olive de la région kabyle quel signe de qualité mettre en place P:69.
- Aouidi F.,(2012).-Etude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea Europaea* dans l'industrie Agro-Alimentaire, 140p.
- Argebson C., (2008).-La culture de l'olivier dans le monde, ses productions, les tendances. Le Nouvel Olivier. 61: 8-11.
- Athukorala Y., Jung W K., Vasanthan T., Jeon Y. J.,(2007). -An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of Ecklonia cava. Carbohydrate Polymers, vol. 66: 184-191.
- Babery J., Delhomme J.P., (1982). -Lavoie romaine de piedmont Sufetula-Mascliana (DjebelMrhila ,Tunisie centrale) .Antiquités Africaines, 18: 27-43.
- Beamont S.,(2015)- Biochimie UA1. 1 ère année santé. 4ème Ed: Ediscience. P : 52-54.
- Bedjaoui K., Bensalem S.,(2012). -Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive de deux variétés étrangères :Picholine marocaine et Maurino. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Contrôle de qualité analyses. Université Abderrahmane MIRA de Béjaia. 95p.
- Bekkari T., Guia K., (2019). – Contribution à l'étude de l'entomofaune inféodée aux oliveraies de la région de Oued Souf , Université Echahid Hmma Lakhdar-Eloude.80p.

- Belabel M., Chaib S., (2021). --Extraction et Caractérisation physico-chimique des polysaccharides des noyaux des dattes cultivars Mesh-Degla, Université Echahid Hmma Lakhdar-Eloude.109p.
- Belkebir Z.,(2007).-Valorisation des déchets Agro-alimentaires cas des grignons d'oliviers. Mémoire de master d'tat Université M'Hamed Bougara-Boumerdes,114p
- Bensemmane A.,(2009). -L'oléiculture: développons le secteur de l'huile d'olive. Food and Agriculture Organisation (FAO).,2013, Séries statistiques.
- Berker K. I., Güçlü K., Tor İ., &Apak R., (2007). -Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*,72(3),1157–1165. doi:10.1016/j.talanta.2007.01.019.
- Bernard K., Vidal C., (1990).- Polysaccharides sulfates, agent anticoagulant et agent anti complémentaire obtenus à partir de fucanes d'algues brunes et leur procédé d'obtention.
- Berretima B D., Madjour H., (2021). --Extraction et Caractérisation physico-chimique des polysaccharides des noyaux des dattes cultivars Degla-Nour, Université Echahid Hmma Lakhdar-Eloude.64p.
- Besnard G., Berville A.,(2005). -Les Origines de l'Olivier (*Olea europaea*L.) et des oléastres. Ed. Aitae , Aep.
- Boudiaf A et Zegtitouche M., (2019). --Caractérisation physico-chimique des huiles d'olives stockées. Diplôme de mastèr Université de Mohamed ElBachir El Ibrahimie.B.B.A ,68p.
- Bougandoura N., &Bendimerad N., (2013). Evaluation de l'activité antioxydant des extraits aqueux et méthanolique de Sature jacalaminthassp. *Nepeta (L.)*Briq. *Nature &Technologie*, 9, 14-19.
- Boukhari R., (2014). -Contribution à l'analyse génétique et caractérisation des quelques variétés d'olivier, P:01.
- Bradford M., (1976). -A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical biochemistry*, vol. 72: 248-254.
- Brand-Williams W., Cuvelier M E., et Berset C., (1995). -Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Le bensmittel- Wissen schaft and Technology*. 28: 2530.

- Brudieux V.,(2007). -Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. A location de la relation structure/activité à la dermo cosmétique. These de Doctorat, Université de Limoges, 220p.
- Caesar L. N., (2007).- Etude de la phytochimie et des activités biologiques de deux-plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise :*Terminalia liacatappa*L(*Combretaceae*) et *Kalanchoecrenata* (Andr.) Haw (*Crassulaceae*). Thèse de doctorat.Université de bamako, P:179.
- Camps-FabrerH., (1974).-L'Olivier et son importance économique dans l'Afrique antique romaine. Options Méditerranéennes, 24:21-29.
- Chen L., Huang G., (2018). -The antiviral activity of polysaccharides and their derivatives. Journal of Biological Macromolecule. Vol P: 115. P: 77-8.
- Chen X., Wang S., and Cao W., (2018). –Mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation in cell therapy of neurodegenerative diseases. Cellular Immunology, vol 326: 8–14.
- Chen Y., Song M., Wang Y., Xiong W., Zeng L., Zhang S., Xu M., Du H., Lil J., Wang D., Wu Y., Hu Y., (2015). -The anti-DHAV activities of Astragalus polysaccharide and its sulfate compared with those of BSRPS and its sulfate. Carbohydrate Polymers, vol. 117: 339–345.
- Chen Z G., Zhang D N., Zhu Q., Yang Q H., Han Y B., (2014). -Purification, preliminary characterization and in vitro immunomodulatory activity of tiger lily polysaccharide. Carbohydrate Polymers, vol. 106: 217-222.
- Chouana T.,(2017).-Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombobunge. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah d'Ouargla .P: 2039.
- Claridge M F., Walton M.,(1992). -The European Olive and its pest-managements tegies.
- Cuneo P., Le ishman M.R., (2006). -African Olive (*Olea europaea subsp. Cuspidata*) as an environmental weed in eastern Australia. Cunninghamia,9(4):545-577.
- Delassus M., et Pasquier., Collic S., Bretau diere J., Patrick D., (1931)-Fischer A.M., Jacqueline J.
- Délattre C.,(2005)-Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de gluconate PDF.P:4-11.
- Didonato P., Poli A., Taurisano V., et Nicolaus B., (2015)-In Kishan Gopal Ramawat, K. G., and Mérillon, J-M. Polysaccharides Bioactivity and Biotechnology.P: 604-634.

- Ding H H., Cui S W., Goff H D., Wang Q., Chen J., Han N F.,(2014). -Soluble polysaccharides from flaxseed kernel as a new source of dietary fibres: Extraction and physicochemical characterization. *Food Research International*, vol. 56: 166-173.
- Dinoro, J., Maher M., Talebian S., Jarfarkhani M., MehraliM., OriveG., Dolatshah IPirouza. (2019).-Sulfated polysaccharide based scaffolds for orthopaedic tissueengineering. *Biomaterials*, 214, 119214. doi:10.1016/j.biomaterials.2022 .05.25.
- Djadouf .S et al., (2019)-Influence de la distribution en taille (broyat de noyauxd'olive) Sur les propriétés de la brique, Article in *Matériaux and Techique* .Janury.209, 7p.
- Du B., Fu Y., Wang X., Jiang H., Lv Q., Du R.,Rong R. (2019). Isolationpurification, structural analysis and biological activities of water-soluble polysaccharide from *Glehniae radix*. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol.128 P:724-731.
- Dubois M., Gilles K A., Hamilton JD., Rebers P A., Smith F., (1956). -Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chern.*, vol. 28: 350-356.
- Elhachemi C.,(2010). -Effet de différents modes de sechage sur la stabilite des qualités nutritionnelles et microbiologique du grignon d'olive durant 3 mois de stockage .Thèse de doctorat d'tat Université d'Oran Es-Senia, 81p.
- FouinJ., Sarfati C. (2002). *Le guide des huiles d'olive*. Ed. Du Rouergue. 335p.
- Fraancis Suh J. K., and Matthew H. W. T., (2000). -Application of chitosanbased polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review*Biomaterials*, vol. 21:2589-2598.
- Gaeta K.W., Verma D., (2018). -Polysaccharides as biomaterials. *Fundamental Biomaterials: Polymère*. P:37-70.
- Gao Y .,Lig ., Li C ., Zhu X .,Li M .,Fu C and Li B. (2009).- Anti-nociceptive andanti-inflammatory activity of sophocarpine. *Journal of Ethno pharmacology*,vol.125 P: 329-324.
- Gazengel J M., Orecchioni A M.,(2013). -Le préparateur en pharmacie (Coll. Guide Théorique etPratique), Ed La voisierémeÉd. Paris,1761 p.
- Ghaisas M M., Navghare V V., Takawale A R., Zope V S., &Des hpande A. D.,(2008). - In-vitro antioxidant activity of tectona grandislinn. *Pharmacology online*, 3, 296- 305. *Experimental Biology*, 10(2), 125 – 132.
- Ghalmi Rym., (2012). -Effet de facteurs Agronomiquessur le rendement et la qualité de l'huile d'olive P:13.

- GhaniaA(2015). -Extraction, caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides des noyaux des dattes; variété Ghars. Mémoire de master Université de Kasdi Merbah -Ourgla,73p.
- GharabiD.,(2019). -Effet du stress salin et morpho-biochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et introduit non greffés. Thèse de doctorat en sciences d'tat Université DjillalyLiabes de sidiBel Abbes 93 p.
- Ghout L., Hadjam K.,(2013). -Contribution à l'étude morphologique de quelques variétés d'olivier (*Olea europaea L.*) Algériennes mémoire de master en environnement et sécurité alimentaire. Université Abderrahmane MIRA de Bejaia. 78p.
- Gomes S., Martins-Lopes P., et Guedes-Pinto H., (2012). -Olive Tree Genetic Resources Characterization through Molecular Markers, Genetic Diversity in Plants, Prof. Mahmut Caliskan (Ed).
- Guezoul O., Chenchouni H., Sekour M., Ababsa L., Souttou K., Doumandji S., (2013). - Saudi J. Biol. Sci., 20 (1): 37-43.
- Guignard&Dupont., (2004). -Botanique: systématique moléculaire. 13ème Eds, Masson.Paris. France,P:164-179.
- Hadou D.,(2017). -L'infestation de la teigne de l'olivier dans quelquesvergers,Diplôme de master d'tat Université de Tlemcen,76 p.
- Hennen G.,(2006). -Biochimie approche bioénergétique et médicale. 4ème Ed : Dunod. P:18-17.
- Henry S.,(2003). -L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincare - Nancy 1. 127p. Invest. (2000).18: 214-22.
- Hu H., Liang H., Wu Y.,(2015). -Isolation, purification and structural characterization of polysaccharides fromacan thopanaxbrachypus. Carbohydrate Polymers, Volume 127,P: 94-100.
- Huang S.Q., Ning Z. X.,(2010). -Extraction of polysaccharide from Ganoder malucidum and its immune enhancement activity. International Journal of Biological Macromolecules, Volume 47, Issue 3, P: 336-341.
- ImreB., García L., Puglia D., &Vilaplana F., (2018). -Reactive Compatibilization of Plant-Polysaccharides and Biobased Polymers: Review on Current Strategies, Expectations and Reality. Carbohydrate Polymers, 209, 20-37. doi:10.1016/j.carbpol.2018.12.082.

- Jérôme J., perry James T., staleyste phenlorry.(2004).-Microbiologie. Ed :Dunod P :248-247.
- Kaboot I et Saad H., (2020). -Cotribution à l'étude des huiles oliveViège issues de trios cultivars de Sud-Est Algérien. Mémoire de master d'tat Université de Mohamed Khieder de Biskra,57 p.
- Kasraoui. F., Med., (2010).-L'olivier le site officiel de l'INGMed.p2-5.
- Koleva I I., van Beek T A., Linssen J P., Groot A D.,& Evstatieva L N. -Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical analysis, 2002; 13(1), 8-17.
- Kortchinsky T., Vigue B., et Samma A C., (2013).-Antagonisation des héparineset des nouveaux anticoagulants Reversal for heparins and new anticoagulant treatments. P:37-49.
- Laguerre M Lecomte J., Villeneuve P.-Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Progression in Lipid Research.2007, 46 (5):244- 82.
- Larabi.N et Khanous.S.,(2016), Inventaire de l'entomofaune de l'olivier dansdeux stations de la région de Mostaganem (Hassimamèche et Hadjadj ). Memoires de master d'taten Agronomies,101p.
- Loussert R., Brousse G., (1978).-L'olivier Techniques agricoles et productions méditerranéennes.(Eds.) Mais on neuve et Larousse,Paris,France,480p.
- Loussert R., Brousse G., (1998). -L'olivier. Ed. G.P. Maison neuveet Larousse, Paris, France. pp 462.
- Lukova, P., Karcheva-Bahche vanska, D., Nikolova, M., Ilia N., Iliev I., Mladenov R.,(2017). -Comparison of structure and antioxidant activity of polysaccharides extracted from the leaves of Plant ago major L., P. media L. and P. lanceolata L. Bulgarian Chemical Communications, 49, 282– 288.
- Malledan Y., (2017). - Méthode de surveillance de l'héparine non fractionnéepar-TC ou anti-Xa. Thèse, université d'Angers, vol P: 70.
- MalvinaBeauclairJardin Familial de France no.502/2017.
- Mansoor H., Saadi N., (2013).-In vitro study of the anticoagulant activity ofsome plant extracts. Indin Journal of applied research, vol. 3P: 120-122.

- Mansouri A., Embarer G., Kokkalou E., et Kefalas P., (2005). -Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*), *Food Chemistry*. 89: 411-420.
- Marouf A., Gérard T.R.,(2009). -Abrégé de biochimie Appliqué .Edition EDP science P : 20-21.
- Martinez G., Delgado R., PerezG., Garrido G., Nunez A., Leon O.,(2005). -Phyther Res: 2000;14:424.
- Mataix J.,Barbancho FJ., (2006). -Olive oil in Mediterranean food .In: Olive oil and Health. Quiles J.L., Ramez-Tortosa M.C.,Yaqoob P (Eds).CAB International, 41p.
- Mei Y., Zhu H., Hu Q., Liu Y., Zhao S., Peng N., Liang Y.,(2015). -A novel polysaccharide from mycelia of cultured *Phellinuslinteus* displays antitumor activity through apoptosis. *Carbohydrate Polymers*, vol. 124.
- Mendil.,L., (2009). -L'oléiculture: expériences Algériennes. *Revue fillah ainnove* n°4 avril.
- Meslaycet M.F., (2007). -Herbier méditerranées .Ed .Edi sud, 9p.
- Mirzadeh M., Arianejad M., R., &Khedmat L., (2019). -Antioxidant, antiradical, and antimicrobial activities of polysaccharides obtained by microwave-assisted extraction method: A review. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115421. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115421.
- Monsigny M., Petit C., Roche A.C., (1988). -Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. *Analytical biochemistry*, vol. 175: 525-530.
- Mourida A., (2014). -Contribution A., L'étude des maladies cryptogamiques d'Oliver dans la région Hennaya Tlemcen.
- MoussardC., (2006). *Biochimie structurale et métabolique 3*. Ed de Boeck :universitéparis P :60-58.
- Mulloy B., Mourao P.A.S., and Gray E., (2000). -Structure/function studies ofanticoagulant sulphated polysaccharides using NMR. *Journal of Biotechnology*, vol. 77 P:135-123.
- Muzzalupo I., -Vendramin G.G et Chiappetta A., (2014).Genetic Biodiversity of Italian Olives (*Olea europaea*) Germplasm Analyzed by SSR Markers. *The Scientific World Journal*, 12p.

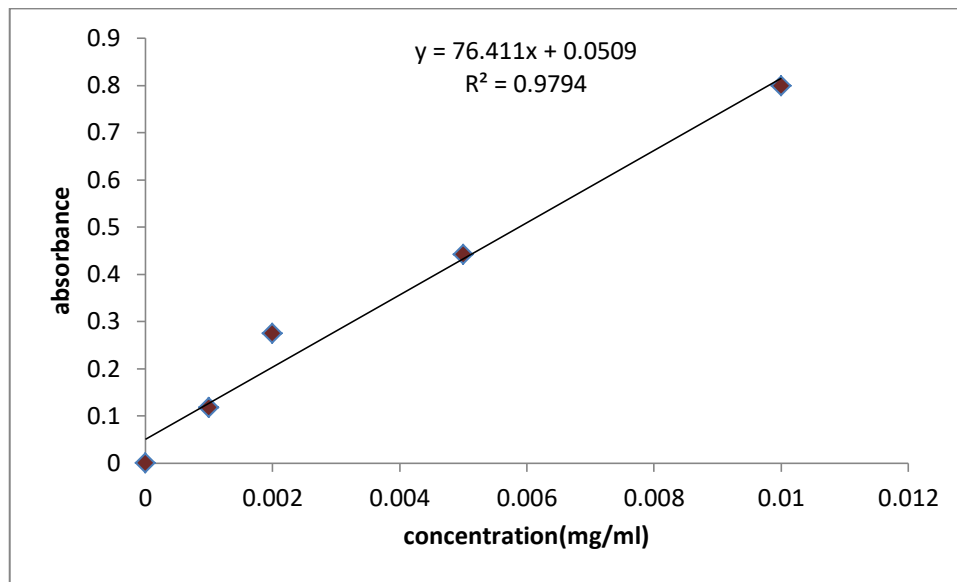
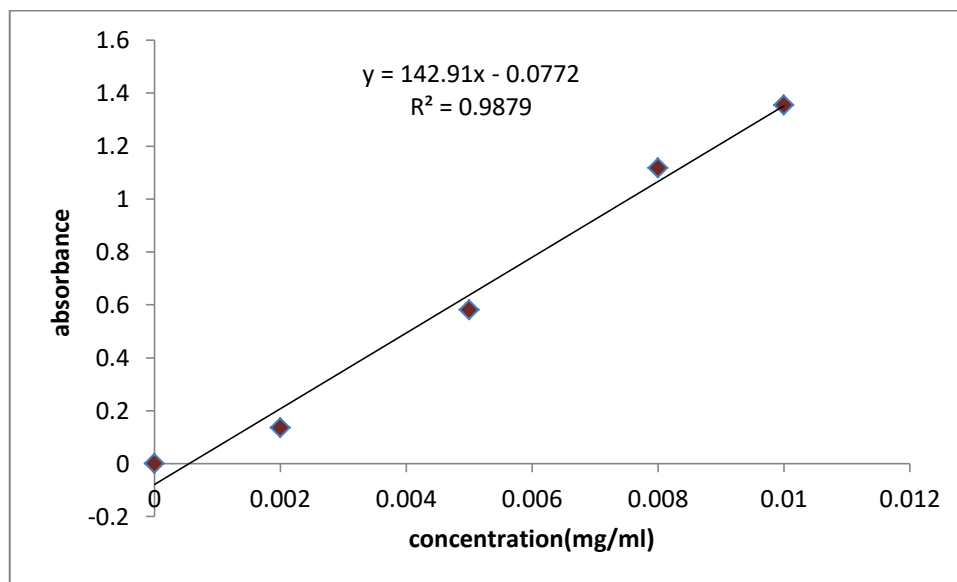
- Mwene-Mbeja T.M., Dufour A., Lecka J., Kaur B.S., & Vaneckhaute, C., (2019). - Enzymatic reactions in the production of biomethane from organic waste. *Enzyme and Microbial Technology*, 132, 109410. doi:10.1016/j.enzmictec.2019.109410.
- Nadjah A., (1970). -Le Souf des oasis. Éditions la maison des livres: 174p
- Nasles O., (2006). -L'olivier, outil d'entretien du territoire dans les pays méditerranéens. *Nouvel Olivier*. 52: 3-5.
- Oudina M et Baziz A., (2017). -Etude des caractéristiques physico-chimiques et biochimiques de trois échantillons huiles d'oliviers Algérien, mémoire de master d'état Université de Frères Mentouri constantine 176 p.
- Pagnol J., (1996). -L'Olivier Aubanel Ed, France.
- Pal A., Das D., Kumar Sarkar A., Ghorai S., Das R. and Pal S., (2015). -Synthesis of glycogen and poly (acrylic acid)-based graft copolymers via ATRP and its application for selective removal of Pb<sup>2+</sup> ions from aqueous solution. *European Polymer Journal*., vol. 66 P: 33-46.
- Percheron F., Perles R., & Foglitti M., (1981). - Glucides. Structure et propriétés. Abrégé de biochimie générale. Ed : Université René Descartes, Paris. P : 31 -3.
- Pinto M., Coelho E., Nunes A., Brandão T., Coimbra M. A., (2015). -Valuation of brewers spent yeast polysaccharides: A structural characterization approach. *Carbohydrate Polymers*, vol. 116: 215-222.
- Pomin V H., (2015). -Sulfate glycans in inflammation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 92 P: 353-369.
- Prajapati VD, Jani GK, Khanda SM (2013). -Pullulan: an exopolysaccharide and its various applications. *Carbohydrate Polymers*. 95(1) P:540–549.
- Rabiei Z., Tahma S., (2012). National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran: Traceability of Origin and Authenticity of Olive Oil -P165.
- Rjeibi I., Feriani A., Saad A. B., Ncib S., Sdayria J., Hfaiedh N and Allagui M. S., (2018). - *Lycium europaeum* Linn as a source of polysaccharide with invitro antioxidant activities and in vivo anti-inflammatory and hepatonephroprotective potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, vol 225 P: 116–127.
- Saad D., (2009). -Etude des endomycorhizes de la variété Sigoise d'Olivier (*Olea europea L*) et essai de leur application à des boutures semi-ligneuses. Mémoires de magister en biotechnologies. Université d'Oran, 98p.

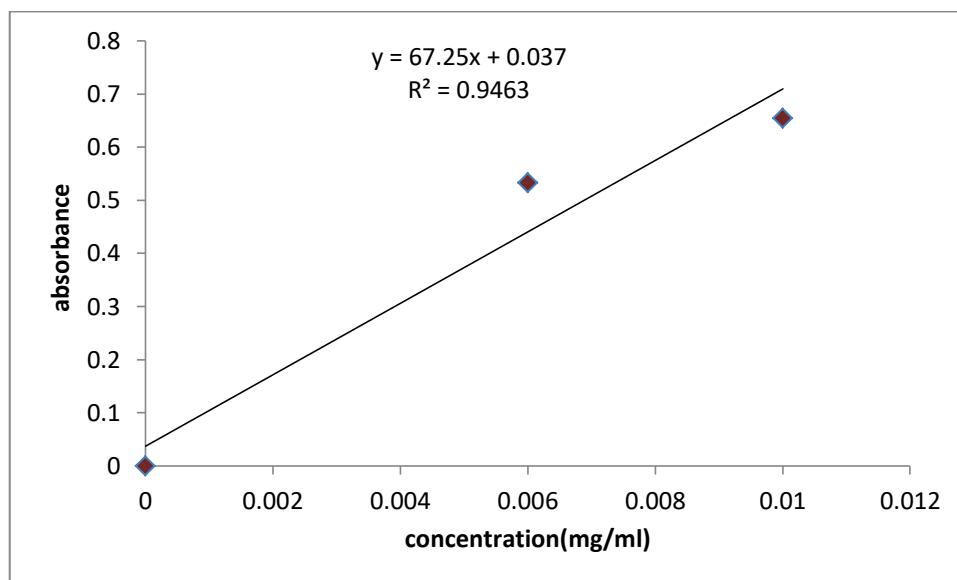
- Salama A. (2019). -Cellulose/calcium phosphate hybrids: New materials for biomedical and environmental applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. P: 127 -606-617doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.130.
- Salama A., Shukry N., & Guarino V., (2020). -Polysaccharide-based hybrid materials for molecular release applications. *Nanostructured Biomaterials for Regenerative Medicine*, 165–201. doi:10.1016/b978-0-08-102594-9.00006-1.
- Sanchez-Moreno C., (2002). -Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; *International Journal of Food Science and Technology*.8: 121-137.
- Sekour B., (2012). –Phyto protection de l’huile d’olivevier par ajout des plantes végétales Université Mohamed Bougera Boumerdes.
- Siouda Z et Lalami O.,(2020). -Etude des différentes techniques culturales pratiquées aux vergers d'olivier (*Olea europaea* ) dans le région semi-acide ,Wilaya de Bordj-Bou-Arréridj. Diplome de master d'tat Université de Mohamed El Bachir El ibrahimi .B.B.A ,51P.
- Song Q., Jiang L., Yang X., Huang L., Yu Y., Yu Q., Xie J.,(2019). -Physicochemical and functional property of a water-soluble polysaccharide extracted from Mung bean (*Vigna radiate L.*) and its antioxidant activity. *International Journal of Biological, Macromolecules*. oi:10.1016/j.ijbiomac.2019.07.16.
- Souza R., Mdeiraa S., J.C, Chagas F.D.S., Parreiras ., L.A, Santosg.R.C., Assreyu A.M.S ., Mour A.O., et Pereira M.G ., 2015- Purified polysaccharides of *Geoffroea spinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks. *Carbohydrate Polymers*, vol .124 P : 208-21.
- Tchobanian A., Van Oost erwyckH., &Fardim P., (2018).-Polysaccharides for Tissue Engineering: Current Landscape and Future Prospects. *Carbohydrate Polymers*, 205, 601-625 .doi:10.1016/j.carbpol.2018.10.039.
- Tlili H., Hanen N., Ben Arfa A., Neffati M., Boubakri A., Buonocore D., Doria E., (2019).-Biochemical profile and in vitro biological activities of extracts from seven folk medicinal plants growing wild in southern Tunisia. *PLOS ONE*, 14(9), e0213049. doi:10.1371/journal.pone.0213049.
- Tukappa NK, A., londonkar R L., Kumar CB S., & Nayaka H. B., (2015). -Evaluation of in vitro and in vivo anti-inflammatory and toxicity studies of methanolic extract of *Rumex vesicarius* Linn.*Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 15(2), 113– 121. doi:10.1007/s13596-015-0180-z.

- Ueno Y., Okamoto Y., Yamauchi R., Kato K., (1982). -An antitumor activity of the alkali-soluble polysaccharides (and its derivatives) obtained from the sclerotia of *Griforaum bellata*(Fr.) Pilát, *Carbohydrate Research*, Volume 101, Issue 1, P:160- 167.
- Venkatesan M., Arumugam V., Pugalendi R., Ramachandran Ksengodan K., Vijatan S.R.,Pugazhendhi A.,(2019).-Antioxidant, anticoagulant and mosquitocidal properties of water soluble polysaccharides (WSPs)from Indian seaweeds. *Process Biochemistry*.P:1-40.
- Villa P.,(2006). -La culture de l'olivier. Ed : VecchiS.A.Paris.
- Voet D et Voet J. G., (2007). -Biochimie 2ème Ed: Boeck. P: 362-366 .
- Voet D., & Voet J., G. (2005). -Biochimie. Sucres et polysaccharides. Éd: All rights réserve de Boeckun diversité paris. P: 356-858
- VoetD., Judith G., Voet.,(2005).-Biochimie. 2 Edi de bock universitéparis P : 368-369.
- YahiaE.M., Carrillo-López A., & Bello-Perez L. A., (2019). -Carbohydrates. *Postharvest-Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, 175- 205.doi:10.1016/b978-0-12-813278-4.00009-9.
- Youmbai A.,(2015). –contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles des quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardia (Sahara septentrional Algérien. Diplôme de Magister en Université Kasdi Merbah-Ourgla.77p.
- Yves R., (2008). -biopolymères dynamiques :oligo et polysaccharides. thèse dedoctorat. Université louis pasteur de stars bourg.
- Zaman A., Huang F., JiangM., Wei W., & Zhou Z., (2019). -Preparation, Properties, and-Applications ofNatural Cellulosic Aerogels: A Review. *Energy and Built Environment*•60-76 .doi:10.1016/j.enbenv.2019.09.002.
- Zhang J., WenC., Zhang H., &DuanY., (2019).-Review of isolation, structural properties, chain conformation and bioactivities of psyllium polysaccharides. *International8Journal of Biological Macromolecules* .139, 409-420. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.08.014.
- Zhang W., Xu P., Zhang H., (2015). -Pectin in cancer therapy: A review. *Trends in Food Science & Technology*. Article in press, 1- 14.
- Zhao B., Zhang J., Guo X., Wang J., (2014). -Microwave-assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from *Liliumdavidii* var. *unicolor* Salisb and its antioxidant activities evaluation. *Food Hydrocolloids*, vol. 31: 346-356.

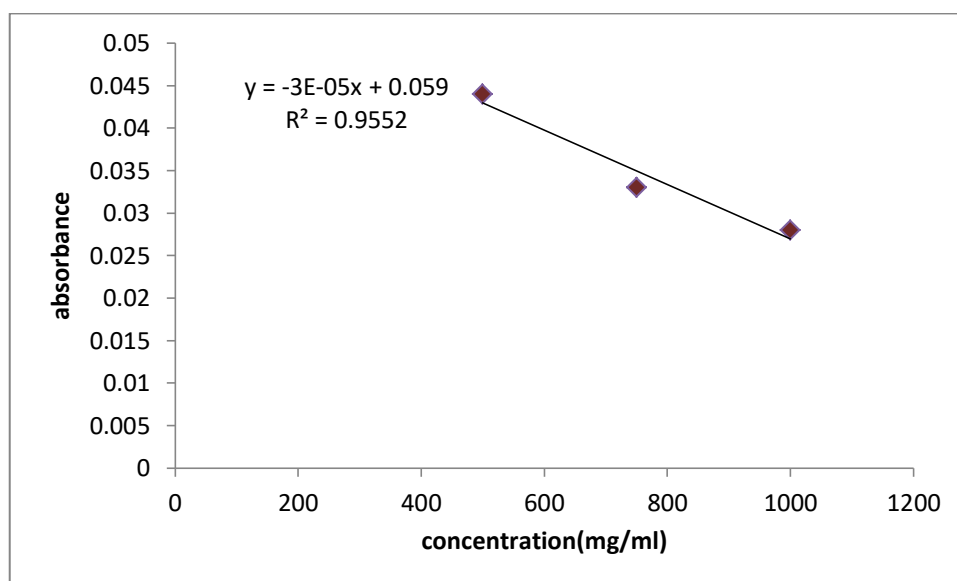
# **Annexes**

## Annexe 01 : Courbe d'étalonnage

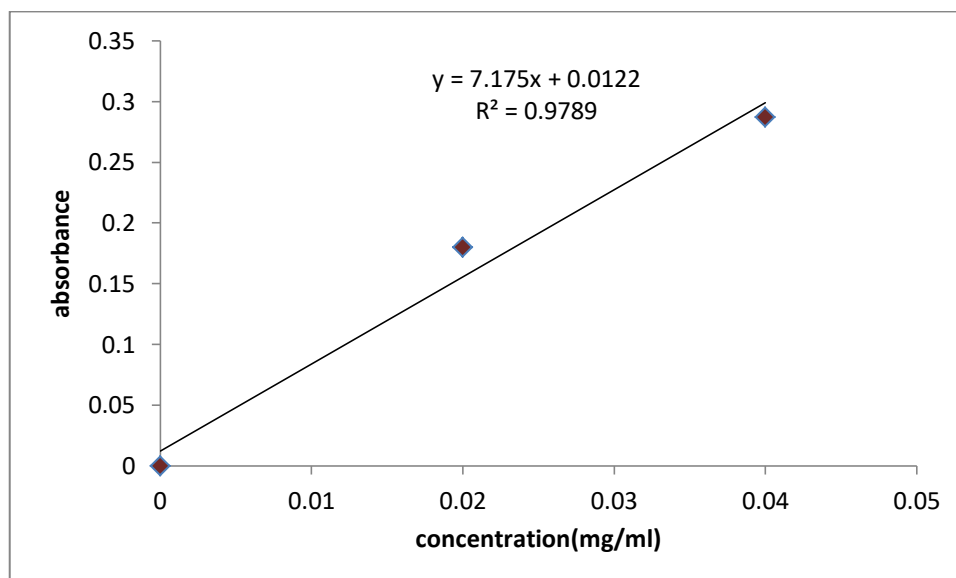
**Figure 1 :** Courbe d'étalonnage des oses totaux (glucose)**Figure 2 :** Courbe d'étalonnage des oses neutres (glucose)



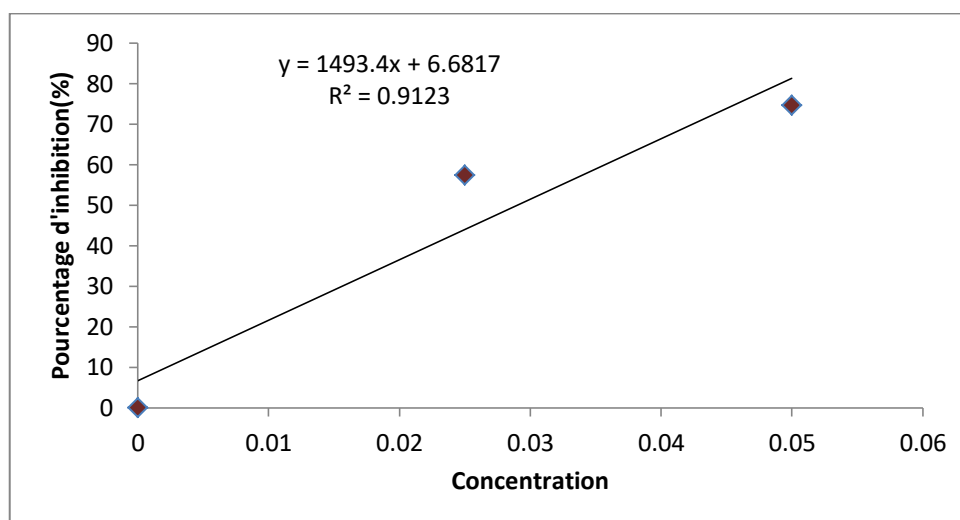
**Figure 3 :** Courbe d'étalonnage des protéines (BSA) la méthode de BRADFORD



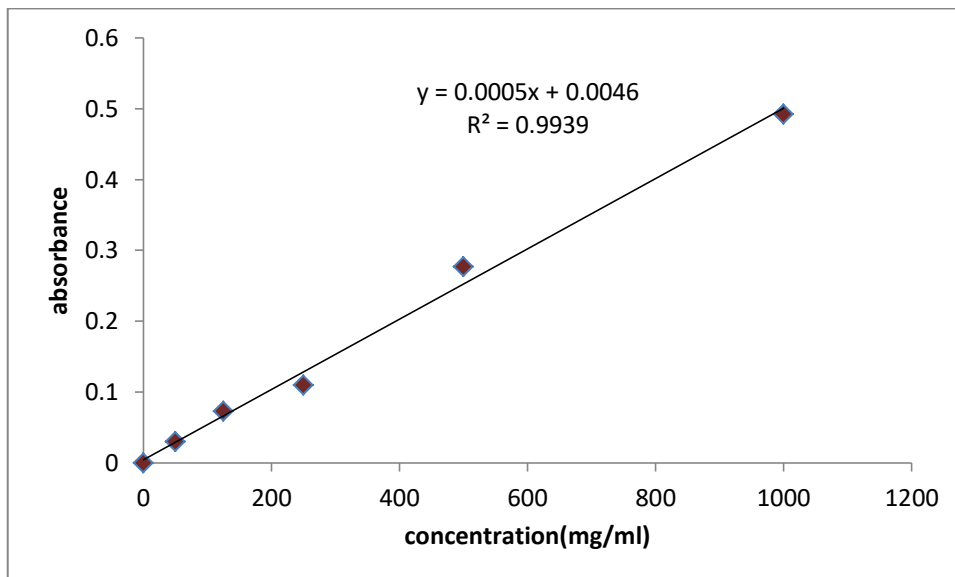
**Figure 4 :** Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test de DPPH



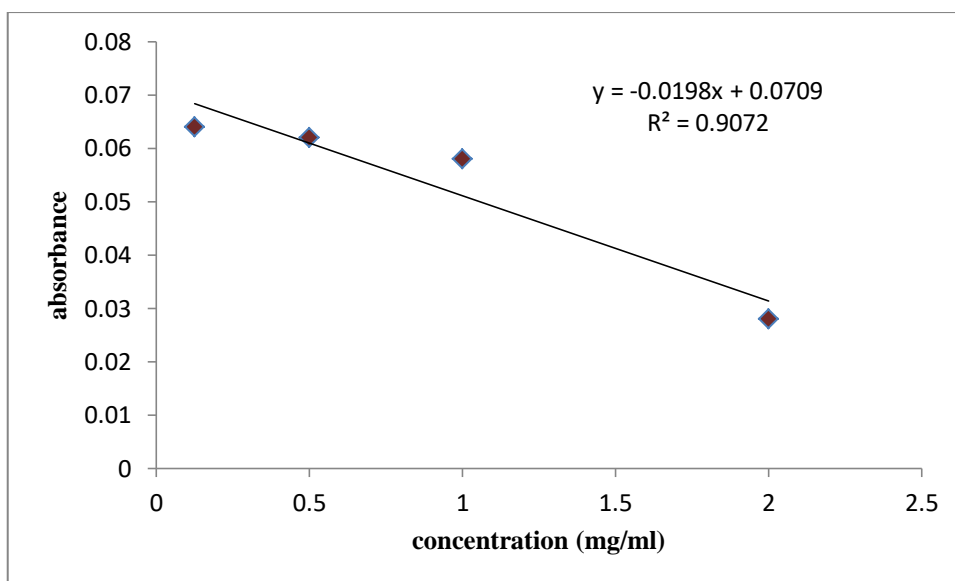
**Figure 5 :** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique de test FRAP



**Figure 6 :** Courbe d'étalonnage de blanchissement du en $\beta$ -carotène différentes concentration de BHT



**Figure 7 :** Courbe d'étalonnage de Diclofénac de sodium pour test anti-inflammatoire



**Figure 8 :** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique test hémolyse

<p><b>Photo 1:</b>Coloration des dosages l'oses totaux</p>	<p><b>Photo 2 :</b>Coloration des dosages l'oses neutre</p>	<p><b>Photo 3 :</b>Coloration des dosages protéine</p>

## Annexes 02 : Analyse statistique

**Tableau 1:** Matrice de dissemblance (SPSS) (H :polysaccharide hydrosoluble,

A0,5 :polysaccharide alcalisoluble0,5M, A4 :polysaccharide alcalisoluble4M, R: rendement massique, OT: oses totaux, ON: oses neutres, OA: oses acides, PR: protéine, AC: anticoagulant, DPPH: test 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle, FRAP: test de FerricReducing Antioxydant Power, BC: bêta-carotène, AI: anti-inflammatoire, AH: anti hémolyse)

H											
	R	OT	ON	OA	PR	AC	DPPH	FRAP	BC	AI	AH
R	<b>0.000</b>	0.882	0.901	0.989	0.999	0.654	0.929	0.019	0.641	0.003	0.987
OT	0.882	<b>0.000</b>	0.983	0.895	0.880	0.774	0.955	0.138	0.761	0.122	0.897
ON	0.901	0.983	<b>0.000</b>	0.914	0.898	0.756	0.974	0.120	0.742	0.104	0.916
OA	0.989	0.895	0.914	<b>0.000</b>	0.986	0.668	0.942	0.032	0.654	0.016	1.000
PR	0.999	0.880	0.898	0.986	<b>0.000</b>	0.652	0.926	0.016	0.639	0.000	0.984
AC	0.654	0.774	0.756	0.668	0.652	<b>0.000</b>	0.727	0.366	0.989	0.350	0.669
DPPH	0.929	0.955	0.974	0.942	0.926	0.727	<b>0.000</b>	0.092	0.714	0.076	0.944
FRAP	0.019	0.138	0.120	0.032	0.016	0.366	0.092	<b>0.000</b>	0.380	0.986	0.034
BC	0.641	0.761	0.742	0.654	0.639	0.989	0.714	0.380	<b>0.000</b>	0.363	0.656
AI	0.003	0.122	0.104	0.016	0.000	0.350	0.076	0.986	0.363	<b>0.000</b>	0.018
AH	0.987	0.897	0.916	1.000	0.984	0.669	0.944	0.034	0.656	0.018	<b>0.000</b>

A0.5											
	R	OT	ON	OA	PR	AC	DPPH	FRAP	BC	AI	AH
R	<b>0.000</b>	0.981	0.966	0.971	0.960	0.686	0.961	0.042	0.630	0.074	0.231
OT	0.981	<b>0.000</b>	0.987	0.991	0.980	0.665	0.982	0.021	0.610	0.054	0.211
ON	0.966	0.987	<b>0.000</b>	0.997	0.995	0.650	0.997	0.007	0.595	0.039	0.196
OA	0.971	0.991	0.997	<b>0.000</b>	0.991	0.655	0.992	0.011	0.599	0.043	0.201
PR	0.960	0.980	0.995	0.991	<b>0.000</b>	0.644	1.000	0.000	0.588	0.032	0.190
AC	0.686	0.665	0.650	0.655	0.644	<b>0.000</b>	0.645	0.358	0.946	0.390	0.547
DPPH	0.961	0.982	0.997	0.992	1.000	0.645	<b>0.000</b>	0.002	0.590	0.034	0.191
FRAP	0.042	0.021	0.007	0.011	0.000	0.358	0.002	<b>0.000</b>	0.413	0.969	0.812
BC	0.630	0.610	0.595	0.599	0.588	0.946	0.590	0.413	<b>0.000</b>	0.446	0.603
AI	0.074	0.054	0.039	0.043	0.032	0.390	0.034	0.969	0.446	<b>0.000</b>	0.844
AH	0.231	0.211	0.196	0.201	0.190	0.547	0.191	0.812	0.603	0.844	<b>0.000</b>

<b>A4</b>											
	<b>R</b>	<b>OT</b>	<b>ON</b>	<b>OA</b>	<b>PR</b>	<b>AC</b>	<b>DPPH</b>	<b>FRAP</b>	<b>BC</b>	<b>AI</b>	<b>AH</b>
<b>R</b>	<b>0.000</b>	0.715	0.710	0.714	0.709	0.923	0.717	0.292	0.856	0.388	0.960
<b>OT</b>	0.715	<b>0.000</b>	0.996	1.000	0.995	0.637	0.999	0.006	0.570	0.102	0.756
<b>ON</b>	0.710	0.996	<b>0.000</b>	0.997	1.000	0.632	0.994	0.001	0.565	0.097	0.751
<b>OA</b>	0.714	1.000	0.997	<b>0.000</b>	0.996	0.636	0.998	0.005	0.569	0.101	0.755
<b>PR</b>	0.709	0.995	1.000	0.996	<b>0.000</b>	0.631	0.993	0.000	0.564	0.096	0.750
<b>AC</b>	0.923	0.637	0.632	0.636	0.631	<b>0.000</b>	0.639	0.370	0.934	0.466	0.882
<b>DPPH</b>	0.717	0.999	0.994	0.998	0.993	0.639	<b>0.000</b>	0.008	0.572	0.104	0.758
<b>FRAP</b>	0.292	0.006	0.001	0.005	0.000	0.370	0.008	<b>0.000</b>	0.437	0.905	0.251
<b>BC</b>	0.856	0.570	0.565	0.569	0.564	0.934	0.572	0.437	<b>0.000</b>	0.532	0.815
<b>AI</b>	0.388	0.102	0.097	0.101	0.096	0.466	0.104	0.905	0.532	<b>0.000</b>	0.346
<b>AH</b>	0.960	0.756	0.751	0.755	0.750	0.882	0.758	0.251	0.815	0.346	<b>0.000</b>

## Annexe 03 : liste des produits et les appareilles utilisées

Tableau 2 : Produits utilisés lors de l'expérimentation et leurs caractéristiques

Produite	Forme	Formule	Masse molaire (g/mol)	Densité	Pureté(%)
<b>Ether pétrole</b>	Liquide	/	/	/	95
<b>Ethanol</b>	Liquide	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46,07	/	96
<b>Méthanol</b>	Liquide	CH <sub>4</sub> O	32,04	/	99
<b>Acétone</b>	Liquide	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	58,08	0,790- 0,792	/
<b>Hydroxyde de potassium</b>	Solide	KOH	56,11	/	85
<b>Phénol</b>	Liquide	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	94,11	/	90
<b>Résorcinol</b>	Solide	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	110,11	/	99,5
<b>Acide sulfurique</b>	Liquide	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98,07	/	98
<b>Glucose</b>	Solide	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	180,16	/	/
<b>Hydroxyde de sodium</b>	Solide	NaOH	40	/	97
<b>Bleu coomassie</b>	Solide	C <sub>45</sub> H <sub>44</sub> N <sub>3</sub> NaO <sub>7</sub> S <sub>2</sub>	/	/	/
<b>Bovine albumine</b>	Solide	/	/	/	/
<b>Chloroforme</b>	Liquide	CHCl <sub>3</sub>	119,38	/	99
<b>Acide trichloracétique</b>	Liquide	CF <sub>3</sub> COOH	114,02	1,49	99
<b>DPPH</b>	Solide	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>	394	/	/
<b>Solution Tompan</b>	Liquide	/	/	/	/
<b>Ferricyanure de Potassium</b>	Solide	/	/	/	/
<b>Acide ascorbique</b>	Solide	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	/	/	99
<b>Peroxyde Hydrogène</b>	Liquide	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	/	/	/
<b>Chlorure Fer</b>	Liquide	/	/	/	/
<b>Tween</b>	Liquide	/	/	/	/
<b>B-carotène</b>	Solide	/	/	/	/
<b>Acide linoléiqu</b>	Solide	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	/	/	/

		
Centrifugeuse	Bain marie	Spectrophotomètre UV visible
		
Rotavapor	PH mètre	Etuve
		
Autoclave	Balance de précision	Hotte microbienne
		
Hotte	L'appareil soxhlet	Agitateur magnétique

**Figure 9** : Les différents appareils utilisés





**REACTIF BIO-CK**  
**176 318185-17**  
**LABORATOIRES**  
**BIO-CK SAS**  
 28000 Brest, France

**Tempo de Thromboplastine Paroïlle active**  
**BIO-CK (TCA)**

Quantité pour la détermination du temps de coagulation activée (TCA) des plasmas humains.

REF 13000	10	1 x 3 x 10 mL
REF 13001	10	1 x 3 x 10 mL
REF 13005	10	1 x 3 x 10 mL

**INDIQUÉ ET CONTRAINDIQUES**  
 Indiqué pour la détermination du temps de coagulation activée (TCA) des plasmas humains.

**MODE D'EMPLOI**  
 Le réactif BIO-CK est un test de coagulation activée qui mesure le temps de coagulation de la voie intrinsèque (TCA) des plasmas humains. Le réactif BIO-CK est un test de coagulation activée qui mesure le temps de coagulation de la voie intrinsèque (TCA) des plasmas humains.

**STABILITÉ ET CONSERVATION**  
 Stabilité dans la gamme de température ambiante de 2 à 8 °C. Le réactif BIO-CK est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de l'ampoule. Il est stable à température ambiante de 2 à 8 °C pendant 12 mois.

**PRÉLEVEMENT ET PRÉPARATION DU SPÉCIMEN**  
 Prélever le plasma par centrifugation vers 1500 g pendant 10 minutes à 4 °C. Le plasma doit être conservé à 2 à 8 °C pendant 24 heures.

**INTERVALLES DE RÉFÉRENCE (1) (2)**  
 Les valeurs de référence varient en fonction de la méthode de mesure et du matériel utilisé. Les valeurs de référence sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

**REMARQUES**  
 Ce réactif est destiné à la mesure du temps de coagulation activée (TCA) des plasmas humains. Il ne doit pas être utilisé pour la mesure du temps de coagulation de la voie extrinsèque.

**CALIBRATION (1)**  
 Les réactifs doivent être étalonnés avec un plasma de référence. Le plasma de référence doit être étalonné avec un plasma de référence.

**CONTRÔLE DE QUALITÉ**  
 Les tests doivent être effectués avec des contrôles de qualité.

REF 13001	Plasma de Contrôle Taux 1	6 x 1 mL
REF 13002	Plasma de Contrôle Taux 2	6 x 1 mL
REF 13003	Plasma de Contrôle Taux 3	6 x 1 mL

**REMARQUES**  
 Les contrôles de qualité doivent être utilisés pour vérifier la précision et la stabilité des résultats.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**MODE OPÉRATOIRE**  
 Technique automatisée ou manuelle.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

**REMARQUES**  
 Les résultats doivent être interprétés avec précaution en présence de certaines conditions.

1.01424.0100  
1.01352.0025

Microscopie

**May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène**  
**Eosine-bleu de méthylène selon May-Grünwald****Coloration de frottis sanguins et de moelle osseuse et matériel clinico-cytologique**

Dispositif médical de diagnostic in vitro

**Principe**

La couleur typique des noyaux, principalement rouge violet, repose sur l'interaction entre l'éosine G et un complexe ADN-azur B. Les deux colorants forment un complexe. L'intensité de la coloration dépend de la teneur en azur B et du rapport azur B-éosine G. Le résultat de la coloration peut être influencé par divers facteurs comme le pH de la solution et de la solution tampon, les substances tampons, le temps de coloration et de fixation.

**Matériel**

Frottis sanguins et de moelle osseuse séchés à l'air mais aussi matériel clinique de cytologie comme sédiments urinaires, crachats, ponctions-lésions à l'aiguille fine, empreintes, liquides de lavage.

**Réactifs**

Art. n° 1.01424 May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène 100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l  
Art. n° 1.06009 Méthanol p.a. 1 l, 2,5 l  
Art. n° 1.09468 Comprimés tampon selon Weise pH 7,2 (100 comp.) 1 emballage  
Art. n° 1.11374 Comprimés tampon selon Weise pH 6,8 (100 comp.) 1 emballage  
Art. n° 1.01352 Eosine-bleu de méthylène selon May-Grünwald 25 g, 100 g  
Art. n° 1.09204 Azur eosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution 100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l

**Préparation****1. Solution tampon**

Dissoudre 1 comprimé tampon\* dans 1 l d'eau distillée.  
\*1.11374 ou 1.09468 selon le résultat souhaité de la coloration

**2. Solution de May-Grünwald diluée pour la coloration manuelle**

Diluer 30 ml de solution eosine-bleu de méthylène de May-Grünwald avec 150 ml d'eau distillée et ajouter 20 ml de solution tampon.

**3. Solution de May-Grünwald diluée pour la coloration dans le MRSTAINER®**

Ajouter lentement 30 ml de solution tampon et 220 ml d'eau distillée à 50 ml de solution d'éosine-bleu de méthylène de May-Grünwald, mélanger et laisser reposer 10 min.

**4. Solution d'éosine-bleu de méthylène selon May-Grünwald à partir de colorant**

Dissoudre 0,25 g d'éosine-bleu de méthylène de May-Grünwald dans 100 ml de méthanol en chauffant légèrement dans un bain-marie à 60 °C, agiter pendant 1 h, laisser reposer 24 h et filtrer.

**5. Solution de Giemsa diluée pour la coloration manuelle**

Diluer 10 ml de solution azur eosine-bleu de méthylène de Giemsa avec 150 ml de solution tampon, bien mélanger, laisser reposer 10 min et filtrer si nécessaire.

**Mode opératoire**

Frottis séchés à l'air

**Banc de coloration**

Solution-mère de May-Grünwald	3 min
Ajouter la solution tampon (1 ml), mélanger, coloration	6 min
Rincer avec une solution tampon	
Sécher	

**Cuve à coloration**

Solution-mère de May-Grünwald	3 min
-------------------------------	-------

Solution de May-Grünwald diluée	6 min
Laver avec une solution tampon	2 x 1 min
Sécher	

**Coloration dans le MRSTAINER®**

Réactifs	Durée	Station	Dip
Solution-mère de May-Grünwald	3 min	2	on
Solution de May-Grünwald diluée	6 min	3	on
Solution tampon	1 min	4	on
Eau courante (laver)	2 min	5	on
Sécher	3 min	6	-

**Coloration de Papanheim**

Coloration avec la solution de May-Grünwald et la solution de Giemsa

**Banc de coloration**

Recouvrir le frottis avec 1 ml de solution de May-Grünwald	3 min
mélanger avec 1 ml de solution tampon et colorer	3 à 5 min
recouvrir avec la solution de Giemsa diluée, colorer	15 à 20 min
Rincer avec une solution tampon	
Sécher	

**Cuve à coloration**

Solution de May-Grünwald	3-5 min
Solution de coloration de Giemsa diluée	15 à 20 min
Rincer avec une solution tampon	2 x 1 min
Sécher	

**Résultat avec un tampon phosphate selon Weise pH 6,8**

Type de cellule	Solution de May-Grünwald	Coloration de Papanheim
Noyaux cellulaires	rouges à violets	rouges à violets
Lymphocytes	noyau bleu	noyau bleu
Monocytes	noyau bleu pâle	noyau bleu pâle
Granulocytes neutrophiles	granules violet clair	granules violet clair
Granulocytes éosinophiles	granules rouges lute à brun rouge	granules rouge lute à violet foncé
Granulocytes basophiles	granules violet foncé à noirs	granules violet foncé à noirs
Thrombocytes	violet	violet
Erythrocytes	rougeâtres	rougeâtres

**Remarque**

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostic médicaux.  
Pour la filtration de la solution utiliser un papier filtre de type « passage rapide ».

**Préparation des échantillons**

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés. Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi/l'utilisation.

**Diagnostic**

Les diagnostics ne doivent être effectués que par des personnes autorisées et entraînées. Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées. Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'éviter toute possibilité de résultat erroné. Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.

**Stockage**

Stocker le colorant entre + 5 °C et + 30 °C, la solution de coloration entre + 15 °C et + 25 °C.  
Utiliser la solution et le colorant jusqu'à la date de péremption indiquée.

**Stabilité**

Après la première ouverture du flacon, conserver entre + 5 °C et + 30 °C ou entre + 15 °C et + 25 °C, utiliser jusqu'à la date de péremption. Tenir les flacons toujours bien fermés.

**Remarques sur l'utilisation****Réserve à une utilisation professionnelle.**

Pour éviter les erreurs, la coloration doit être effectuée par un personnel qualifié.  
Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.  
Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

**Protection contre les infections**

Véhiculer impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

**Consignes d'élimination**

Les solutions usagées et celles dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets spéciaux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets.

Outre la reprise de produits usagés ou périmés par l'intermédiaire de son service de « rétrologistique », Merck propose également une assistance technique pour des solutions d'éliminations locales.

**Réactifs auxiliaires**

Art. n° 1.04099	Huile d'immersion	100 ml, 500 ml
Art. n° 1.15577	Huile d'immersion selon ISO 8036 modifiée	100 ml
Art. n° 1.07961	néo-Eriolan®	100 ml, 500 ml
Art. n° 1.00974	Ethanol dénaturé avec 1 % d'éthylméthylcétone pour analyse	1l, 2,5l
Art. n° 1.00983	Ethanol absolu p.a. ACS, ISO	1l, 2,5 l
Art. n° 1.00661	Xylène p.a. ACS, ISO	1l, 2,5 l

**Classification des matières dangereuses**

Art. n° 1.01424,  
Art. n° 1.01352

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.

La fiche de données de sécurité de Merck est disponible sur Internet et sur demande.

**Composants principaux des produits**

Art. n° 1.01424		
C.I. 52015		0,7 g/l
C.I. 45380		0,5 g/l
contient du CH <sub>3</sub> OH		
1l =		0,79 kg

Art. n° 1.01352		
C.I. 52015 + Azur		51,6 %
C.I. 45380		48,4 %

Status: Février 2008

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Allemagne, Tél. : +49 6151 72 0,  
[www.merck.de](http://www.merck.de)