

Extraction, dosage quantitatif et qualitatif des pectines de la paroi des gousses de *Retama monosperma* (L.). Boiss poussant dans des conditions naturelles dans le littoral ouest

[Extraction, quantitative and qualitative dosage of cell wall of the pods of *Retama monosperma* (L.). Boiss growing in natural conditions in the Algerian western coast]

Nadia Bouredja¹⁻² and Zoheir Mehdadi¹

¹Laboratory of vegetable biodiversity: preservation and valuation, Faculty of Science, Djillali Liabès University, Sidi Bel Abbès, Algeria

²University of the sciences and the technology of Oran, Mohamed-Boudiaf Faculty SNV, Oran, Algeria

Copyright © 2015 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: In Algeria, three species belonging to the kind *Retama* are indicated. *Retama monosperma* is the most spread in the countries of the Mediterranean Basin where she occupies a vast spread in the Algerian coast. *Retama monosperma* is available in compatible quantities with applications of industrial scale, allowing a good exploitation. Our study is a contribution to the study of the biochemical valuation of *Retama monosperma*. The extraction of pectins, gave better efficiencies (5,74 %). All the obtained results open numerous perspectives of research regarding biochemical valuation of this vegetable resource.

KEYWORDS: *Retama monosperma*, pods, pectins, Valuation, CCM.

RÉSUMÉ: En Algérie, trois espèces appartenant au genre *Retama* sont signalées. *Retama monosperma*, objet de notre étude, se présente sur les dunes littorales. *Retama monosperma* est disponible dans des quantités compatibles avec les demandes d'applications à l'échelle industrielle, permettant une bonne exploitation ; nous sommes portés à une étude biochimique de la paroi de *Retama monosperma*. L'extraction des pectines a donné de bons résultats (5,74). Tous les résultats obtenus ouvrent de nombreuses perspectives de recherche quant à la valorisation biochimique de cette ressource végétale.

MOTS-CLEFS: *Retama monosperma*, gousses, pectines, Valorisation, CCM.

1 INTRODUCTION

Les Légumineuses représentent une famille importante et variée chez les angiospermes. En effet, il s'agit de la troisième plus grande famille chez les plantes supérieures avec plus de 720 genres et 20000 espèces allant de la luzerne, espèce herbacée, aux arbres composant les forêts tropicales d'Amérique latine et d'Afrique tropicale [1].

Le genre *Retama* appartenant à la famille des Légumineuses, il est endémique du bassin méditerranéen, distribué dans les différents étages bioclimatiques, de l'humide à l'aride. Il caractérise les écosystèmes dunaires, les maquis et le désert [2]. En Algérie, trois espèces appartenant au genre *Retama* sont signalées : *Retama monosperma* Boiss, *Retama retam* Webb et *Retama sphaerocarpa* L. ([3] ; [4]).

Retama monosperma, objet de notre étude, se développe particulièrement sur les dunes littorales d'Algérie. Elle a la propriété d'établir des associations symbiotiques mycorhiziennes favorisant la biofertilisation des sols salins et pauvres dans lesquels elles prospèrent ([5] ; ([6]). Elle renferme également des sous produits pouvant être exploitées en médecine, comme les alcaloïdes [7], les flavonoïdes [8].

Vue l'importance de cette espèce végétale nous sommes portés une étude quantitative des pectines de la paroi des gousses de *Retama monosperma* ainsi qu'une analyse qualitative.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

CARACTÉRISATION DES POLYSACCHARIDES PARIÉTAUX ET BIOMÉTRIE DES FIBRES

MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Les échantillons qui ont fait l'objet de cette étude sont des gousses de *Retama Monosperma* prélevées sur des pieds poussant dans les conditions naturelles de Ain El Türk, wilaya d'Oran. Algerie

MÉTHODES D'ÉTUDES

DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN EAU

Les gousses prélevées sont d'abord pesées pour déterminer le poids de la matière fraîche (**PMF**), découpées puis étalées sur une plaque métallique et séchées dans une étuve à une température de 50 °C pendant 72h puis pesées de nouveau pour déterminer le poids de la matière sèche (**PMS**). Plusieurs pesées effectuées chaque 24h pour vérifier la stabilité du PMS après 72 h de séchage.

PRÉPARATION DE LA POUDRE VÉGÉTALE

La matière sèche est réduite en poudre par broyage en utilisant un broyeur à couteaux de type RETCH, muni d'un filtre à mailles.

PRÉPARATION DE RÉSIDU PARIÉTAL

La paroi végétale est obtenue par l'utilisation des solvants organiques qui permettent l'élimination des lipides et des tanins. Le protocole utilisé est celui de [9].

50 g de poudre végétale sont introduits dans un Erlen contenant un mélange méthanol-chloroforme (1V-1V) et mis sous agitation continue pendant une nuit sous hotte. Cette opération est répétée deux fois, après filtration sur toile à bluter, le résidu est mis dans le méthanol sous agitation pendant deux heures pour éliminer les traces de chloroforme. Le résidu ainsi obtenu est ensuite rincé avec l'eau distillée, puis à l'acétone et mis à l'étuve à 60 °C

DELIGNIFICATION DU RESIDU PARIÉTAL

Théoriquement la procédure de la délignification devrait éliminer totalement les lignines sans modification des polysaccharides. Cependant, aucune méthode n'est totalement satisfaisante.

Pour la délignification de la paroi, des gousses de *Retama monosperma*, nous avons choisi la méthode de [10] qui utilise la soude diluée dans l'éthanol. 5g de résidu pariétal sont placés dans 100 ml de NaOH à 1% dans l'éthanol 70% sous agitation pendant 2h à 80 °C. Le résidu est rincé 4 à 5 fois par l'eau distillée puis séché à l'étuve à 60°C pendant 24h.

Il est très important de signaler que les pectines sont extraites à partir d'un résidu pariétal brut (résidu pariétal lignifié). Par contre, les polysaccharides restants sont extraites à partir d'un résidu pariétal délignifié.

EXTRACTION DES PECTINES

Les pectines hautement méthylées (P1) sont solubilisées par l'eau bouillante [11] ; les pectines faiblement méthylées (P2) sont extraites par l'EDTA (éthylène diamine tétra-acétique) qui est un chélateur ionique ([12] ; [11]).

EXTRACTION DES PECTINES HAUTEMENT METHYLEES (P1)

3 g de résidu pariétal sont mis dans un erlen contenant 100 ml d'eau distillée sous agitation pendant une nuit à la température ambiante, puis mis à ébullition sous reflux deux fois deux heures. Après filtration sur toile à bluter, le filtrat est concentré au rotavapor puis précipité dans l'acétone à froid (1V-2V) pendant une nuit. Après centrifugation, le culot est lavé à l'eau distillée, à l'alcool puis séché à l'acétone à 50°C ; il constitue les P1.

EXTRACTION DES PECTINES FAIBLEMENT METHYLEES (P2)

Le résidu obtenu est traité avec 100 ml d'EDTA à 1% dans l'eau distillée ajustée avec une solution de NaOH à un pH de 5.5. Le mélange est mis sous agitation pendant six heures à une température de 80 °C. Après filtration, la solution obtenue est dialysée contre l'eau courante pendant une nuit puis contre l'eau distillée 4 fois 1heure afin d'éliminer les traces de l'EDTA. Le dialysât est concentré au rotavapor et les P2 sont récupérées par précipitation du volume de dialysât dans l'acétone à froid (1V-2V) pendant une nuit. Après centrifugation, le culot obtenu est lavé à l'eau distillée, à l'alcool puis séché à l'étuve à 50 °C. Cette fraction représente les P2.

ANALYSE QUALITATIVE PAR CCM

L'analyse qualitative par CCM (chromatographie sur couche mince) est utilisée pour déterminer la composition osidique des pectines [13]. Ces derniers ont subi l'hydrolyse acide partielle.

HYDROLYSE ACIDE PARTIELLE

L'hydrolyse acide partielle permet l'hydrolyse des polysaccharides de la matrice, des pectines et des hémicelluloses. La méthode utilisée est celle de [14].

Dans des tubes à vis contenant 100 mg de fraction pectique, nous avons ajouté 2 ml d' H₂SO₄ 1N. Ces tubes sont bien fermés et placés au bain-marie pendant 4 heures à une température de 100 °C.

Après filtration sur verre fritté, le filtrat est neutralisé par le carbonate de strontium puis gardé à une température de 0°C au congélateur jusqu'à l'analyse.

3 RÉSULTATS ET DISCUSSION

LA TENEUR EN EAU DES GOUSSES

La teneur en eau contenue dans les gousses de *Retama Monosperma* est donnée dans le tableau 1.

Table 1. Teneur en eau contenue dans les gousses de *Retama monosperma*, exprimée en gramme et en pourcentage.

PF (gr)	PS (gr)	TE (%)
95,60	92,00	3,76

PF : poids frais **PS** : poids sec **TE** : teneur en eau

$$TE\% = [(PMF - PMS) / PMF] \times 100$$

TE : teneur en eau

PMF : poids frais de l'échantillon

PMS : poids sec de l'échantillon

RENDEMENT EN PAROI BRUTE DES GOUSSES

La teneur en paroi brute des gousses de *Retama monosperma* extraite par le protocole de [9] est indiquée dans le tableau 2.

Table 2. Rendement de la paroi brute des gousses (en gr / 50 gr de matière sèche et en pourcentage)

Quantité exprimé en g/50 g de PV	Pourcentage (%)
28,49 ± 0,38	56,98 ± 3,8

RENDEMENT EN PECTINES

Les quantités des pectines hautement méthylées (P1), des pectines faiblement méthylées (P2) et des pectines totaux (PT) des gousses de *Retama monosperma* extraites selon le protocole de [11] sont représentées dans le tableau 3.

Table 3. Rendements des pectines hautement méthylées (P1), des pectines faiblement méthylées (P2) et des pectines totaux (PT) (exprimés en g/3g de résidu pariétal et en pourcentage).

	Quantité exprimée en g /3g	Pourcentage (%)
P1	0,0996 ± 0,0008	3,32 ± 0,08
P2	0,0726 ± 0,0001	2,42 ± 0,01
PT	0,1722	5,74

L'analyse qualitative par C.C.M des fractions pectiques (pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) des gousses de *Retama monosperma* est présenté par la figure 1.

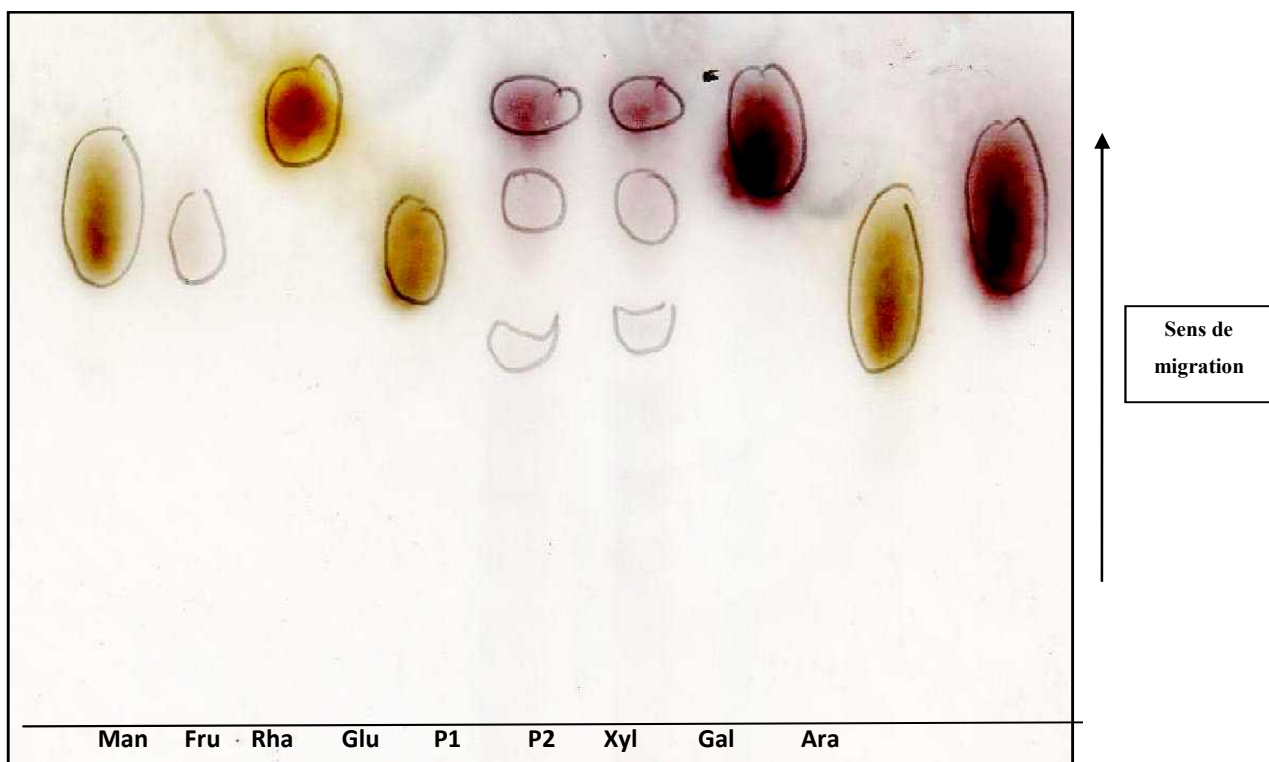


Fig.1 : Composition osidique des P1 et des P2 des gousses de *Retama monosperma*

Xyl : xylose ; Gal : galactose ; Ara : arabinose ; Glu : glucose ; Rha : rhamnose ; Man : mannose ; Fru : fructose ; P1 : pectines hautement méthylées ; P2 : pectines faiblement méthylées

DISCUSSION

La teneur en eau est faible dans les gousses de *Retama monosperma* (3,76 %). Ceci facilite leur conservation naturelle et spécialement pour les graines destinées à la germination, pendant une longue durée. Ces observations sont notées également certains travaux comme ceux du [15] dans les amandes de *Celtis australis*, *Elaeagnus augustifolia*, et *Zizyphus lotus*, La variation des teneurs en eau peut être attribuée aux facteurs internes : l'époque de la maturation et facteurs externes comme l'ensoleillement et la température.

La teneur moyenne en paroi brute évaluée par la technique de [9] est de 56,98 %. Cette teneur en paroi varie d'une espèce à une autre. En effet, et à titre d'exemple, des valeurs inférieures à celle notée chez notre espèce, caractérise les raquettes de *Opuntia ficus indica* L. (47 %) [16], les gousses d'*Acacia arabica* (42,6 %) d'Adrar et de Tamanrasset (40,74 %) [17].

Par ailleurs, des teneurs élevées ont été relevées chez certaines d'autres espèces appartenant à la famille des Poacées comme *Lygeum spartum* (82.2%) [18].

En ce qui concerne la fraction pectique, nous remarquons que la quantité de pectines totales est 5,74%. Ce taux est supérieur à celui déterminé chez certaines espèces comme dans les tiges d'*Helianthus annuus* L. avec un taux de 2.77 % [19] et moins importante par rapport à d'autres espèces comme les baies de *Vitis vinifera* L. (variété blanche) qui présente un taux de 11,18 % [20] et dans l'amande de l'*Elaeagnus augustifolia* qui présente un taux de 0,94 % [15].

L'analyse qualitative par C.C.M des fractions pectiques (pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) des gousses de *Retama monosperma* extraites à partir du résidu pariétal brut montre qu'elles ont la même composition osidique. Elles sont constituées par le rhamnose, l'arabinose et le galactose (fig.1).

Le spot prononcé du rhamnose suivi par l'arabinose et le galactose suggère que ces pectines sont de type rhamnogalactoarabinane

Une consommation de 12 à 24 grammes de pectines par jour permettrait de faire diminuer le taux de cholestérol-LDL de 13%, car leur fermentation permet d'insolubiliser les sels biliaries, ce qui diminue à la fois leur toxicité et leur possibilité de réabsorption [21].

Dans le domaine de l'industrie pharmaceutique, les pectines contribuent aux activités anti-métastatique, immunostimulante, antiulcère, antinéphrétique, antityphoïde, antidiarrhée, anticholestérol et pour la délivrance contrôlée de médicaments ([22]; [23];[24]).

4 CONCLUSION

Les résultats obtenus ont permis également de mettre en évidence les énormes potentialités que recèle cette essence. En effet, *Retama monosperma*, qui par la quantité de ses pectines trouvera des champs d'applications dans le domaine de la biotechnologie et faire l'objet d'aliments fonctionnels, c'est à dire prometteurs de santé.

Bien que la chromatographie sur couche mince nous a fourni un aperçu rapide de la composition en oses, il serait intéressant d'approfondir ces résultats à l'aide d'une autre méthode plus performante qui nécessite un matériel plus onéreux, il s'agit de la chromatographie en phase gazeuse et de la chromatographie liquide haute performance (HPLC).

En épilogue, il ressort que *Retama monosperma* est une ressource végétale d'un grand intérêt qui peut jouer un rôle important dans l'écodéveloppement de notre pays. Son état actuel nous interpelle à prendre des mesures de mise en défens rigoureuses, à la mise en place de programme de valorisation en encourageant l'investissement dans le domaine de la production de molécules d'intérêt industriel, ce qui permettra de générer de nouvelles entreprises dans ce secteur d'activités.

REFERENCES

- [1] Cronk Q., Ojeda I., Pennington R.T.(2006).Legume comparative genomics: progress in phylogenetics and phylogenomics. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, 9: 99-103.
- [2] Allen, O. N., Allen E.K.(1981).The Leguminosae, a source book of characteristics, uses and nodulation. The University of Wisconsin Press. Madison.
- [3] Quézel P., Santa S.(1962). Nouvelles flores de l'Algérie et des régions méridionales. Vol.1-2. CNRS., Paris, 1170p.
- [4] Boulila F., Depret G., Boulila A., Belhadi D., Benallaoua S., Laguerre G.(2009). *Retama* species growing in different ecological–climatic areas of north eastern Algeria have a narrow range of rhizobia that form a novel phylogenetic clade within the Bradyrhizobium genus. *Systematic and Applied Microbiology*, 32 (4): 245-255.
- [5] Hatimi A. (1995).Symbiotes racinaires de trois légumineuses arborescentes de dunes littorales de Souss-Massa. INRA (éd.), Paris, Les Collogues, 77: 183-190.
- [6] Mosbah M., Nzoué A., de Lajudie P., Mars M.(2008).Characterization of root-nodulating bacteria on *Retama raetam* in arid tunisian soils. *Progress in Natural Science*, 18 (1) : 43-49.
- [7] El-Shazly A., Ateyaa A.M., Witte L., Wink M.(1996) .Quinolizidine Alkaloid Profiles of *Retama raetam*, *R. sphaerocarpa* and *R. monosperma*. *Z. Naturforsch.*, 51: 301– 308.
- [8] Akkal S., Louaar S., Benahmed M., Laouer L., Duddeck H.(2010).A new isoflavone glycoside from the aerial parts of *Retama sphaerocarpa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46 (5):719-721.
- [9] Harche M., Tollier M.T., Monties B., Catesson A.M.(1991).Caractérisation comparée des constituants (polysides, lignine et acides phénoliques) des parois cellulaires de trois Graminées subdésertiques pérennes : *Stipa tenacissima* L., *Lygeum spartum* L et *Aristida pungens* L. *Cellulose chem. Technol.*, 25 : 11-17.
- [10] Gabrielli I ., Gatenhom P., Glasser W G., Jain R.K., Kenne L.(2000). In: Kellal H . (2011).Caractérisation anatomique,Histologique et sturcturale des fibres du roseau *Arundo donax* L.Mémoire de Magister en Biotechnologie, Université des sciences et de la technologie, Mohamed Boudiaf. Oran ,134 p.
- [11] Thibault J. F.(1980). Les substances pectiques-In : Monties B.(1980). Les polymères végétaux. Ed. Gauthier Villars, Paris, 232-251.
- [12] Lamport D.T.A.(1970). Cell wall metabolism. *Ann. Rev .Plant Physiol.*, 21:235-270.
- [13] Randeratch R.(1971). Chromatographiesur couche mince Gauthier Villars, Paris, 398 p.
- [14] Reis D.(1975) . Etudes préliminaire des polysaccharides des parois cellulaire. dans l' hypocotyle en croissance du *phaseolus aureus* .c .*racad.sci.*, Paris, 218 :123-126.
- [15] Saadaoui M.(2008). Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. Mémoire de magister. Université EL-Hadj Lakhdar , Batna .80 p.
- [16] Chaa L.(2002) ;Contribution à l'étude biochimique de deux variétés d'*Opuntia ficus indica* L: variété comestible et variété non comestible. Mémoire d'Ingénieur. Université des sciences et de la technologie, Mohamed Boudiaf. Oran, 50p.
- [17] Tissouras F.(2004).Caractérisation biométrique des gousses et des graines ; extraction et identification des polysaccharides pariétaux et des huiles de deux légumineuses ligneuses « *Acacia arabica* et *Acacia raddiana* » des zones arides Algériennes .Thèse de Magister. Université des sciences et de la technologie, Mohamed Boudiaf. Oran, 82 p.
- [18] Zerhouni S.(1996).Analyse qualitative et quantitative des fractions pariétales : cellulose, hémicelluloses et pectines des tissus foliaires de *lygeum spartum* L. des plantes Algériens. Thèse de magister, ISN, Oran, 93p.
- [19] Tissouras F.(2001). Contribution à l'étude du tournesol (*Helianthus annus* L.). germination, croissance, histologie et biochimie au cours de développement .Mémoire d'Ingénieur en Biotechnologie. Université des Sciences et de la Technologie ; Mohamed Boudiaf. Oran.45p.
- [20] Benaiche J.(2002). Étude biochimique de la baie de deux variétés de *Vitis vinifera* L. Mémoire d'ingénieur. Université des Sciences et de la Technologie Mohamed Boudiaf, Oran. 50p.
- [21] Brown L., Rosner B., Willett W.W., Sacks F.M.(1999).Cholesterol-lowering effects of dietary fiber : a meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 69: 30-42.
- [22] Yamada H.(1996). Contribution of pectins on health care, in "Pectins and Pectinases". J. Visser and A. G. J. Voragen, (éd.) Elsevier Science B.V., 173.
- [23] Thakur B.R., Singh R.K., Handa A.K.(1997). Chemistry and uses of pectin: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 37(1) : 47-73.
- [24] Rolin, C., Nielsen, B.N., Glahn, P.E.(1998). Pectin, in "Polysaccharides Structural diversity and functional versatility". S. Dimitriu, (éd.) Marcel Dekker, Inc, Sherbrooke (Canada) /New York, 377 p.