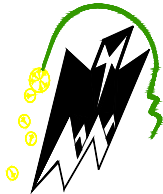


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ANIMALE ET VEGETAL



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de master II en biologie

Spécialité : Génétique

Option : Biotechnologie microbienne

Réaliser par : ZOBIRI Wissam

Thème

*Caractérisation de certaines propriétés biologiques,
biochimiques, pharmacologiques et rhéologiques du
pourpier.*

Soutenu le 03/07/2017

Devant le jury composés de :

Président : Mr SADOUDI R.

Maitre de conférences B

Examinateur : Mme TALEB K.

Maitre de conférences B

Examinatrice : Mme KESBIA K.

Maitre assistant A

Promotion 2016 /2017

Au nom d'Allah le clément, le miséricordieux,

Paix et Salam sur son prophète

LOUANGE A ALLAH,

L'éternel,

L'omniscient,

Le tout puissant.

Ta miséricorde est sur ceux qui espèrent en toi.

Tu as été, et tu es notre lumière dans les ténèbres de la vie.

Guide nos pas sur le chemin qu'il nous reste à parcourir afin

Que nous demeurions fidele à tes recommandations.

Ouvres-nous les portes de ton savoir et de ta connaissance;

Certes tu es l'omniscient.

Amine.

Remerciements

*Je tiens tout d'abord à remercier le bon **DIEU** tout puissant de m'avoir aidée à réaliser ce modeste travail.*

*Je remercie très chaleureusement mon professeur et encadreur **Mlle BENAHMED DJILALI.A**, pour ça confiance, aide et pour son temps.*

Ce dame à qui j'exprime ma gratitude de m'avoir dirigée, encouragée et surtout aidée afin de réaliser ce travail.

*Je remercie l'ensemble du jury, Monsieur **SADOUDI.R.** , Maitre de conférence B à l'UMMTO ; Madame **TALEB.K.**, Maitre de conférence B à l'UMMTO ; Madame **KESBIA. K.**, Maitre-assistant A à l'UMMTO, qui ont bien voulu examiner ce travail.*

Je remercie tous les enseignants de mon cursus universitaire qui ont contribué à ma Formation.

*Je remercie le **Pr HOUALI.K** du LABAB pour sa précieuse aide.*

*Je remercie **Mr AMIROUCHE** laboratoire chimie de l'UMMTO pour sa précieuse aide.*

Dans ces remerciements, je ne peux oublier mes amis pour leur amitié et leur appui constant pendant mes années d'études.

Je ne peux nommer ici toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont aidée et encouragée mais je les en remercie vivement. Mille fois merci à vous tous !!!

Une mention spéciale pour ma famille qui a toujours été présente la pour moi et qui ont su me supporter pendant ces années.

Enfin, il me serait si difficile d'omettre de remercier tous ceux qui ont contribué de pré ou de loin à ce travail. Qu'ils trouvent dans ces quelques lignes l'expression de mes sincères remerciements.

Merci.

Dédicace

Je tiens tout d'abord à remercier le bon DIEU de m'avoir aidée à réaliser cet ouvrage

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents avec toute ma reconnaissance

A mes chers frères et sœurs

A Djura et Rachida ;

Qui étaient toujours à mes côtés et qui n'ont jamais cessées de me soutenir et de m'encourager :jamais des simple mots ne me permettront de vous exprimer mes remerciements les plus profonds et les plus sincères mes très chères amies.

« Ôter l'amitié de la vie, ce qui reste est peu digne d'envie....L'amitié est ce trésor partagé »

Merci d'avoir toujours partagé avec moi les moments de joie et de peine, Recevez à ce travail en témoignage de tous les bons moments qu'on a passées ensemble. J'espère sincèrement que notre amitié durera toute la vie.

A tous mes camarades de la promo biotechnologie microbienne 2016/2017

Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

DO : Densité Optique

ET : Ecart type

H : Humidité

Kv: Kilovolt

MEB : microscope électronique à balayage

mg EAG/g : Milligramme équivalent en acide gallique par gramme de matière sèche

N: Normal

OMS : Organisation mondiale de la santé.

Ph : Potentiel hydrogène

PPT : polyphénols totaux

V/V : Volume à Volume

Listes des figures

Figure 01 : <i>Portulaca oleracea</i> L (originale).....	1
Figure 02: Feuille de <i>P.oleracea</i> L.(Original)	3
Figure03 : Fleur. De <i>P.oleracea</i> L (Original).....	3
Figure 04 : Racine de <i>portulaca oleracea</i> L. Original.....	3
Figure 05 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)...	8
Figure 06: Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).....	9
Figure 07: Principaux types de coumarines (Macheix et al, 2005).....	9
Figure 08 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et al, 2001).....	10
Figure 09 : structures des tannins (Bahaz et Rachdi, 2010).....	14
Figure 10 : Diagramme d'extraction des composés phénoliques (Owen et Johns, 1999) (modifier).....	27
Figure 11: Diagramme d'extraction des composés phénoliques (Diallo et al, 2004) (modifier).....	28
Figure 12 : Diagramme d'extraction des composés phénoliques (Diallo et al, 2004) (modifier).....	29
Figure 13: Protocole de dosage des polyphénols. (Li et al, 2007).....	31
Figure 14 : protocole de dosage des flavonoïdes Zhishen Mengcheng et Jianming (1999); Kim et al. (2003).....	32
Figure 15 : Protocole de Test de capacité antioxydante totale (Prieto et al, 1999).....	36
Figure 16 : protocole du test de réduction du Fer (FRAP) (Yildirim et al, 2001).....	38
Figure 17 : Protocole de test du DPPH (Kim et al, 2002).....	39
Figure 18 : Résultats relatifs aux taux de PPT dans les différents extraits de poudre de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	46
Figure 19 : Résultats relatifs aux taux PPT dans les différents extraits de <i>portulaca oleracea</i> L fraiche.....	46
Figure 20: Résultats relatifs aux taux de flavonoïdes dans les différents extraits de poudre de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	48
Figure 21: Résultats relatifs aux taux de flavonoïdes dans les différents extraits de <i>portulaca</i> <i>oleracea</i> L fraiche.....	48

Figure 22 : Distribution granulaire de poudres de la partie aérienne (feuilles et tiges) de <i>Portulaca oleracea</i> L, (b) : tamisé ; (a) : non tamisé.....	50
Figure 23 : Structures microscopiques des poudres des tiges, feuilles et partie aérienne de <i>portulaca oleracea</i> L	51
Figure 24 :Le spectre de composés phénoliques de <i>portulaca oleracea</i> L	53
Figure 25 : Capacité antioxydante totale des extraits éthanioïques de la poudres (tige/feuille/tige +feuille) de <i>Portulaca oleracea</i> L et de l'acide ascorbique.....	56
Figure 26 : Capacité antioxydante totale des extraits éthanioques de <i>Portulaca oleracea</i> L fraiche (tige/feuille/ tige +feuille)et de l'acide ascorbique.....	57
Figure 27 : Capacité antioxydante totale des extraits aqueux de la poudres (tige/feuille/tige +feuille) de <i>Portulaca oleracea</i> L et de l'acide ascorbique.....	57
Figure28 : Capacité antioxydante totale des extrait aqueux de <i>Portulaca oleracea</i> L fraiche (tige/feuille/tige +feuille) et de l'acide ascorbique.....	58
Figure 29 : réduction du fer des extraits éthanioïque de la poudre (tige/feuille/tige+feuille) de <i>Portulaca oleracea</i> L. et de l'acide ascorbique.....	59
Figure 30 : réduction du fer des extraits éthanioïque de <i>Portulaca oleracea</i> L fraiche (tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique.....	59.
Figure31 : réduction du fer des extraits aqueux de poudre (tige/feuille/tige+feuille) de <i>portulaca oleracea</i> et de l'acide ascorbique	60
Figure 32 : réduction du fer par les extraits aqueux de <i>Portulaca oleracea</i> L fraiche (tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique.....	60.
Figure33 : piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits éthanioïque de la poudre (tige/feuille/tige+feuille) de <i>Portulaca oleracea</i> L et de l'acide ascorbique.....	61
Figure34 : piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits éthanioïque de <i>Portulaca oleracea</i> L fraiche(tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique.....	62
Figure 35 : piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits aqueux de poudre (tige/feuille/tige+feuille) de <i>Portulaca oleracea</i> L et de l'acide ascorbique.....	62
Figure 36 : piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits aqueux de <i>Portulaca oleracea</i> L fraiche (tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique.....	63

Liste des tableaux

Tableau I : Distribution alimentaire des principales classes de flavonoïdes (W-Erdmanet al, 2005 ; Marfak, 2003).....	11
Tableau II : Résultats des paramètres physico-chimiques de <i>Portulaca oleracea</i> L fraîche.....	40
Tableau III : Résultats des paramètres physico-chimiques de la poudre de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	41
Tableau IV : Composition minérale de la partie aérienne (feuilles et tiges) de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	42
Tableau V : Résultats d'analyse phytochimique de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	44
Tableau VI : Indices de gonflement des poudres.....	52
Tableau VII : Diamètres des zones (mm) d'inhibition (moyenne \pm ET) exprimés pour l'extrait des trois poudres et de la plante fraîche.....	54
Tableau VIII : Diamètres des zones (mm) d'inhibition (moyenne \pm ET) exprimés pour l'extrait des trois poudres et de la plante fraîche.....	55

Résumé

Notre travail porte sur l'étude et la caractérisation de certaines propriétés biologiques, biochimiques, pharmacologiques et rhéologiques de *portulaca oleracea* L

Portulaca oleracea L. est une plante médicinale, appartenant à la famille des Portulacaceae, appelée communément par la population locale « Redjila ». Elle est spontanée, largement répandue en Afrique du nord, particulièrement en Algérie.

C'est une plante potagère et médicinale encore utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme laxatif, anti-inflammatoire, analgésique, antispasmodique et pour le traitement de pathologies cutanées.

Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de coumarines, flavonoïdes, glucosides, alcaloïdes, tanins et Saponines tri terpènes. Cette richesse est confirmée par des rendements comprises entre 867,26 %g EAG/g MS et 207,34 µg EAG/g MS pour les extraits bruts, des polyphénols totaux et entre 250,92µg/g MS et 97µg/g MS des flavocoumarins, noïdes qui sont extraits à partir des tiges, feuilles et de la partie aérienne par des solvants appropriés (l'eau, l'éthanol 96%, le méthanol absolu, le chloroforme et l'acétate d'éthyle)

Les extraits bruts, ont montrés des pouvoirs importants de réduction de Fer et de piégeage de radical libre DPPH. Les IC50 sont comprises entre 28,89 µg/ml et 94,54µg/ml.

Les extraits de tige, feuille et partie aérienne ont de bonnes activités antibactériennes. L'extrait éthanoïque est le plus active contre *S.aureus*, *E.coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Entérocooccus feacalis* (+22 mm de diamètre d'inhibition). Il donne un effet fongistatique sur *Candida albicans* or l'extrait aqueux n'est active que sur *S.aureus* et *Ecoli* (15 à 22 mm de diamètre d'inhibition) et donne un effet fongistatique sur *Candida albicans*, mais les deux extraits se montrent inactive vis-à-vis de *A. niger* qui est très résistante.

Mots clés : *Portulaca oleracea* L, polyphénols totaux, flavoniodes totaux, activité anti oxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Our work focuses on the study and characterization of certain biological, biochemical, pharmacological and rheological properties of *portulaca oleracea* L

Portulaca oleracea L. is a medicinal plant, belonging to the family *Portulacaceae*, commonly called by the local population "Redjila". It is spontaneous, widespread in North Africa, particularly in Algeria.

It is a vegetable and medicinal plant still used in the traditional medicine of many countries like laxative, anti-inflammatory, analgesic, antispasmodic and for the treatment of cutaneous pathologies.

Phytochemical screening revealed the presence of coumarins, flavonoids, glucosides, alkaloids, tannins and Saponins tri terpenes. This richness is confirmed by yields of between 867.26% g EAG / g MS and 207.34 μ g EAG / g MS for crude extracts, total polyphenols and between 250.92 μ g / g MS and 97 μ g / g MS of flavonoids, Which are extracted from the stems, leaves and the aerial part by suitable solvents (water, 96% ethanol, absolute methanol, chloroform and ethyl acetate) The crude extracts, showed significant powers of iron reduction and trapping of free radical DPPH. The IC50s are between 28, 89 μ g / ml and 94.54 μ g / ml.

The extracts of stem, leaf and aerial part have good antibacterial activities. The ethanoic extract is most active against *S. aureus*, *E.coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus feacalis* (+22 mm diameter of inhibition). It gives a fungistatic effect on *Candida albicans* or the aqueous extract is active only on *S. aureus* and *Ecoli* (15 to 22 mm in diameter of inhibition) and gives a fungistatic effect on *Candida albicans*, but the two extracts are shown Inactive with *A. niger* which is very resistant.

Key words : *Portulaca oleracea* L, antimicrobial activity total polyphenols, total flavonoïdes,
, antioxydant activity.

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Portulaca oleracea* L.

I.1 Définition	1
I.2 Systématique de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	2
.I.3Caractères morphologiques	2
I.4 Composition biochimique	4
I.5 Origine, habitat et exigences	4
I.6 Culture et récolte.....	5
I.7 Utilisation	5
Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques	7
II.1Généralités sur les métabolites secondaires	7
II.2 Généralités sur les composés phénoliques	7
II.2.1Biosynthèse des composés phénoliques	8
<i>II.2.1.1 Voie de Shikimique</i>	8
<i>II.2.1.2Voie d'acétate</i>	8
II.2.2 Principales classes des polyphénols	8
<i>II.2.2.1 Les acides phénoliques simples</i>	8
II.3Généralités sur les flavonoïdes	10
II.3.1 Structure chimique et classification	10
II.3.2 Localisation et distribution	12
II.3.3 Biodisponibilité des flavonoïdes	12
II.4 Généralités sur les tannins	12
II.4.1 Types et structures	13
. <i>II.4.1.1 Les tannins hydrolysables</i>	13
<i>II.4.1.2 Les tannins condensés</i>	13
II.5 Propriétés biologiques des polyphénols	14
II.6 Activités biologiques des composés phénoliques	17
II.6.1 Activité antioxydante.....	17

II.6.2 Activité antimicrobienne	17
Etude expérimentale	

Chapitre III : Matériel et méthode :

III.1 Cadre de l'étude	19
III.2 Appareillages et réactifs	19
III.3 Echantillonnage de la plante	19
III.4 Souches utilisées	19
III.5 Méthodes d'analyses	21
III.5.1 Méthodologie de séchage	21
III .5.1.1 Séchage à l'air libre	21
III.5.2 Détermination des propriétés physico-chimiques de la plante fraîche et sèche	22
III.5.2.1 Teneur en eau	22
III.5.2.2 Teneur en cendres	22
III.5.2.3 Mesure du pH	23
III.5.2.4 Acidité titrable	23
III.5.2.5 Détermination de la teneur en éléments minéraux par spectroscopie d'absorption atomique	24
III.5.3 Analyse phytochimique	24
III.5.3.1 Préparation de l'infusé	24
III.5.3.2 Les anthocyanes	25
III.5.3.3 Les leuco-anthocyanes	25
III.5.3.4 Les tanins	25
III.5.3.5 Les tanins galliques	25
III.5.3.6 Les flavonoïdes	25
III.5.3.7 Les quinones libres	25
III.5.3.8 Les saponosides	25
III.5.3.9 Les alcaloïdes	26

III.5.3.10	<i>Les glucosides</i>	26
III.5.3.11	<i>Les coumarines</i>	26
III.5.4	Dosage	26
III.5.4 .1	<i>Préparation de l'extrait</i>	26
.		
III.5.4.1.1	Extraction aqueuse :	27
III.5.4.1.2	<i>Extraction organique</i>	28
III.5.4.1.2.1	Extraction à l'acétate d'éthyle et au chloroforme	28
.III.5.4.1.2.1.1	Délipidation de l'échantillon	28
III.5.4.2	Dosage des polyphénols	30
III.5.4.3	Dosage des flavonoïdes	31
III.5.5	Analyses rhéologiques des poudres	32
III.5.5.1	Détermination de la microstructure des poudres obtenues par le MEB	32
III.5.5.2	L'analyse de la granulométrie	33
III.5.5.3	L'analyse par infrarouge	33
III.5.5.4	L'indice de gonflement	33
III.5.6	Activité antimicrobienne	34
III.5.6.1	Préparation des milieux de culture	34
III.5.6.2	Préparation des disques	34
.		
III.5.6.3	Préparation des prés cultures	34
III.5.6.4	Préparation des suspensions bactériennes	34
III.5.6.5	<i>Préparation des extraits à tester</i>	34
III.5.6.6	Détermination de la CMI	35
III.5.7	Activité anti-oxydante	35
III.5.7.1	Test de capacité antioxydante totale (TAC)	35
III.5.7.2	Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP)	37
III.5.7.3	Test du DPPH.....	38

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1 Résultats de la caractérisation physico-chimique	40
V.2. Résultats d'analyse phytochimique	43
V.3 Résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits	45
V.4 Résultats de dosage des flavonoïdes	48
V.5 Résultats des analyses rhéologiques des poudres	50
V.5.1 La granulométrie	50
V.5.2 Structures microscopiques des poudres	51
V.5.3 Résultats d'indice de gonflement des poudres	52
V.5.4 Résultats de test d'infrarouge	53
V.6 Résultat de l'activité anti microbienne	54
V.7 Résultat de l'activité antioxydante	56
V.7.1 Capacité antioxydante totale	56
V.7.1 Résultats de la réduction du fer	58
V.7.3 Résultats du test de DPPH	61

Conclusion .

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction.

Les plantes ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pendant plusieurs millénaires. La curiosité et le principe innés de la doctrine de signature préconisée par Paracelsus (1493–1541) qui, indiquant la possibilité d'identification des particularités et vertus de chaque plante par sa " signature " (forme, couleur), ont guidé les premiers hommes dans le choix des nouvelles préparations devant être testées (Rodriguez, 2007). Dans les dernières décennies il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (Muthu et al, 2006).

Il y a environ près de 240 000 à 300 000 espèces de plantes à fleur sur terre. Moins de 10% de ces espèces auraient été étudiés scientifiquement pour leurs propriétés pharmacologiques (Diallo, 2000; Anthony et al, 2005).

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un intérêt croissant ces dernières décennies dans l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans différentes régions du monde. Aujourd'hui, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (Muthu et al, 2006) d'où la nécessité d'une valorisation de la médecine traditionnelle.

L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles

Dans ce contexte , notre choix s'est porté sur « *Portulaca oleracea L* » connue sous le nom « redjila » en Algérie que l'on retrouve dans le pourtour méditerranéen, dans le centre européen et en Afrique (Lim et Quah, 2007).

Cette plante est utilisée dans certaines préparations alimentaires traditionnelles en Algérie, Egypte et en Chine, en vue de sa richesse en plusieurs composés antioxydants, tels que les Omega-3, les flavonoïdes, les minéraux, les vitamines A, C, E et β carotène (Simopolous *et al*, 2005).

L'objectif de notre travail consiste à caractériser *Portulaca oleracea* et évaluer l'activité antioxydante et l'activité anti microbienne de cette plante.

Pour cela notre travail est divisé en deux parties :

La première est une synthèse des données bibliographiques qui se divise en deux chapitres :

Le premier correspond à des généralités sur *portulaca oleracea* L

Le deuxième chapitre traite à lui les métabolites secondaires des plantes

La deuxième partie porte sur les manipulations et les expérimentations faites sur la plante et elle comprend aux différentes analyses (biochimiques, rhéologiques, biologiques et pharmacologiques) réalisées sur les poudres obtenues ainsi sur la plante fraîche

Une troisième et dernière partie qui révèle tous les résultats obtenus ainsi que leur discussion, et à la fin, on termine par une conclusion et quelques perspectives.

Etude Bibliographique

Chapitre I
Généralités sur Portulaca
oleracea L.

Chapitre I Généralités sur *portulaca oleracea* L

I.1 Définition

Portulacaceae est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 20 genres et 500 espèces (Jones et Luchsinger, 1987). La dite famille constitue des herbes vivaces ou annuelles, souvent succulentes (Ware, 1967).



Figure 01 : *Portulaca oleracea* L (originale)

Le genre *Portulaca* (figure 01)comprend plus de 100 espèces de plantes herbacées annuelles, charnues ou sarmenteuses (Bailey et Bailey, 1976). Il tient son nom du latin, *Portula* qui signifie «petite porte», à cause de la forme de l'ouverture de sa capsule.

Plusieurs espèces de ce genre sont cultivées comme légume appelé Olera (Gallino, 2001). Citant quelques espèces *P. pilosa* L. et *P. tuberosa* R en Afrique australe, *P. quandrifida* L. en Afrique tropicale, *P. retusa* Engelm en Amérique du Nord, *P. pilosa* L. en Amérique du Sud, *P. napiformis* Muell. en Australie et *P. oleracea* L. en Afrique du nord (Bermejo et Leon , 1994).

Cependant, il existe d'autres noms communs proviennent de différentes racines : *lonica* ou *louina* (sanskrit), *koursa* (hindoustani), *kholza* et *perphen* (perse), *adrajneagria* (grec).

Chapitre I Généralités sur portulaca oleracea L

Les Arabes du moyen-âge l'appelaient *Baqalahamqa*, ce qui signifie «légume fou» du fait que ses branches se répandent sur le sol sans contrôle. Tandis que, les agronomes hispano-arabes d'Andalousie (10-15ème siècle) utilisaient le nom de *rigla* qui signifie «pied» certainement à cause de ses feuilles dactyliformes (Bermejo et Leon., 1994).

Ce groupe des espèces est aussi appelé «pourpier potager» du fait qu'il est utilisé comme légume.

En effet, le pourpier est originaire des régions tropicales et subtropicales du globe, et spontané dans toute l'Europe (Couplan, 2009). Il est présent dans toute l'Afrique tropicale (Grubben et al, 2004).

I.2 Systématique de *Portulaca oleracea L*

Il existe plusieurs classifications de cette espèce, la plus récente est celle d' APG III (2009) est donnée comme suit :

Clade : Angiospermes

Clade : Dicotylédones vraies

Clade : Noyau des Dicotylédones vraies

Ordre : Caryophyllales

Famille : Portulacaceae

Une autre classification proposée par Cronquist, (1981) est la suivante :

Règne : Plantae.

Sous règne : Viridiaeplantae.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnolipsida.

Sous classe : Caryophyllidae.

Ordre : Caryophyllales.

Famille : Portulacaceae.

Genre : *Portulaca*.

Espèce : *oleracea*.

I.3 Caractères morphologiques

Portulaca oleracea L. est une plante herbacée annuelle (Bermejo et Leon, 1994). Elle se développe en touffe et peut atteindre 30 cm de hauteur (Bourgeois, 1993)

La tige est cylindrique, épaisse, plane, succulente et totalement glabre (Akobundu, 1989), souvent rougeâtre mesurant de 0,2 à 0,5m de longueur (Holm et al, 1977).

Chapitre I Généralités sur *portulaca oleracea* L

Les feuilles (figure 02) sont opposées et parfois alternes (Beloued, 2009), à pétiole mesurant entre 1 et 3mm de long. Le limbe obovale à spatulé, épais et succulent de 0,5 à 2cm (Grubben et Denton, 2004). La nervure principale est marquée par une dépression longitudinale sur la face supérieure du limbe (Bourgeois et Merlier, 1995).



Figure 02 : Feuille. (Original)



Figure03 : Fleur. (Original)

La racine (figure04) est pivotante, épaisse, mesurant entre 2 à 11cm (Reaume, 2009). De nouvelles racines peuvent se développer à partir des rameaux (Bourgeois et Merlier, 1995).



gynécée est à

Figure 04 : Racine. Original

ovaire semi-infère surmonté d'un style jaune de 4 à 6 stigmates linéaires ciliés (Bourgeois et Merlier, 1995).

Le fruit est une capsule déhiscente, de forme globuleuse mesurant de 4 à 8mm et contient de nombreuses graines. Ces dernières sont noires, orbiculaires et réniformes d'un diamètre de 0,5 à 1mm (Grubben et Denton, 2004).

Chapitre I Généralités sur *portulaca oleracea* L

I.4 Composition biochimique

L'analyse phytochimique de *Portulaca oleracea* révèle la présence d'une quantité importante de polyphénols à savoir : les flavonoïdes, les coumarines, les glycosides monoterpènes et les alcaloïdes (Dianyu *et al*, 2011; An Sook *et al*, 2012). Ces composés phénoliques sont responsables de l'activité anti-radicalaire (Lim et Quah, 2007)

La dite espèce contient des éléments minéraux (Ca, Mg, K, Fe, Zn, Na et Cl) à des concentrations variables selon le stade de maturation (Uddin *et al*, 2012).

La plante contient aussi de l'acide gras Omega-3 (Abdel-Moneimet *al*, 2011). Notamment, ses feuilles contiennent l'acide alpha-linoléique, alphasétophérol et l'acide ascorbique avec une quantité très importante que les feuilles des épinards (Simopoulos *et al*, 1992).

I.5 Origine, habitat et exigences

Portulaca oleracea L. est l'une des plantes horticoles les plus répandues dans l'ancien monde. Elle a été transportée vers l'Amérique et l'Europe et implantée dans les jardins, au bord des chemins et devant les roches (Holm *et al*, 1977, Hernandez et Leon, 1994).

L'origine de cette plante reste peu connue. En effet, plusieurs zones tempérées de l'hémisphère Nord ont été proposées (Haudricout et Hedin, 1993). Elle se développe dans l'Eurasie, l'Europe du sud (Tutin, 1993), l'Asie occidentale, la Chine (Schoch *et al*, 1998), l'Inde et dans le Sahara de l'Afrique du Nord, cela pourrait expliquer l'aspect succulent de la plante (Holm *et al*, 1977).

Le pourpier est une plante facultative de jours courts (Gutteman, 1974). Une photopériode de jours longs (16h) stimule la croissance végétative tandis qu'une photopériode de jours courts (12h) stimule la croissance reproductive (Vengris *et al*, 1972). Elle tolère différentes intensités lumineuses ; mais la plus élevée provoque les plus grands rendements en poids frais et la croissance de l'espèce (Zimrnerman, 1976).

Le pourpier est sensible au froid, de même aux températures de réfrigération. Toutefois, les graines peuvent bien survivre dans les zones où les températures hivernales sont inférieures à 30°C. Par contre, il résiste bien à la sécheresse (Vengris *et al*, 1972) et pourrait continuer à accumuler la matière sèche et produire des graines, avec une légère irrigation tous les 6 jours (Noguchi *et al*, 1975).

Portulaca oleracea L. croît sur différents types de sol, mais préfère les sols fertiles, riches, humides, les sols limoneux (Haflinger et Brun-Holl, 1981), les sols calciques et acidophiles

Chapitre I Généralités sur portulaca oleracea L

(Miyanishi et Cavers, 1980). C'est une espèce halophyte, capable de croître dans des sols salés dont la concentration de NaCl est égale ou supérieure à 0,5% (Aronson, 1989).

Cette espèce exige des sols riches en phosphore, qui est un facteur important dans la mise en place (Hopen, 1972). Un niveau élevé d'azote est important pour la croissance de l'espèce (Zimmerman, 1976). Elle exige également des sols riches en nutriments (Ca, Mg, P et K) (Miyanishi et Cavers, 1980).

I.6 Culture et récolte

Le pourpier se développe rapidement en atmosphère chaude, sur des terrains légers et riches. La culture à l'air libre doit être réalisée au printemps mais il peut être cultivé en serre, en semant à la volée et en enterrant les graines à l'aide d'une légère pression. Le premier et le deuxième arrosage sont essentiels pour la germination et la croissance de la plante.

Les graines germent rapidement et ensuite il faut les transplanter pour accélérer le développement. Il est important d'assurer l'humidité après le semis afin d'accélérer la germination.

Lorsque les plantules sont arrivées à une croissance moyenne, elles tolèrent peu d'eau et la plante continue à se développer. Dans le cas de la culture en serre, les plantes sont récoltées au stade de 4 à 5 feuilles, après une vingtaine de jours de semis (Bermejo et Leon, 1994). Tandis que, la culture à l'air libre, les feuilles et les tiges charnues sont récoltées lorsqu'elles sont suffisamment développées, environ 2 à 3 mois après le semis (Couplan et Marmy, 2009).

I.7 Utilisation

Portulaca oleracea L. est connue depuis longtemps pour ses multiples usages. Les romains et d'autres peuples méditerranéens, l'ont employé comme herbe potagère depuis l'antiquité (Foster 1980). Le pourpier est utilisé comme salades, auxquelles il donne un goût piquant rappelant le citron (Gorman, 1988).

Ladite plante est actuellement considérée comme un aliment très intéressant et incluse dans la liste des « World Economic Plants » (Wyk, 2005). Au même temps, elle est employée en médecine populaire depuis très longtemps, afin de traiter les maux de tête, les maux d'estomac, les mictions douloureuses, l'entérite et la mammite (Leung et Foster, 1996).

Sa richesse en acides gras «oméga-3» lui confère un potentiel thérapeutique aux maladies du système nerveux central (Bosi et al, 2008). Les teneurs importantes en acides gras, permettent de soulager les symptômes du psoriasis en inhibant la production de leucotriènes (substance responsable de la démangeaison et la desquamation). Des recherches

Chapitre I Généralités sur portulaca oleracea L

récentes ont montré que ces acides gras, sont importants dans la prévention des crises cardiaques et le renforcement du système immunitaire (Boutenko et Boutenko, 2008).

Sa teneur élevée en vitamine C, joue un rôle important dans le traitement du scorbut et les maladies de la gencive.

En outre, sa richesse en magnésium qui est un autre constituant majeur du pourpier, peut renforcer le cœur et fortifier le système immunitaire. Il peut soulager les céphalées de tension, les migraines et la tension musculaire.

Le pourpier, contient aussi de grandes quantités en L-norépinéphrine, une neurohormone qui a des activités vasopresseurs, anti hypotensive et capable de réduire l'hémorragie au niveau des tissus (Saad et Said, 2011).

La plante fraîche est utilisée comme un cataplasme afin de traiter les brûlures, les maux d'oreilles, les piqûres d'insectes, les inflammations, les lésions cutanées, les ulcères, les démangeaisons, l'eczéma et les abcès (Leung et Foster, 1996). Le pourpier rentre aussi dans la thérapeutique médicale dentaire (Cocher, 1998). Les feuilles du pourpier mâchées crues fait disparaître les aphtes et l'enflure des gencives irritées. Tandis qu'en gargarismes soulagent les maux de dents (Lamendin, 2007).

Cette plante a été utilisée en médecine vétérinaire. Au 18ème siècle, le jus extrait du pourpier mélangé avec des roses rouges, a été préconisé aux chevaux pour traiter la fièvre (Atzei, 2003). De même, il stimule le système immunitaire de l'animal et aide à prévenir les diarrhées (Bosi et *al*, 2008).

Chapitre II
Généralités sur les composés
phénoliques

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

II.1 Généralités sur les métabolites secondaires

Le métabolisme de la plante verte produit des glucides (sucres) et des protéides. La fraction des glucides est ensuite transformée en composés divers dont les lipides sont les plus importants, mais le métabolisme fournit aussi plusieurs corps secondaires que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des alcaloïdes, des hétérosides, des huiles essentielles et des tanins. Notamment, les végétaux fournissent également des vitamines, des oligoéléments, et des antibiotiques (Boiteau et Potier, 1980).

Les métabolites secondaires des plantes constituent un groupe diversifié de composés chimiques d'origine naturelle qui n'ont généralement aucune fonction primaire évidente en ce qui a trait à la croissance des cellules de la plante.

Ils sont synthétisés par la plante en réaction à des stimuli extérieurs et ont souvent une fonction régulatrice dans le cadre d'une série de réactions physiologiques et métaboliques en cascade à la suite d'un stress environnemental ou d'une attaque par des ravageurs. Lorsque l'on découvre une nouvelle fonction biologique à un métabolite secondaire, ce dernier est généralement classé comme étant une vitamine (Brandt et *al*, 2001 In Benbrook, 2005).

II.2 Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition, aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Urquiaga et Leighton, 2000).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (Macheix et *al*, 2005).

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

II.2.1 Biosynthèse des composés phénoliques

Les cycles aromatiques des polyphénols sont issus de deux grandes voies métaboliques de synthèse : la voie shikimique et celle de l'acétate (Bruneton, 1999).

II.2.1.1 Voie de Shikimique

Cette voie conduit après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (Knaggs, 2003). Elle joue aussi un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Yao et al, 1995).

II.2.1.2 Voie d'acétate

C'est à travers cette voie que, s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger et Flipse, 1964 ; Richter, 1993).

La diversité structurale des composés polyphénoliques n'est pas due seulement à cette double origine biosynthétique, mais aussi accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte (Martin et Andriantsitohaina, 2002)

II.2.2 Principales classes des polyphénols

II.2.2.1 Les acides phénoliques simples

➤ Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3). Existents souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules (figure 05).

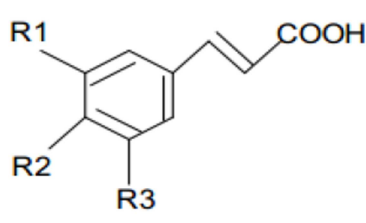
	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Figure 05 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

➤ Acides hydroxybenzoïques

Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans la figure 06.

	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

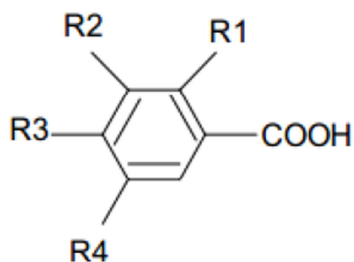


Figure 06: Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

➤ Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (figure 07).

	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

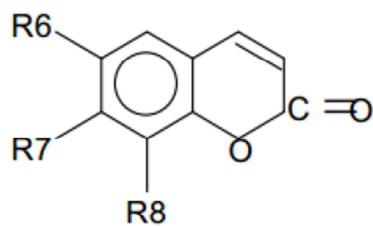


Figure 07: Principaux types de coumarines (Macheix et al, 2005).

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

II.3 Généralités sur les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme *flavedo*, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du *flavus* ; (*flavus* = jaune) (Male Éev et Kunti, 2007).

Les flavonoïdes ont été désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt et *al*, 2001).

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées, Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits (Ghedira, 2005).

II.3.1 Structure chimique et classification

La structure de base des flavonoïdes est le noyau du flavone (2-phenyl-benzo- γ -pyrane) (figure08) mais de point de vue classification, le groupe des flavonoïdes peut être divisé en plusieurs catégories. Cette division dépend de l'hydroxylation du noyau du flavonoïde aussi bien que du sucre lié.

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, et de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phenyl-2 chromane. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation de noyau pyranique central (Krishna et *al*, 2001).

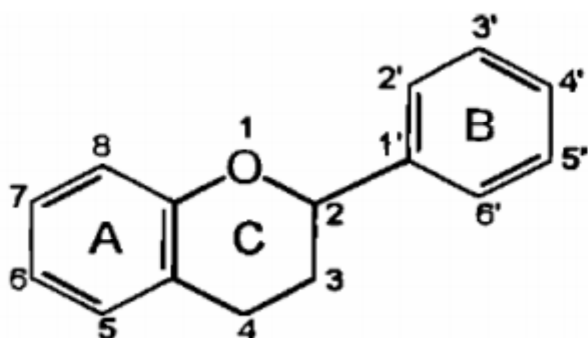


Figure 08 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et *al*, 2001).

Les flavonoïdes se répartissent en fonction de la structure de molécules. En effet, plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et Williams, 2000), les plus importantes sont

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

les flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins (Effendi *et al*, 2008) (Tab. I).

Tableau I : Distribution alimentaire des principales classes de flavonoïdes (W-Erdman *et al*, 2005 ; Marfak, 2003).

Flavonoïdes	Exemple	Aliments	Caractéristique
Flavonols	Quercétine, Kaempférol, Myricétine	Oignon, poireau, brocolis, pomme, chou fraisé, olive, tomate	Constituent le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
Flavones	Utéoline, Apigénine, Chrysine	Persil, céleri, thym, romarin, peau des fruits	Les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration.
Flavanones	Genisteine, Daidzeine, Naringénine	Graines de soja et produits qui en dérivent. Fruit de genre citrus	Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylées.
Flavan3-ols	Catéchine, Epicatéchine, Epigallocatechine	Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao, chocolat	Flavan3ols ainsi que flavan3,4diols sont tous les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques
Anthocyanidines	Cyanidine, Delphénidine, Cyanidol	Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales, cassis	Représentent le groupe le plus important des substances colorées

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

II.3.2 Localisation et distribution

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. On signale environ 2% de la proportion du carbone photosynthétique global incorporé dans la biosynthèse flavonique. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs.

De plus, leur localisation au sein de la plante est caractéristique. En effet, les flavonoïdes sont omniprésents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels (Remy et *al*, 1996).

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le sac vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux. Lorsque les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyles (Bruneton, 1993).

En définitive, les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal. Ils sont largement abondants dans les légumes feuillés (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. On les trouve principalement dans les agrumes : citrons, orange, pamplemousses et dans une moindre mesure : abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, tomates et sarrasin. On en trouve également en quantité importante dans nombreuses plantes médicinales et très spécifiquement dans les herbes aromatiques comme le thym, le persil, le romarin et le céleri (Bronner et Beecher, 1995).

II.3.3 Biodisponibilité des flavonoïdes

Les effets des flavonoïdes sur la santé ne dépendent pas seulement de leurs niveaux de consommation mais aussi de leur biodisponibilité. Peu d'études systématiques ont été menées sur la pharmacocinétique des flavonoïdes chez l'homme. Toutefois, d'après des expériences menées sur des flavonoïdes provenant de l'alimentation, il apparaît que seuls les flavonoïdes sous forme de génines (ou aglycones) sont susceptibles d'être absorbés. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) n'intervient que dans le côlon où les micro-organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaire. Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes absorbés, Une meilleure connaissance de la biodisponibilité des flavonoïdes est indispensable pour expliquer leurs effets protecteurs sur la santé (Walle, 2004).

II.4 Généralités sur les tannins

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes (tannins condensés) et les dicotylédones (tannins hydrolysables). Ces

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

composés ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (Harborne, 1997).

Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes. Le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 K Da (3000 pour les structures les plus complexes) (Hagerman et Butler, 1981).

Dans notre alimentation, l'astringence est la qualité organoleptique qui indique la présence des tannins. Elle a un rôle important dans le choix des aliments (corrélation inverse entre les espèces végétales choisies et leur teneur en tannins) (Larwence *et al*, 1984).

II.4.1 Types et structures

Selon la structure, on a deux types de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés, dits aussi : proanthocyanidines.

II.4.1.1 Les tannins hydrolysables

Sont formés par liaison de plusieurs acides galliques à un carbohydrate (généralement le glucose). On parle de gallotannins. Aussi des unités galloyles peuvent être ajoutées par liaisons esters, généralement en position C3 de l'acide gallique. Et les unités d'acide gallique voisines s'accouplent formant les esters d'acide hexahydroxydiphénique, dits : ellagitannins.

L'acide gallique provient de la β -oxydation des composés C6-C3, comme l'acide coumarique ou les acides oxygénés correspondants. Mais, l'acide shikimique est considéré comme le meilleur précurseur (Seigler, 1998).

II.4.1.2 Les tannins condensés

Ce sont des proanthocyanidines (figure 09), composés phénoliques hétérogènes : dimères, oligomères ou polymères du flavanes, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5-deoxy-3-flavanols et flavan-3,4-diols (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les deux groupes majeurs des proanthocyanidines sont les procyanidines et les prodelphinidines. Les monomères constitutifs des procyanidines sont la catéchine et l'épicatéchine qui peuvent être substituées par l'acide gallique ou des sucres en position 3 ou plus rarement en position 7. Ces monomères de prodelphinidines sont la gallocatéchine et l'épigallocatéchine, mais on distingue également des monomères de quercétine et de myricétine (Andersen et Markham, 2006).

En s'hydrolysant, les tannins condensés ne donnent pas de composés simples comme le glucose ou les acides phénols comme c'est le cas pour les tannins hydrolysables, mais plutôt des anthocyanidines (Andersen et Markham, 2006).

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

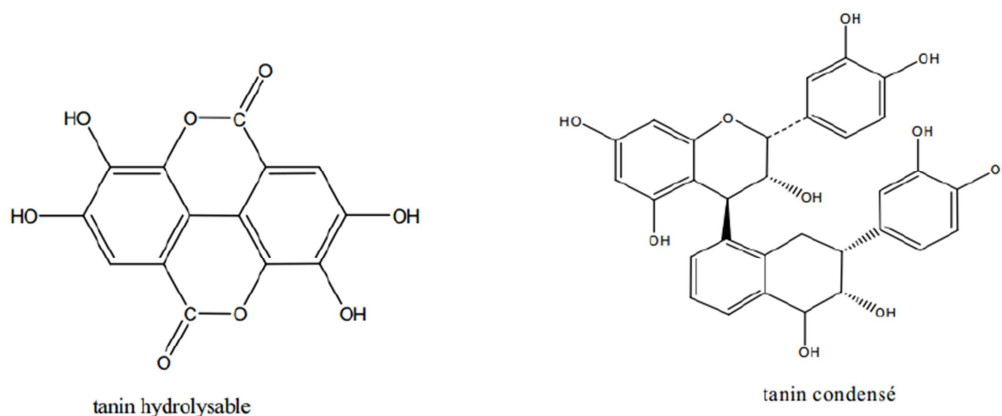


Figure 09 : structures des tannins (Bahaz et Rachdi, 2010)

II.5 Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est dû à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Nijveldt *et al.*, 2001).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002). D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires.

De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau.

Les acides phénols et ces dérivés sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés (Hennebelle *et al.*, 2004). Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (Bossokpi,

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

2002). Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (Cowan, 1999). Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris in vitro et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (Kawada *et al*, 2001 in Rangkadilok *et al*, 2007). Il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative tels que la quercétine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux (Lee *et al*, 2005).

En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Hennebelle *et al*, 2004).

En ce qui concerne les flavonoïdes, ces composés peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (Hodek *et al*, 2002) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Van Acker *et al*, 1996 ; Benavente-Garcia *et al*, 1997). Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxigénase, la phospholipase et la cyclooxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (Anderson *et al*, 1996 ; Cowan, 1999 ; Yao *et al*, 2004). Mais, on attribue également aux flavonoïdes des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-estrogènes (isoflavones), contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion.

D'autres part, les citroflavonoïdes (flavonoïdes provenant de divers Citrus) et la fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise hémorroïdaire) (Hennebelle *et al*, 2004).

Les anthocyanes sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire (vigne rouge, *Vitis vinifera* L.), mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires. Leur plus grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (myrtille, *Vaccinium myrtillus* L.; cassis, *Ribes nigrum* L.) (Hennebelle *et al*, 2004). Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes, les anthocyanidines ont montré leur effet inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires humaines anormales (Zhang *et al*, 2005).

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Agissent comme des pigments ou des co-pigments. Peuvent moduler la distribution d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire. Agis sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (Subramanian *et al*, 2007).

Les tanins sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie (Chung *et al*, 1998).

Ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques (chêne, *Quercus spp.*). Les proanthocyanidines dimères de l'aubépine (*Crataegus spp.*) seraient de bons sédatifs cardiaques (Hennebelle *et al*, 2004).

Plusieurs observations, chez les humains comme chez les animaux de laboratoires suggèrent que les tannins exhibent un large spectre de propriétés pharmaceutiques, thérapeutiques et chimioprotectrices dues à leur propriété antiradicalaire (Tohge *et al*, 2005).

En effet, les tannins protègent contre les toxicités induites par différents agents (hydrogène peroxyde, acétaminophène, extraits contenus dans la fumés du tabac...), contre l'hypercholestérolémie et les changements de la formule sanguine (ALT, BUN et CK). Ils jouent aussi un rôle dans la prévention contre les deux formes de mort cellulaire connues, apoptose et nécrose. L'action cytoprotectrice des proanthocyanidines est supérieure à celle des vitamines C, B et bêta-carotène (Ray *et al*, 2000).

Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A.

Les tannins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres (Rahman *et al*, 2006), ils inhibent les ions Cu^{2+} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* (Yoshida *et al*, 1999).

Les coumarines sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives (Hennebelle *et al*, 2004). Ils ont la capacité de

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (Anderson *et al*, 1996).

Certaines quinones, dérivant de l'antraquinone, sont des laxatifs stimulants. Elles sont rencontrées dans la bourdaine (*Rhamnus frangula L.*), les sénés (*Cassia spp.*) et les aloès (*Aloe spp.*). D'autres activités antidépressives (hypericin), anti-protistes, antivirales, antibactériennes, fongicides et anti-allergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable. (Bruneton, 1993 ; Hennebelle *et al*, 2004).

II.6 Activités biologiques des composés phénoliques

II.6.1 Activité antioxydante

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinebert *et al*, 2005).

II.6.2 Activité antimicrobienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces micro-organismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (Kaufmann, 1997).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

Des études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempférol et d'autres) sont

Chapitre II Généralités sur les composés phénoliques

dotés d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (Ulanowska *et al*, 2007).

Des flavonoïdes, une flavone et une flavanone, respectivement isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont montré une activité contre le microbe pathogène opportuniste (*Candida albicans*) (Wächter *et al*, 1999). Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont exhibé une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus* une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs (Valsaraj *et al*, 1997).

Etude Expérimentale

Chapitre III
Matériel et Méthodes

Chapitre III Matériels et méthodes

III.1 Cadre de l'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein des laboratoires communs (I et II) d'analyses physico-chimiques, de même que le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO) et le LABAB. Ainsi que le laboratoire de l'Unité de Recherche, Matériaux, Procédés & Environnement de l'Université de Boumerdès (UR-MPE).

L'objectif principal de ce travail, est de réaliser une caractérisation des poudres obtenues suite à un séchage à l'air libre ainsi à la plante fraîche et d'évaluer divers activités biologiques.

Le travail pratique est divisé en trois parties suivantes :

- 1-Caractérisation physico-chimiques des poudres obtenues et de la plante fraîche.
- 2-Evaluation de certaines propriétés pharmacologiques, biologiques et biochimiques des poudres obtenues et de la plante fraîche.
- 3-caractérisation rhéologique des poudres obtenues.

III.2 Appareillages et réactifs

L'ensemble des appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture est cité dans l'annexe 01.

III.3 Echantillonnage de la plante

La partie aérienne de *portulaca oleracea* L a été récoltées au nord de l'Algérie (Wilaya de Tizi Ouzou) au nord-est de la commune de sidi naâmane, durant la période allant du mois de septembre jusqu'au mois d'octobre 2016.

La partie aérienne est lavée à l'eau du robinet, ensuite épongées à l'aide d'un papier absorbant à fin d'éliminer l'eau restante à la surface.

III.4 Souches utilisées

Les tests de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques de notre plante sont effectués sur cinq bactéries pathogènes de référence, une levure et une moisissure (Tableau II). Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Université de Tizi-Ouzou.

Le choix des souches est fait selon leurs disponibilités.

Les souches utilisées.

1. Escherichia coli

Chapitre III Matériels et méthodes

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, (Kaper et al., 2004), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm , *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Percival, 2004).

2. *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 μm , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë, intoxication alimentaire (Dworkin et Falkow, 2006).

3. *Pseudomonas aeruginosa*

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles, ce type de bactérie synthétise de types principaux de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert, il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques (Percival, 2004). *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales (Van Delden et Iglewski, 1998).

4. *Candida albicans*

Actuellement, le genre *Candida* comprend 81 espèces de champignons levuriformes. *Candida albicans* est la plus souvent à l'origine de la plupart des manifestations pathologiques chez l'homme. On la rencontre habituellement, à l'état saprophytique, dans le tube digestif de l'homme et, par contiguïté, elle peut être retrouvée au niveau de la muqueuse vulvo- vaginal, (ou de la bouche). Mais on ne retrouve qu'exceptionnellement *Candida albicans* au niveau de la peau. Cette espèce est responsable de plus de 80 % des infections

connues sous le terme de candidose, comme les infections superficielles cutanées, infections superficielles muco- cutanées (Delorme et Robert, 1997).

5. *Aspergillus niger*

Chapitre III Matériels et méthodes

Aspergillus niger. sont les espèces fongiques les plus communes qui sont capables de produire des mycotoxines dans les produits alimentaires. Les mycotoxines sont connues pour être une cause puissante capable de produire un cancer hépatique chez les animaux et les humains. La présence et la croissance des champignons peuvent entraîner la détérioration et la réduction de la qualité et la quantité des aliments (Rasooli et Abyaneh, 2004).

6. *Enterococcus faecalis*

C' est une bactérie commensale à Gram positif, habitant le tube digestif des humains et d'autres mammifères .Comme d'autres espèces du genre *Enterococcus*, *E. faecalis* peut causer des infections mortelles chez l'homme et le singe, particulièrement dans un environnement hospitalier : le haut niveau de résistance naturelle aux antibiotiques de la bactérie contribue à sa pathogénicité et au risque nosocomial.Elle peut aussi déclencher des inflammations chronique de l'intestin.

7. *Bacillus cereus*

C'est une bactérie appartenant au genre *Bacillus*. La morphologie du germe correspond à un grand bacille en forme de bâtonnet de 1 µm de large pour 3 à 4 µm de long, sporulé, mobile grâce à une ciliature péritriche, d'une longueur supérieure à 3 µm et d'un diamètre moyen de 1,4 µm et de type respiratoire aéro-anaérobie présentant une positivité à la coloration de Gram, et synthétisant deux types de toxines : une toxine thermostable et une toxine thermolabile.

III.5 Méthodes d'analyses

III .5.1 Méthodologie de séchage

III .5.1.1 Séchage à l'air libre

Pour ce type de séchage, la partie aérienne de *portulaca oleracea L* a été séchées sur une surface ouverte à l'obscurité. La température de séchage est comprise entre 20 et 22°C.

Protocole

Une quantité de 20g de feuilles, prélavées et essuyées à l'aide d'un papier absorbant est étalée sur un tapis en plastique en couche mince. Retournée fréquemment. On veillant à obtenir un séchage uniforme et à éviter ainsi le développement de moisissures.

Chapitre III Matériels et méthodes

III.5.2 Détermination des propriétés physico-chimiques de la plante fraîche et sèche

III.5.2.1 Détermination de la teneur en eau (NF V 05-113, 1972)

Mode opératoire

5g d'échantillon (poudre /plante fraîche) des feuilles /tige/partie aérienne (feuille +tige) étalé dans une assiette en aluminium. Puis mis dans l'étuve pendant 15 min à $105 \pm 2^\circ\text{C}$, retirer de l'étuve, les placer dans le dessiccateur pour éviter toute réhydratation, après refroidissement, les peser à l'aide d'une balance de précision 0,001. Recommencer l'opération jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La teneur en eau a été déterminée selon la formule suivante :

Soit

$$H(\%) = \frac{M1 - M2}{p} \times 100$$

H : Humidité (%);

M1 : Masse de la capsule (Tare) + la matière fraîche avant séchage en g.

M2 : Masse de l'ensemble après séchage en g.

M : Masse de la prise d'essai en g.

III.5.2.2 Teneur en cendres (NF V 05-113, 1972)

Principe

L'échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres de poids constant.

Mode opératoire

1. Dans des capsules en porcelaine, peser 5 g d'échantillon (poudre /plante fraîche) des feuilles /tige/partie aérienne (feuille +tige)
2. Placer les capsules dans un four à moufle réglé à $550 \pm 15^\circ\text{C}$ pendant 5 heures jusqu'à obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre.
3. Retirer les capsules du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

Expression des résultats

La matière organique a été calculée selon l'équation suivante :

$$MO(\%) = \frac{(M1 - M2)}{P} \times 100$$

Soit

MO : Matière organique (g) ;

M1 : Masse de capsule +prise d'essai (g) ;

M2 : Masse de capsule +cendres (g) ;

P : Masse de la prise d'essai (g) ;

La teneur en cendres (Cd) a été déterminée comme suit :

Cd =100 - MO%

III.5.2.3 Mesure du pH(NF V 05-108, 1997)

Il définit l'acidité du produit considéré, mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

Mode opératoire

1. 10 ml d'eau distillée chaude sont ajoutés à 2 g d'échantillon (poudre /plante fraîche) des feuilles /tige/partie aérienne (feuille +tige).

2. Broyer le mélange et laisser refroidir.

3. Étalonner le pH-mètre, en utilisant des solutions tampons.

4. Prélever comme prise d'essai un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode, noter ensuite la valeur du pH affichée sur le pH mètre. Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant et après chaque mesure.

III.5.2.4 Acidité titrable (NF V 05-101, 1974)

L'acidité titrable est la somme des acides minéraux et organiques libres.

Principe

Il consiste en un tirage avec une solution de NaOH en présence de phénophtaléine comme indicateur coloré.

Mode opératoire

1. Peser 25 g de l'échantillon broyé (poudre /plante fraîche) des feuilles /tige/partie aérienne (feuille +tige).

2. Placer l'échantillon dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène.

3. Chauffer le contenu au bain-marie pendant 30min.

Chapitre III Matériels et méthodes

4. Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250 ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie et bien mélanger puis filtrer.

5. Prendre un volume $V_0=25$ ml auquel on ajoute 0,25 à 0,5 ml de phénophtaléine. Tout en agitant, verser à l'aide d'une burette la solution NaOH (0,1N) jusqu'à l'obtention d'une coloration rose persistante pendant 30 secondes. Faire la lecture sur la burette graduée pour avoir le volume de NaOH ayant décoloré la solution.

Expression des résultats

L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique pour 100g d'échantillon. Cette première a été déterminée selon la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{V' \cdot 0,0067}{V(\text{ml})} \times 100$$

V0 : volume de la prise d'essai, en millilitres;

V1 : volume de la solution d'hydroxyde de sodium (0,1N) en millilitres ;

0,0067 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

M : Masse sèche en gramme prélevée.

III.5.2.5 Détermination de la teneur en éléments minéraux par spectroscopie d'absorption atomique (NF V05-113,1972)

Les éléments minéraux (Mg, Cu, Fe, Cd, K, Na, Cr, Mn, Ni, Pb et Cd) sont déterminés par le spectrophotomètre d'adsorption atomique de type (VARIAN AA 240) lié à l'atomiseur de flamme (GTA 120). En effet, la concertation en ppm des élément minéraux a été déterminé à l'aide des courbes étalons préparées au préalable .

III.5.3 Analyse phytochimique

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre et la plante fraîche a été faite selon les méthodes standards du screening phytochimique (Dohou *et al*, 2013; Kumar *et al*, 2010). Ces tests préliminaires sont en relation avec l'intensité du précipité, de la turbidité et la coloration qui est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

III.5.3.1 Préparation de l'infusé

Chapitre III Matériels et méthodes

20 g d'échantillon sont mis à infuser dans 100 ml d'eau distillée. Porté à l'ébullition pendant 15 min; après filtration, le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée. L'infusé ainsi obtenu est utilisé pour la recherche des différents composés chimiques.

III.5.3.2 Les anthocyanes

Introduire dans un Erlenmeyer 5 ml de l'infusé, ajouter quelques gouttes d'HCl. Une réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

III.5.3.3 Les leuco-anthocyanes

A 2 g d'échantillon, on ajoute 20 ml (propanol / acide chlorhydrique) (V/V). On porte le mélange au bain-marie bouillant pendant quelques minutes.

Les leuco-anthocyanes sont détectées grâce à une coloration rouge de la solution.

III.5.3.4 Les tanins

Quelques gouttes de la solution de FeCl₃ (5 %) sont ajoutées à 5ml de l'infusé. La présence des tanins est identifiée par une coloration bleue noire de la solution.

III.5.3.5 Les tanins galliques

On sature le filtrat par l'acétate de sodium (CH₃COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl₃. La réaction est dite positive lorsque la coloration bleue foncée apparaît.

III.5.3.6 Les flavonoïdes

A 5 ml de l'infusé, on ajoute 5ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isobutanol. La réaction est positive lorsque la coloration est rouge orangé.

III.5.3.7 Les quinones libres

On ajoute 2ml d'HCl (1N) à 2 g de l'échantillon végétale, plus 20 ml de chloroforme, puis on laisse le mélange pendant 3h. Après on filtre le mélange. On ajoute au filtrat 5 ml d'ammoniaque (1/2). La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette apparaît.

III.5.3.8 Les saponosides

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5 ml d'HCl à 0,1 N, dans l'autre 5 ml de NaOH 0,1 N. On introduit dans chacun 2 à 3 gouttes d'infusé. Ensuite bien agiter verticalement pendant 30 s et laisser reposer 15 min.

Une réaction positive est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

1ercas : En présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes le même volume de la mousse.

Chapitre III Matériels et méthodes

2èmes : Si la plante contient des saponines tri terpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par volume.

III.5.3.9 Les alcaloïdes

On ajoute 20 ml d'ammoniaque (1/2) à 5 g d'échantillon végétale, plus 50 ml d'un mélange éther-chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par HCl (2N). L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendorff qui donne un précipité rouge.

III.5.3.10 Les glucosides

On ajoute quelques gouttes d'H₂SO₄ à 2 g d'échantillon végétale. Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence des glucosides.

III.5.3.11 Les coumarines

Préparation de l'extrait

2 g d'échantillon plus 20 ml de la solution (alcool éthylique - eau distillée). Bouillir pendant 15 min. On filtre, puis refroidir.

Identification

On ajoute 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH (10%) à 3 ou 5 ml de filtrat, et quelques gouttes d'HCl à 10 % jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide. L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

III.5.4 Dosage :

La raison principale de quantifier ces substances dans les échantillons de poudres obtenues et de la plante fraîche réside dans le fait que le séchage peut influencer la teneur initiale en ces composés dans la plante étudiée ainsi pour comparer la différence de teneur entre la plante fraîche et le produit séché. Une courbe d'étalonnage a été tracée pour cet objectif avec des solutions d'étalons à différentes concentrations. L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul *et al*, 2008).

III.5.4.1 Préparation de l'extrait

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le principe consiste à ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur.

Les solvants utilisés dans la présente étude sont (l'eau distillée et l'éthanol pur 96%, le méthanol pur 100%, l'acétate d'éthyle et le chloroforme).

Le procédé d'extraction adopté est illustré dans la figure ci-dessous.

III.5.4.1.1 Extraction aqueuse :

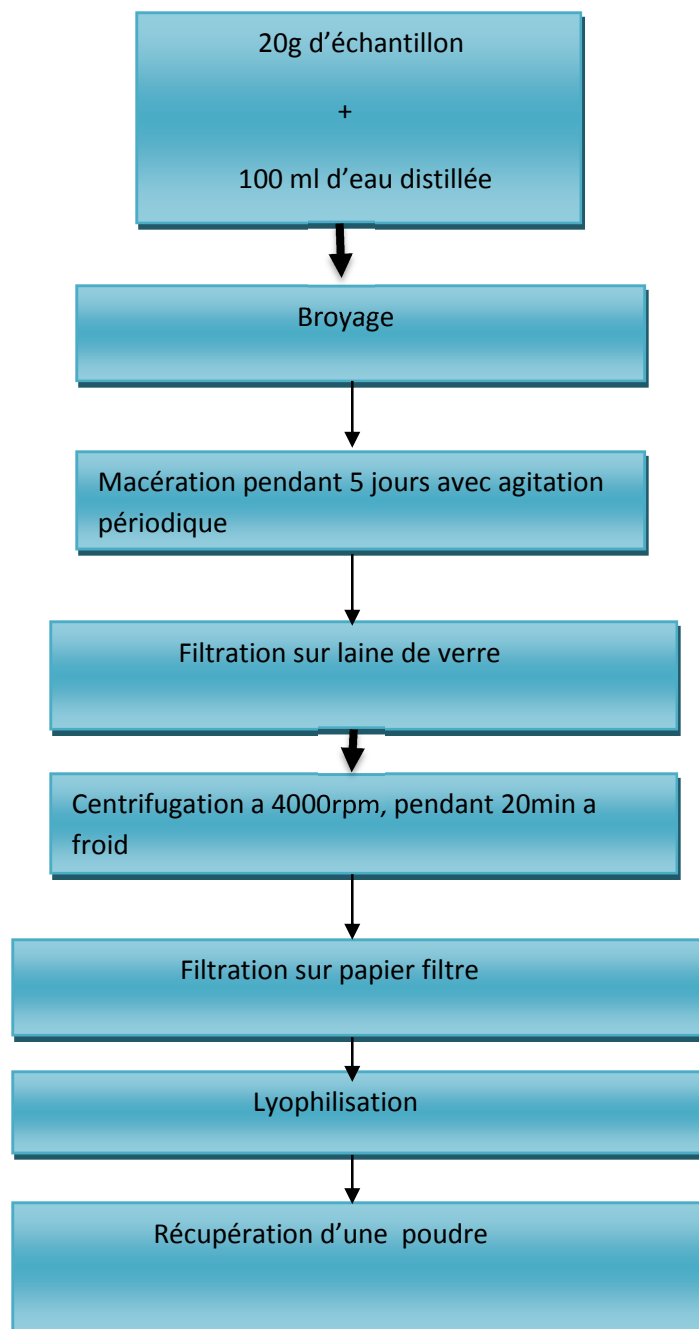


Figure 10 : Diagramme d'extraction des composés phénoliques (Owen et Johns, 1999)
(modifier)

Chapitre III Matériels et méthodes

III.5.4.1.2 Extraction organique :

Extrait éthanoïque et méthanoïque :

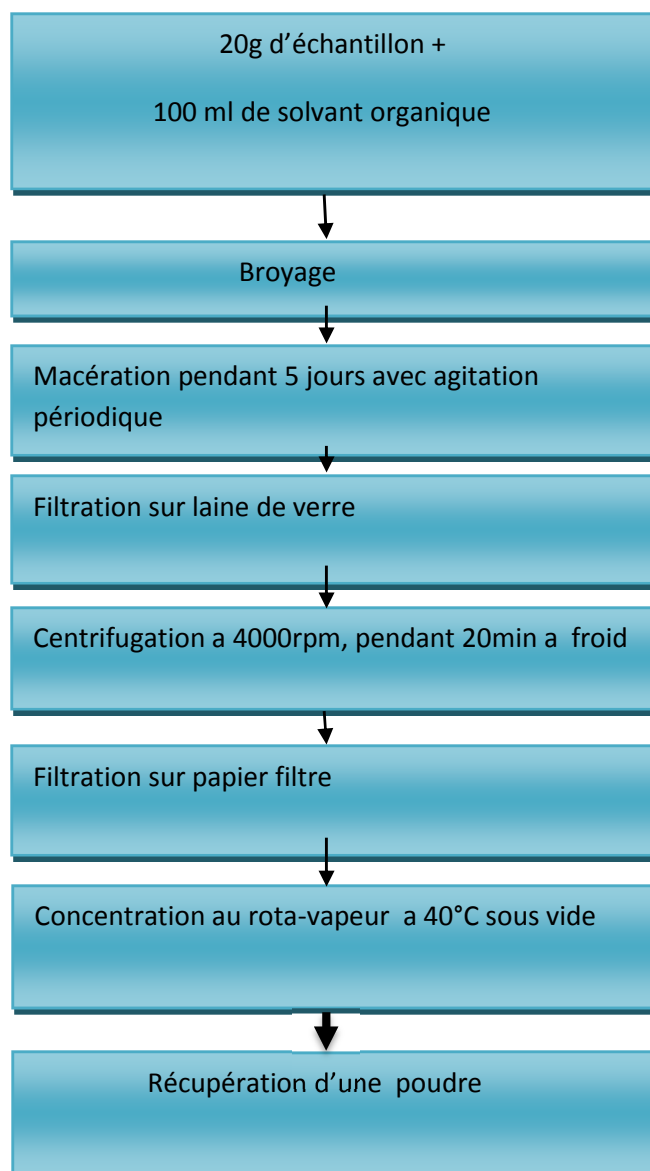


Figure 11:Diagramme d'extraction des composés phénoliques (Diallo *et al*, 2004) (modifier)

III.5.4.1.2.1 Extraction à l'acétate d'éthyle et au chloroforme :

L'échantillon doit, au préalable, subir un prétraitement par l'hexane pour éliminer les lipides. Il s'agit d'une extraction liquide-liquide. En effet Fki et al, (2004) ont démontré que l'acétate d'éthyle est plus efficace que les autres solvants d'extraction avec un taux d'extraction élevé.

III.5.4.1.2.1.1 Délipidation de l'échantillon :

20g d'échantillon (poudre /plante fraîche) des feuilles /tige/partie aérienne (feuille +tige) sont ajoutés à 20 ml d'hexane (p/v), la solution est mélangée pendant 3min. Le mélange subit ensuite une agitation suivie d'une décantation pendant 10min. L'échantillon délipidé est

Chapitre III Matériels et méthodes

recueilli après séparation complète des deux phases : l'hexane (surnagent) et l'échantillon délipidé (phase aqueuse) prête à une extraction liquide-liquide. Cette étape est reprise 3 fois (3lavages à l'h

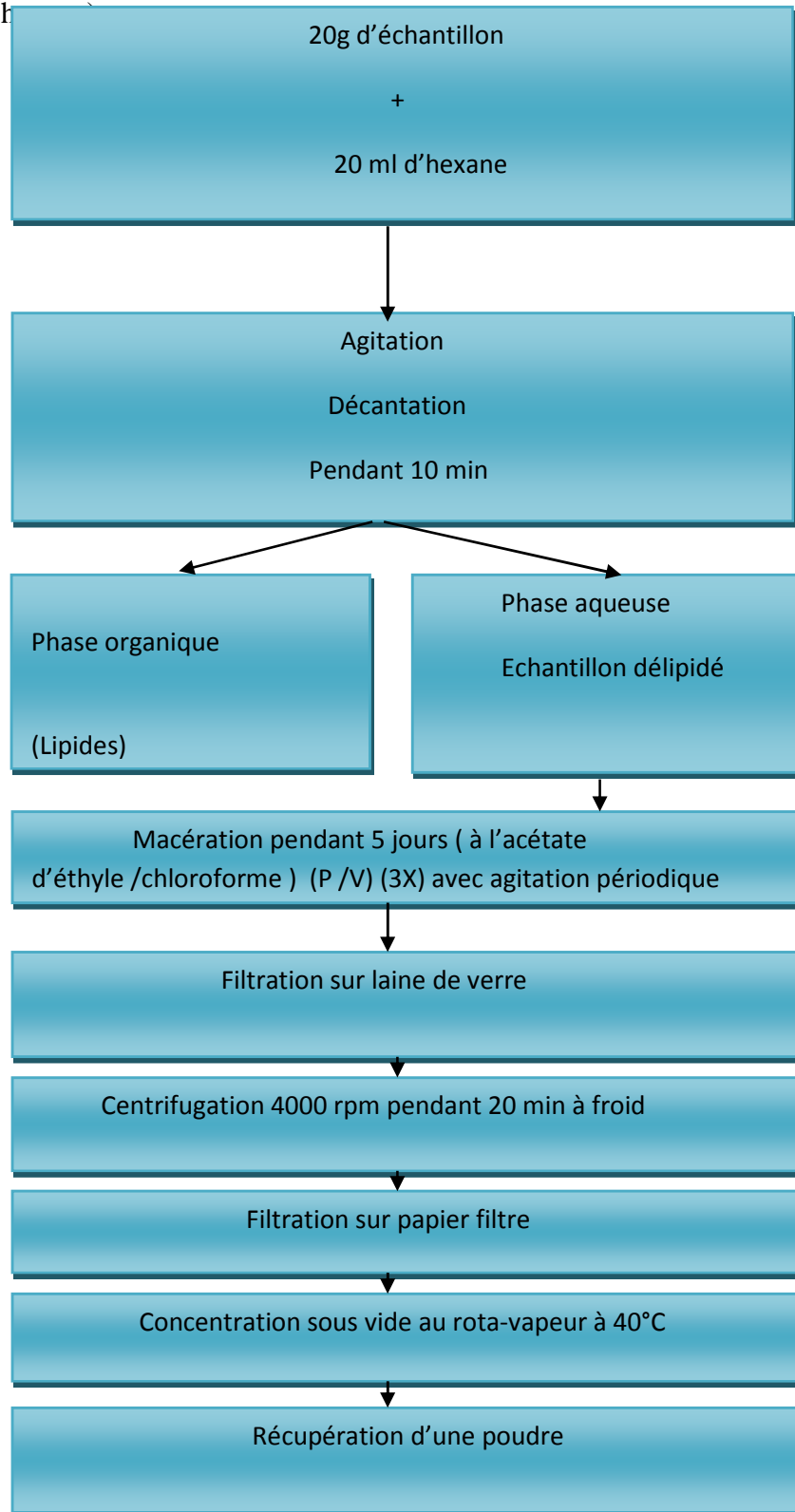


Figure 12 : Diagramme d'extraction des composés phénoliques (Diallo *et al*, 2004) (modifier)

Chapitre III Matériels et méthodes

III.5.4.2 Dosage des polyphénols :

La teneur en polyphénols totaux des trois extraits a été dosée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique au Folin-Ciocalteu mise au point en 1965 par Singleton et Rossi.

Principe :

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribereaugayon, 1968). La coloration bleue produite, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux, présente un maximum d'absorption à 760nm (Boizot et Charpentier, 2006 ; Ghaziet Sahraoui, 2005).

Mode opératoire :

La teneur en polyphénols totaux (PPT) a été déterminée par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs

Dans des tubes à essai nous introduisons successivement 200 μ l de l'extrait végétal (200 μ g/ml), 1 ml de réactif de folin-ciocalteu fraîchement préparé dilué 10 fois dans l'eau distillée. Après une incubation de 4 minutes les tubes sont additionnés de 800 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 75mg/ml). Le mélange réactionnel est incubé à l'obscurité pendant 45minutes, à température ambiante, puis la lecture de l'absorbance est effectuée à 760 nm.

Le même protocole est suivi pour la construction de la courbe étalon d'acide gallique (20-200 μ g/ml) et (10-100 μ g/ml). La concentration en polyphénols de nos extrais exprimée en équivalent acide gallique (GAE) est calculé sur la base de l'équation de la droite d'étalonnage

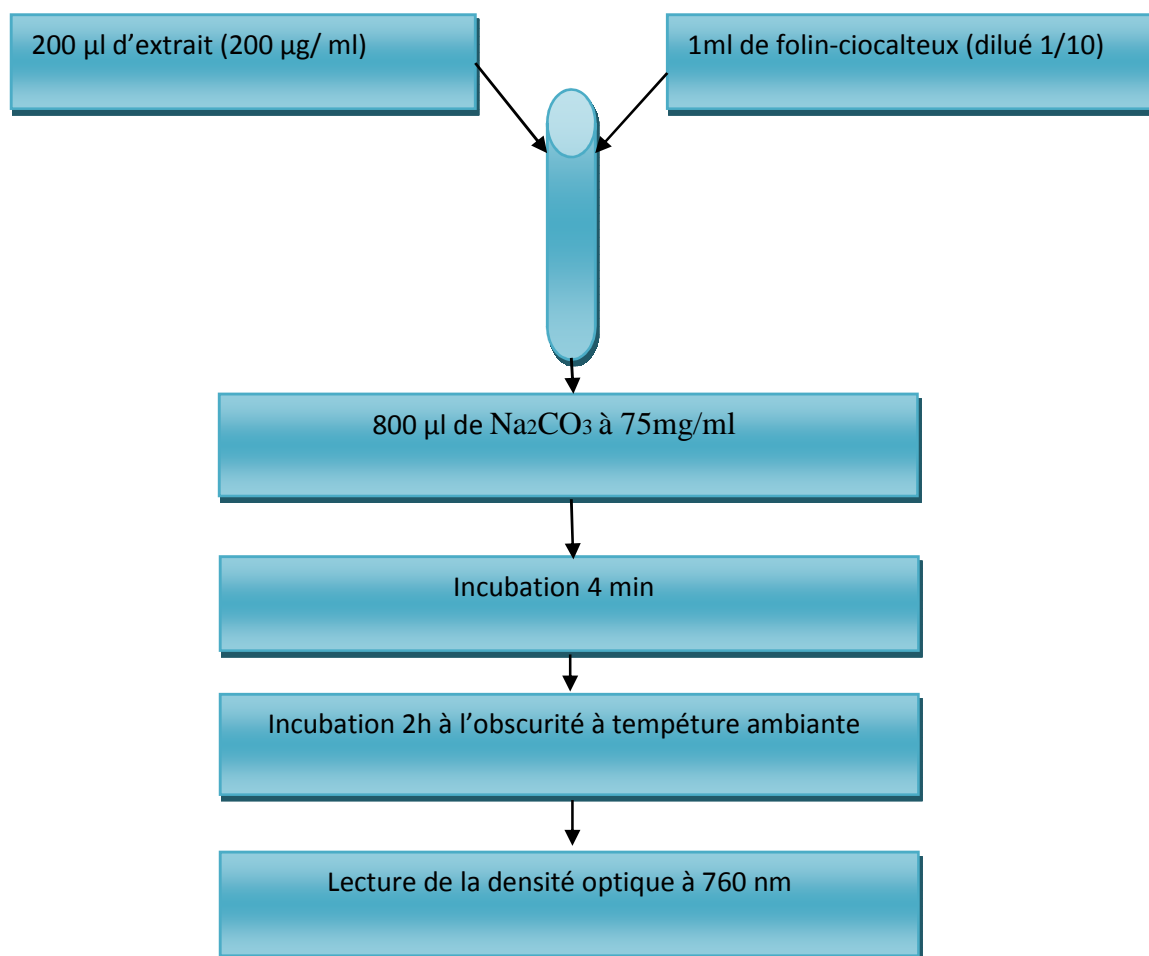


Figure 13: Protocole de dosage des polyphénols. (Li *et al*, 2007).

III.5.4.3 Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes totaux par la méthode colorimétrique est faite selon la méthode utilisée par Zhishen Mengcheng et Jianming (1999); Kim *et al*, (2003).

L'extrait convenablement dilué (1 ml) ou la solution du composé étalon, quercétine (20-250 µg/ml) est introduit dans une fiole jaugée de 10 ml contenant au préalable 4 ml d'eau distillée. A l'instant $t = 0$ on y introduit 0,3 ml de NaNO₂ à 5 % (P/v). A $t = 5$ mn on y ajoute 0,3 ml de AlCl₃ à 10 % ; 6 mn après, 2 ml de NaOH à 1M. Immédiatement le mélange réactionnel est dilué avec 2,4 ml d'eau bidistillée et est agité vigoureusement. L'absorbance de la solution rose est déterminée à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Varian Cary 50 Scan UV-Visible. La teneur en flavonoïdes totaux des différentes parties de plante est exprimée en équivalents de mg de quercétine par gramme de plante sèche.

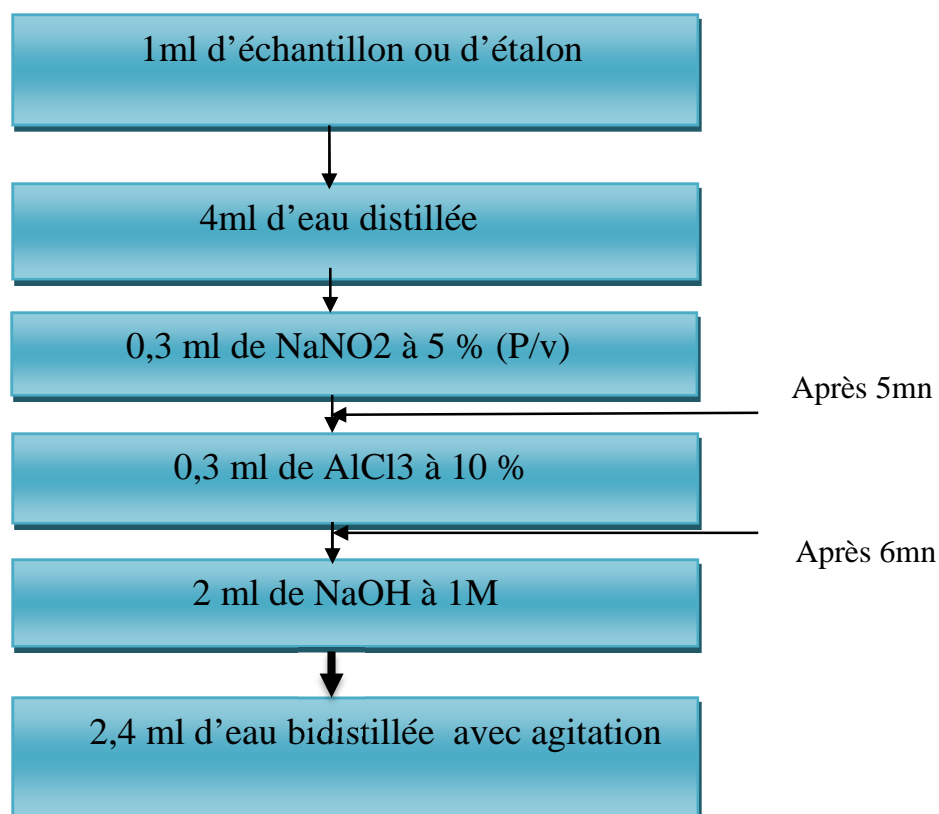


Figure 14 : protocole de dosage des flavonoïdes Zhishen Mengcheng et Jianming (1999); Kim et al. (2003).

III.5.5 Analyses rhéologiques des poudres :

On distingue deux grandes classes d'analyses rhéologiques des poudres en pharmacologie soit on a recours à des méthodes directes qui reflètent directement la taille des particules (la microstructure), soit à des méthodes indirectes qui considèrent que la taille des particules comme un paramètre susceptible d'intervenir dans un phénomène physique en l'occurrence les mouvements des particules (la granulométrie, l'indice de gonflement).

Dans notre étude, on a opté pour l'analyse des poudres obtenues avec les deux méthodes à fin de caractériser la taille et la structure des particules.

III.5.5.1 Détermination de la microstructure des poudres obtenues par le MEB

L'analyse de la microstructure des poudres, une méthode d'analyse directe qui consiste à balayer la surface d'un échantillon par un faisceau focalisé d'électrons accélérés à des tensions de 5 à 30 kv. Ces électrons vont interagir avec la surface de l'échantillon. Le signal

Chapitre III Matériels et méthodes

émis en chaque point de la surface de l'objet est synchronisé avec celui d'un écran vidéo, permet la formation d'une image composite modulée par l'intensité du signal détecté (Fontanille et Gnanou, 1994). Les structures microscopiques des différentes poudres issues de séchage ont été analysées avec un microscope électronique à balayage de type (PHILIPS ESEM XL 30). L'analyse du MEB a été réalisée au niveau du laboratoire de chimie de l'UMMTO.

III.5.5.3L'analyse de la granulométrie

Principe

C'est une méthode indirecte consiste à déterminer la répartition granulométrique par la technique de diffraction de la lumière laser après mise en suspension de l'échantillon dans un dispersant (MASTERSIZER 2000).

Les particules passant devant un faisceau de laser, provoquant une déviation de la lumière. La quantité de la lumière déviée est proportionnelle à la taille des particules. Ce type d'appareil permet de mesurer des particules sphériques à partir de 0,05 μ m.

III.5.5.3L'analyse par infra rouge

La spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) est une méthode d'analyse chimique qui est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau à analyser. Elle permet, par la détection de vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des molécules présentes dans le matériau.

L'appareil de mesure est un spectrophotomètre à transformée de Fourier (BRUKER ALPHA). Il projette sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'ondes auxquelles le matériau absorbe, ainsi que les intensités de cette absorption.

III.5.5.4L'indice de gonflement

Principe

L'indice de gonflement est le volume en ml occupé par 1 gramme de poudre, y compris le mucilage qui y adhère, qui a été mis à gonfler dans un liquide aqueux pendant 4h.

Mode opératoire

Dans une éprouvette graduée à bouchon rodé, de 20 cm de hauteur sur 20 mm de diamètre, introduire 1g de poudre. Humecter la poudre avec 1ml d'alcool et ajouter 25 ml d'eau. Agiter énergiquement toutes les 10 min pendant 1 h. Laisser reposer pendant 3h.

Chapitre III Matériels et méthodes

Mesurer le volume occupé par la poudre. Effectuer 3 essais simultanément (Paris, 1976)

L'indice de gonflement est donné par la moyenne des 3 essais.

$$IG = (V1+V2+V3) /3$$

III.5.6 Activité antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne, nous avons adopté la méthode de diffusion sur un milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose selon la méthode décrite par Benjelali *et al*, (1986).

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

III.5.6.1 Préparation des milieux de culture

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieux de culture les suivants:

- Pour tester l'activité des polyphénols vis à vis des souches bactériennes nous avons utilisé le milieu gélose Muller Hinton (MH)
- Pour tester l'activité des polyphénols vis à vis souche fongique nous avons utilisé le milieu de gélose Sabouraud

La gélose stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre.

III.5.6.2 Préparation des disques

Nous avons préparé les disques avec papier wattman de 6mm de diamètre, ensuite sont mis dans un tube à essai, stérilisés dans l'autoclave et gardés jusqu'à l'utilisation.

III.5.6.3 Préparation des prés cultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

III.5.6.4 Préparation des suspensions bactériennes

A l'aide d'une pipette Pasteur nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (Na

Chapitre III Matériels et méthodes

Cl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laisser sur la paillasse pendant 30 minutes (OMS, 2005).

III.5.6.5 Préparation des extraits à tester

La détermination de l'activité microbienne est faite sur les extraits phénoliques issus des poudres obtenues après séchage ainsi sur les extraits de différentes parties de la plante fraîche

Protocole expérimental

Couler aseptiquement les milieux de culture gélosés pré liquéfiés (Mueller Hinton, Sabouraud) dans des boites de Pétri. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse. Ensemencer les boites de pétri préalablement coulé, par étalage à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries. A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque wattman stérile et l'imbiber avec 10 μ l d'extraits à tester en mettant seulement en contact le bout du disque puis déposer sur la gélose.

Les boites de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à T° ambiante pendant 2h puis mises à l'étuve à 37°C pendant 24 h pour las bactéries et à 27°C pendant 5 jours pour la moisissure.

III.5.6.6 Détermination de la CMI

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'extrait pour laquelle, aucune croissance bactérienne n'est observée (Skandamis et Nycha, 2001). Celle-ci, est déterminée par la méthode de diffusion sur disque décrite par Dzomba et Muchanyereyi (2012). Dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites précédemment, une série de 5 disques (D1 à D5) imprégnés (10 μ l) d'une concentration décroissante d'extraits est disposées sur la gélose (MH).

III.5.7 Activité anti-oxydante

III.5.7.1 Test de capacité antioxydante totale (TAC)

Principe :

Dans cet essai, le mécanisme réactionnel est basé sur la réduction du molybdène(VI) au molybdène (V) par les composés réducteurs présents dans les échantillons.

Le complexe obtenu est composé de phosphomolybdate (V) de couleur verte, et son absorbance est mesuré par spectrophotométrie à 695nm (Prieto *et al*, 1999).

Mode opératoire :

Le protocole expérimental suivi est celui de Prieto *et al*, (1999)

Chapitre III Matériels et méthodes

Dans des tubes à essai nous mélangeons, 0.1ml de l'extrait végétal (100 à 500 µg/ml) et 1 ml de réactif (0,6mM H₂SO₄ + 28 mM Na₂HPO₄ + 4 mM de molybdate d'ammonium). Le mélange est incubé à 95°C pendant 90 minutes au bain marie. Après refroidissement, la lecture de l'absorbance se fait à 695 nm.

L'acide ascorbique est utilisé comme référence dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentration

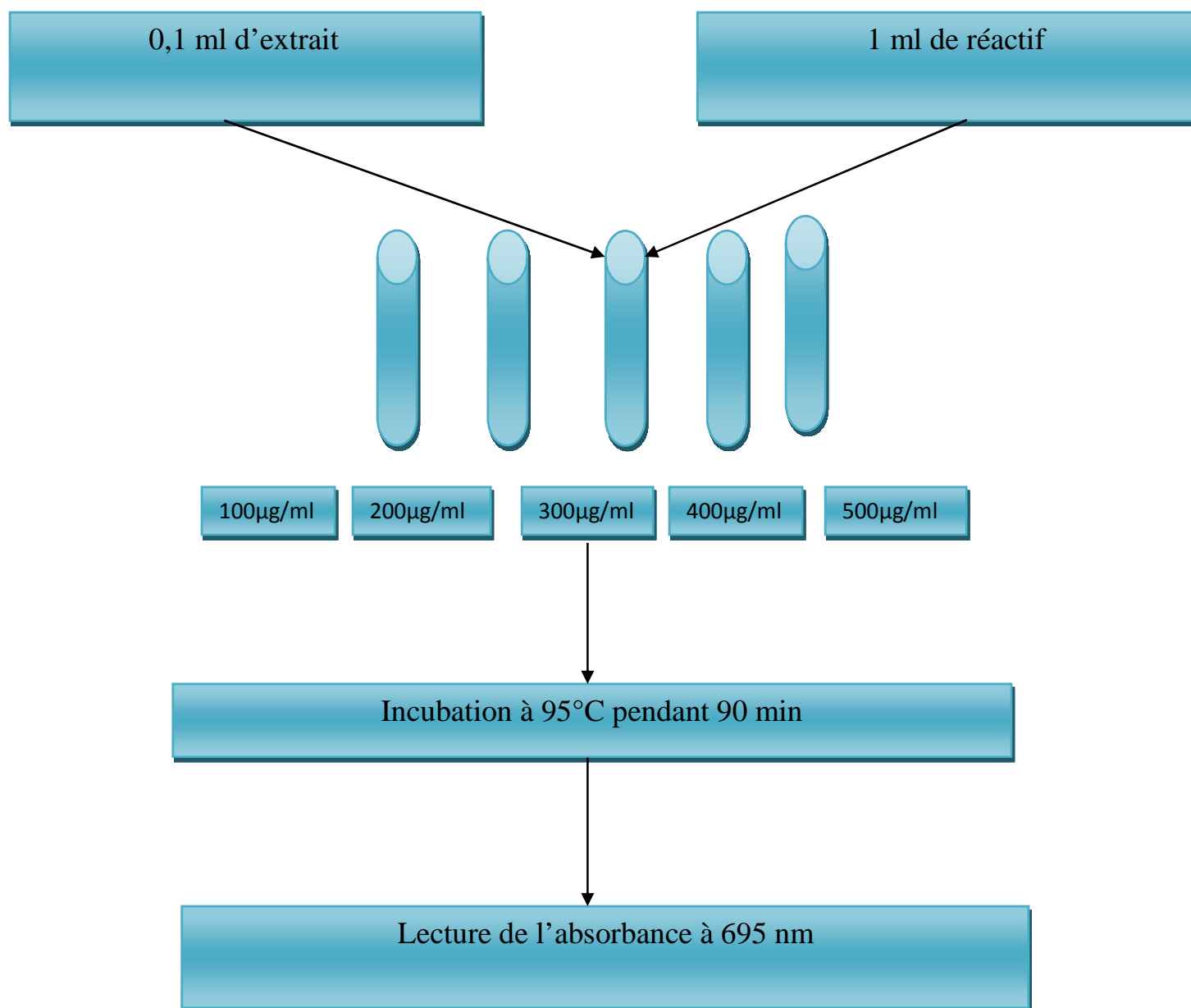


Figure 15 : Protocole de Test de capacité antioxydante totale (Prieto *et al*, 1999)

Chapitre III Matériels et méthodes

III.5.7.2 Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP)

Principe :

Le pouvoir réducteur d'un extrait végétal est associé à son pouvoir antioxydant, l'activité réductrice du fer a été déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), basée sur la réaction chimique de réduction du fer ferrique Fe (III) en fer Ferreux (II) (Hubert, 2006).

Cette réduction est observée par le passage de la couleur jaune du fer ferrique (Fe⁺³) au bleu vert du fer ferreux (Fe⁺²), dont l'intensité mesurée à 700 nm, est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés (Jayaprakash *et al*, 2001).

Mode opératoire :

Le mélange réactionnel est composé de 400 µl d'extrait aqueux (100 à 500 µg/ml), 400 µl de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 400µl de ferricyanure de potassium à 1%. Une fois incubé 20 minutes à 50°C, ce dernier est additionné de 400µl d'acide trichloracétique à 10% puis Centrifugés 10 minutes à 3000 rpm. 400µl du surnageant sont récupérés et complétés de 400µl d'eau distillée et de 80µl de chlorure ferrique à 0.1%. Puis la lecture de l'absorbance se fait à 700nm.

L'acide ascorbique est utilisé comme référence dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentrations.

Chapitre III Matériels et méthodes

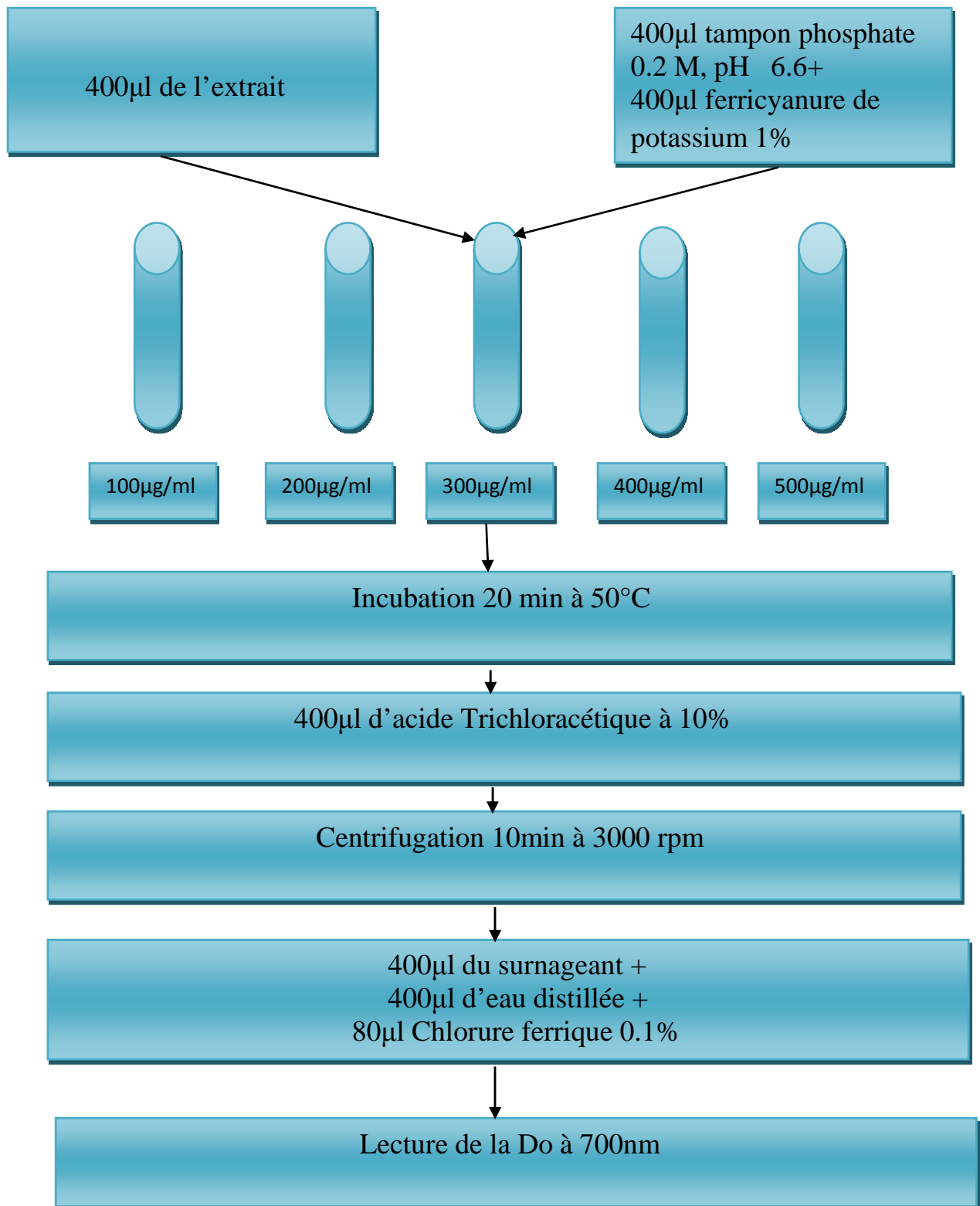


Figure 16 : protocole du test de réduction du Fer (FRAP) (Yildirim *et al*, 2001).

Chapitre III Matériels et méthodes

III.5.7.3 Test du DPPH

La capacité antioxydante des extraits de plante est déterminée selon la méthode de Kim et al, (2002). L'extrait de plante (0,1 ml) est ajouté à 2,9 ml de DPPH à 0,004% (P/V) dans du méthanol- eau (8 : 2). La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 30 mn d'incubation dans l'obscurité. Un blanc constitué de 50 % de méthanol et la solution de DPPH accompagne la lecture de chaque série. La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme composé étalon et le résultat est exprimé en mg de vitamine C équivalent par g de matière sèche. La solution radicalaire de DPPH est préparée fraîchement et les essais sont repris au moins trois fois (Kim et al, 2002).

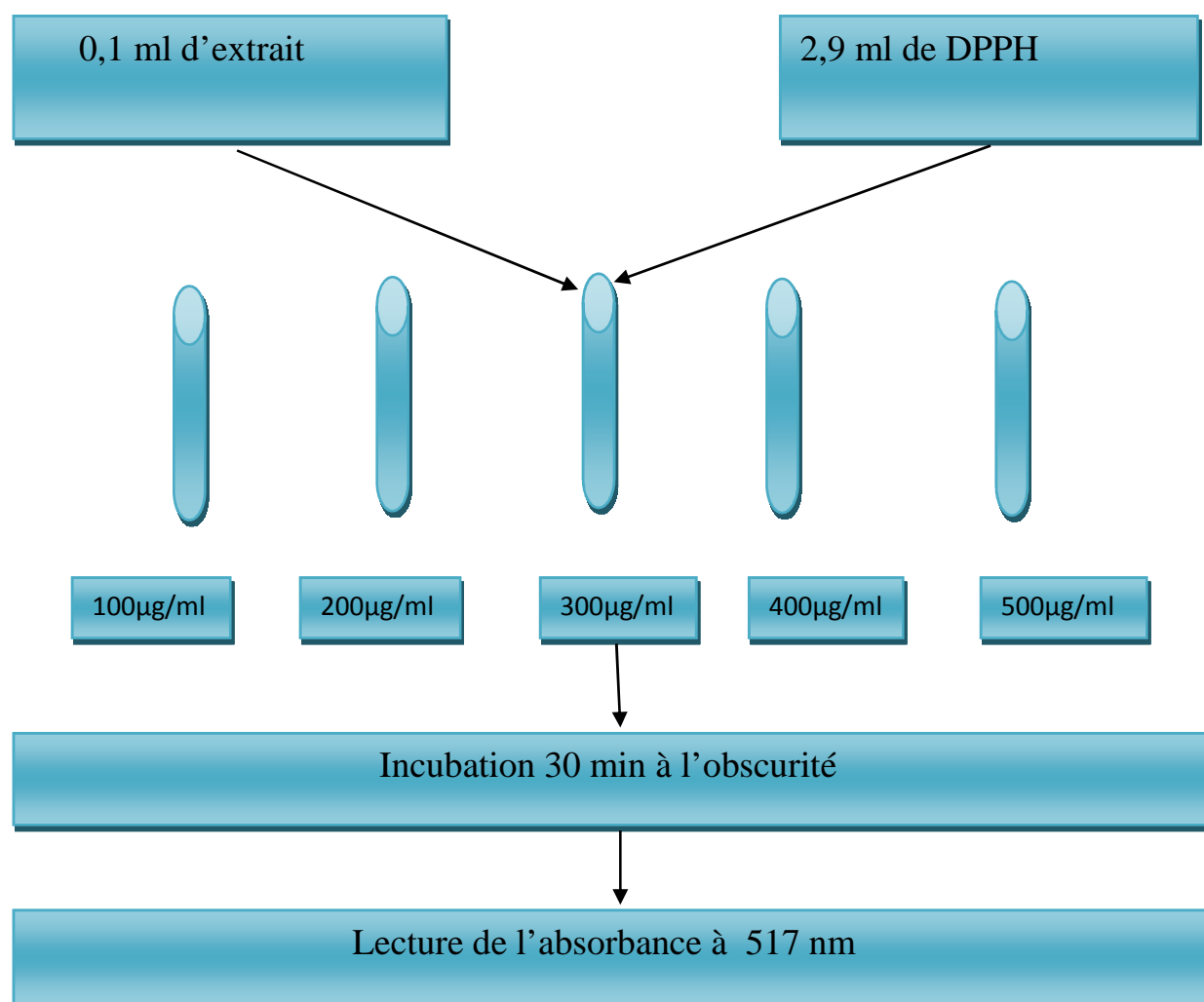


Figure 17 : Protocole de test du DPPH (Kim et al, 2002)

Chapitre IV Résultats et discussion

V.1 Résultats de la caractérisation physico-chimique

Les résultats de quelques paramètres physico-chimiques des différentes parties tiges feuilles, et la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante étudiée ainsi que sa composition chimique sont résumés dans les tableaux III, IV et V. Ils sont présentés sous forme de teneur moyenne de trois essais \pm l'écart type (ET).

Tableau II : Résultats des paramètres physico-chimiques de *Portulaca oleracea* L fraîche.

Paramètre	Partie	Teneur moyenne \pm ET
pH à 18°C	Tiges	4,82 \pm 0,05
	Feuilles	4,94 \pm 0,04
	Partie aérienne	5,86 \pm 0,07
Taux d'humidité (%)	Tiges	71,84 \pm 1,24
	Feuilles	63,77 \pm 1,52
	Partie aérienne	68,44 \pm 1,16
Matière sèche (%)	Tiges	28,16 \pm 1,24
	Feuilles	36,23 \pm 1,52
	Partie aérienne	31,66 \pm 1,16
Teneur en cendres (%)	Tiges	16,25 \pm 1,06
	Feuilles	26,40 \pm 1,31
	Partie aérienne	22,48 \pm 1,14
Matière organique (%)	Tiges	83,75 \pm 1,06
	Feuilles	73,60 \pm 1,31
	Partie aérienne	77,52 \pm 1,14
Acidité titrable (g d'acide citrique/ 100g MS)	Tiges	0,728 \pm 0,345
	Feuilles	0,747 \pm 0,357
	Partie aérienne	0,896 \pm 0,206

Chapitre IV Résultats et discussion

Tableau III: Résultats des paramètres physico-chimiques de la poudre de *Portulaca oleracea*

L.

Paramètre	Partie	Teneur (moyenne±ET)
pH à 18°C	Tiges	8,65±0,08
	Feuilles	8,45±0,03
	Partie aérienne	9,07±0,07
Taux d'humidité (%)	Tiges	11,75±1,02
	Feuilles	11,23±1,43
	Partie aérienne	13,98±1,37
Matière sèche (%)	Tiges	88,25±1,02
	Feuilles	88,77±1,43
	Partie aérienne	86,02±1,37
Teneur en cendres (%)	Tiges	20,12±1,06
	Feuilles	23,44±1,02
	Partie aérienne	21,67±1,07
Matière organique (%)	Tiges	79,88±1,06
	Feuilles	76,56±1,02
	Partie aérienne	78,33±1,07
Acidité titrable (g d'acide citrique/ 100g MS)	Tiges	0,307±0,112
	Feuilles	0,345±0,117
	Partie aérienne	0,298±0,107

Chapitre IV Résultats et discussion

Tableau IV: Composition minérale de la partie aérienne (feuilles et tiges) de *Portulaca oleracea* L.

Minéraux	Teneur (ppm)	
	Sèche	Fraîche
Cr	157,072	88,724
Fe	over	4803,416
Mn	217,426	202,692
Pb	130,35	52,11
Zn	over	249,62
Mg	59404,55	63254,71
Ca	92598,98	62217,19
K	34022,1	10094,56
Na	23459,77	9719,665
Cu	0,21	0,224

D'après ces résultats on remarque que, les feuilles et les tiges de *Portulaca oleracea* L sont très riches en eau et présentent un pH acide à l'état frais. Cependant, ce pH augmente en séchant la plante. L'augmentation du pH peut s'expliquer par la teneur non négligeable en cendres qui sont responsables de l'alcalinité de la plante séchée.

Du point de vue composition chimique, *Portulaca oleracea* L possèdent une quantité non négligeable en cendres et en matière sèche. Ceci confirme leur richesse en substances biologiques et en minéraux.

En effet, elles renferment des teneurs importantes en Na, Mg, Fe et K avec des teneurs

Chapitre IV Résultats et discussion

qui varient entre 4803,416 ppm et 92598,98 ppm. De ce fait, *Portulaca oleracea* L peut être utilisée pour remédier les carences en minéraux surtout la population qui souffre notamment en manque de fer (anémie) et ce dans les pays sous-développés.

Les éléments toxiques tels que le Pb se trouvent en quantités acceptables qui ne dépassent pas les normes décrites par la FAO. Cette dernière recommande de ne pas dépasser la dose admissible qui est de 50 à 150 µg/jour/personne (FAO, 1972).

La richesse en minéraux peut s'expliquer par les conditions de culture (climat humide et même le type de sol). Ainsi, il est intéressant de sensibiliser les gens pour développer cette plante spontanée qui pousse presque dans toutes les régions humides.

Etant donné que, *Portulaca oleracea* est comestible, il serait utile de les utiliser en cuisine ou sous forme de sirops pour remédier contre le (utilisé en médecine traditionnelle), et peuvent servir aussi d'excipient en industrie pharmaceutique, elle est utilisée comme anti hypotensive et capable de réduire l'hémorragie au niveau des tissus (Saad et Said, 2011).

V.2.Résultats d'analyse phytochimique

Pour identifier la composition en métabolites secondaires présents dans *Portulaca oleracea* L, un screening chimique est fait selon la méthode standard de screening phytochimique.

Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau VI :

Chapitre IV Résultats et discussion

Tableau V : Résultats d'analyse phytochimique de *Portulaca oleracea* L

Métabolites secondaires	Quantités
Les anthocyanes	-
Les leuco-anthocyanes	+
Les tanins	+++
Les tanins galliques	+++
Les flavonoïdes	+++
Saponines tri terpéniques	-
Saponines stéroïdiennes	++
Les alcaloïdes	+++
Les coumarines	+++

(+++): Abondance ; (++) : moyen ; (+) : faible ; (-) : absence

Les résultats de ce tableau révèlent que, les feuilles et les tiges de *Portulaca oleracea* L, sont riches en métabolites secondaires (tanins, tanins galliques, flavonoïdes, quinones combinés, alcaloïdes et coumarines). De plus, elles renferment aussi les saponines stéroïdiennes, les glucosides avec une quantité moyenne.

En effet, ces métabolites ont été déjà recherchés par d'autres chercheurs traitant la même espèce (Dweck, 2001 ; Toufexis et al, 2006). Ces derniers, affirment effectivement nos résultats et révèlent la présence de divers métabolites dont les alcaloïdes tels que: l'oleracin et le noropinéphrine qui sont impliqués dans le traitement de l'anxiété.

Les feuilles et les tiges de *Portulaca oleracea* L constituent un réservoir de substances bioactives (polyphénols, flavonoïdes..) connues par ses propriétés pharmacologiques et de

Chapitre IV Résultats et discussion

substances biochimiques à plusieurs intérêts d'utilisation qui n'ont fait en aucun cas d'application.

En effet, les flavonoïdes possèdent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et jouent un rôle positif dans le traitement des maladies cardiovasculaires (Wang et Mazza, 2002).

Généralement, les flavonoïdes sont présents sous deux formes : les flavonoïdes libres (flavones et dihydroflavonols) et leuco-anthocyanes (flavonols et flavanonols). Notons tout de même, l'absence totale des flavonoïdes sous la forme d'anthocyanes dans les feuilles tiges de *Portulaca oleracea* L. Par contre, les flavonoïdes et les leucoanthocyanes sont présents (Leung et Foster, 1996).

La plante est utilisée en médecine traditionnelle pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive (Bruneton, 2009) et ce grâce à sa richesse en coumarines.

En ce qui concerne, les saponosides sont présents sous forme stéroïdiennes. Plusieurs plantes connues et utilisées pour leurs effets anti-inflammatoires et anti-oedémateux doivent ses propriétés à des saponosides (Ikegami et al, 2006).

D'après les travaux de (keys, 1976), les tiges de *Portulaca oleracea* L. renferment des tanins galliques. Ces derniers, possèdent des propriétés antiseptiques, vermifuges, cholagogues et anti-diarrhéiques (Berge et al, 2005). Par ailleurs, les quinones libres et les saponines tri terpéniques sont absentes.

Les tests phyto-chimiques de *Portulaca oleracea* L. montrent sa richesse en métabolites secondaires. Alors, il serait utile de faire extraire ces substances et les appliquer dans les différents domaines d'utilisation.

V.3 Résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits

Les polyphénols sont des produits secondaires, ils constituent le groupe le plus important et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux (Lugasi et al, 2003).

L'analyse quantitative des polyphénols de nos extraits a été réalisée selon la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (annexe02, 03).

Les teneurs en phénols totaux sont exprimées en mg équivalent acide gallique/g de matière sèche de la plante.

Chapitre IV Résultats et discussion

Les résultats obtenus en PPT sont présentés dans les figures 18 et 19.

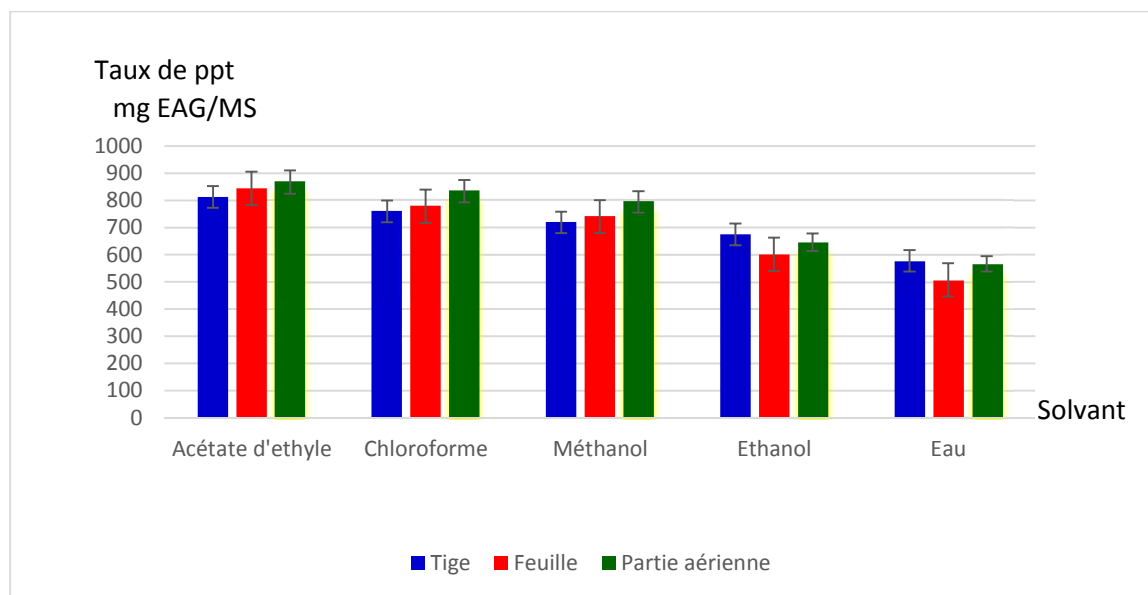


Figure 18 : Résultats relatifs aux taux de PPT dans les différents extraits de poudre de *Portulaca oleracea* L

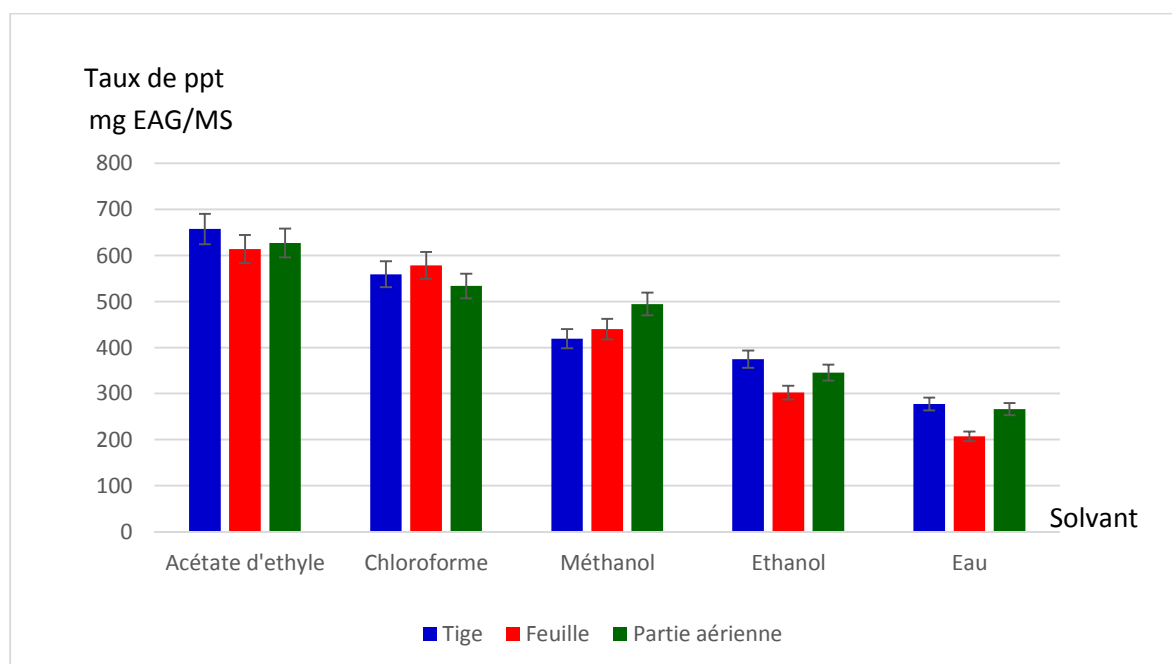


Figure 19 : Résultats relatifs aux taux PPT dans les différents extraits de *portulaca oleracea* L fraîche.

A partir des figures (18) et (19) nous pouvons déduire que, les différents extraits analysés sont très riches en polyphénols.

Ces résultats, montrent aussi que, les solvants moins polaires (chloroforme, acétate d'éthyle) influencent positivement les taux d'extraction de PPT en comparaison avec les

Chapitre IV Résultats et discussion

solvants plus polaires (l'éthanol, le méthanol et l'eau) avec des taux de PPT plus au moins importants.

En effet, une meilleure extraction en PPT (867,26mg EAG/g) a été obtenue en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction.

Nous pouvons conclure que, le couple solvant/temps de macération influence le taux d'extraction des polyphénols.

Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par Uddin et ses collaborateurs (2012), qui ont obtenus des concentrations de 1,428 µg EAG/mg pour l'extrait aqueux, 2,768 µg EAG/mg pour l'extrait hydroéthanolique et 3,603 µg EAG/mg pour l'extrait méthanolique. Nos résultats coïncident avec ceux de Gunasckarn *et al*, (2014) qui ont étudié l'effet de la température de séchage sur la teneur en polyphénols de différentes plantes médicinales.

En effet, plusieurs facteurs interviennent dans le processus d'évaluation des PPT des plantes. Ces teneurs varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre.

Parmi ces facteurs on cite :

- Le patrimoine génétique, la période de récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al*, 2004).
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des polyphénols totaux (Lee *et al*, 2003).
- Les facteurs climatiques (température élevée, exposition solaire...) et environnementaux (zone géographique, sécheresse, sol, salinité), les agressions et les maladies...etc. (Falleh *et al*, 2008 ; Ebrahimi *et al*, 2008).

Chapitre IV Résultats et discussion

V.4 Résultats de dosage des flavonoïdes

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux sont exprimés en μg équivalent quercétine par mg de matière sèche ($\mu\text{g EC/mg MS}$) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la quercétine (Annexe 04).

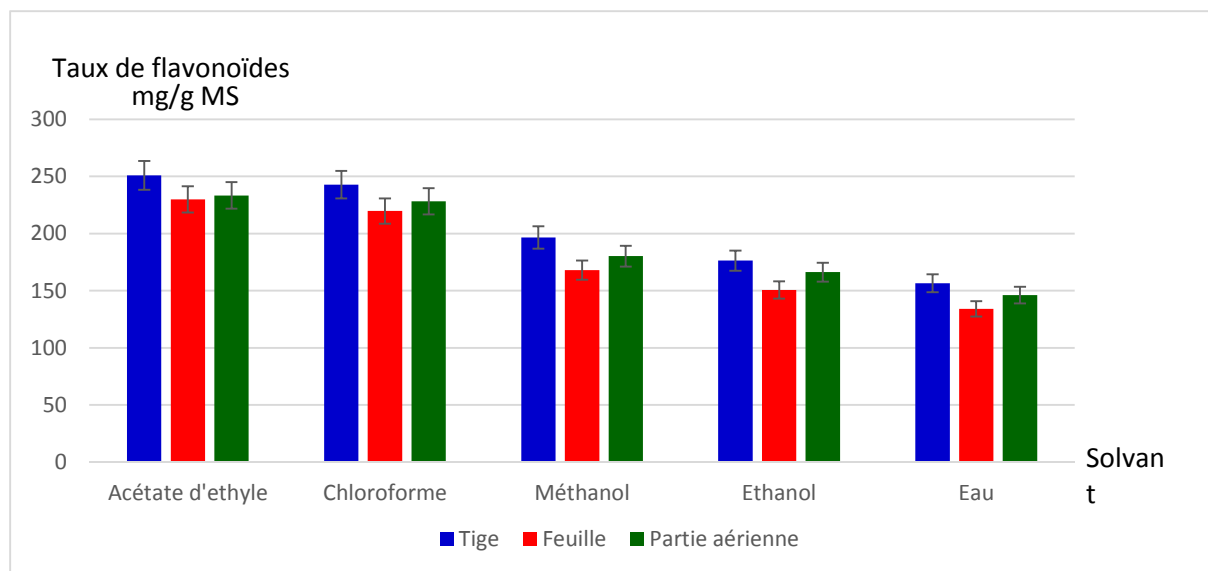


Figure 20: Résultats relatifs aux taux de flavonoïdes dans les différents extraits de poudre de *Portulaca oleracea L*

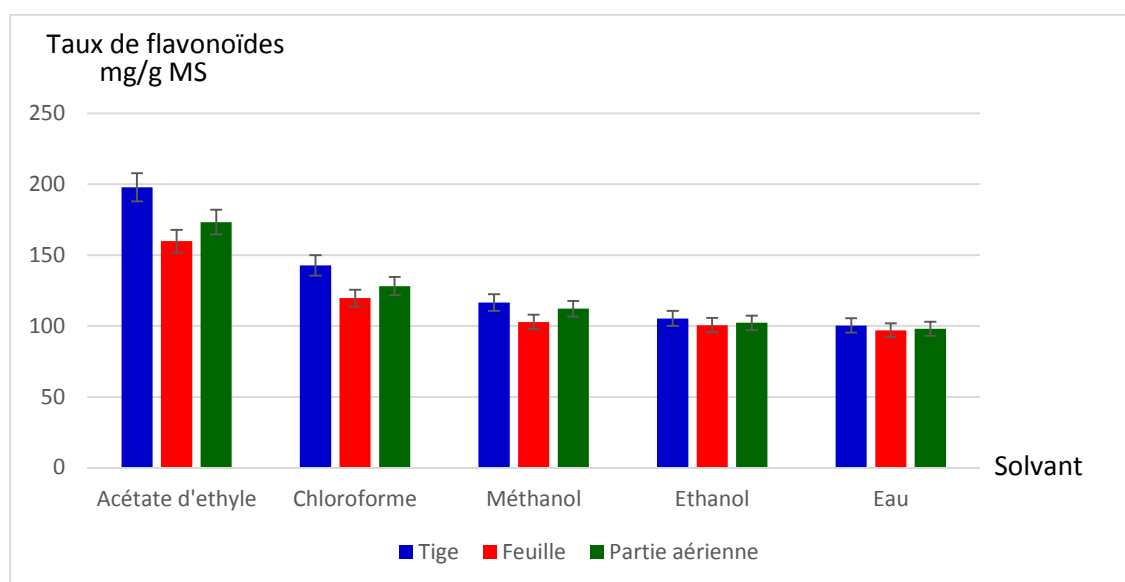


Figure 21: Résultats relatifs aux taux de flavonoïdes dans les différents extraits de *portulaca oleracea L* fraîche.

Chapitre IV Résultats et discussion

D'après les figures 20 et 21, nous pouvons déduire que, les extraits analysés ont montré des teneurs importantes en flavonoïdes dont l'acétate d'éthyle présente la plus importante teneur.

Ces résultats trouvés sont supérieurs à ceux signalés par Guenzat, (2012). Cet auteur a estimé la teneur en flavonoïdes dans l'extrait aqueux lyophilisé de *Portulaca oleracea L* de l'ordre de 0,14µg/ml. Cette valeur reste faible comparée à nos résultats trouvés.

Les différences constatées dans les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes peuvent être expliquées d'une part par la nature des solvants utilisés, et d'autre part, le climat et la région influençant la quantité des métabolites secondaires.

Chapitre IV Résultats et discussion

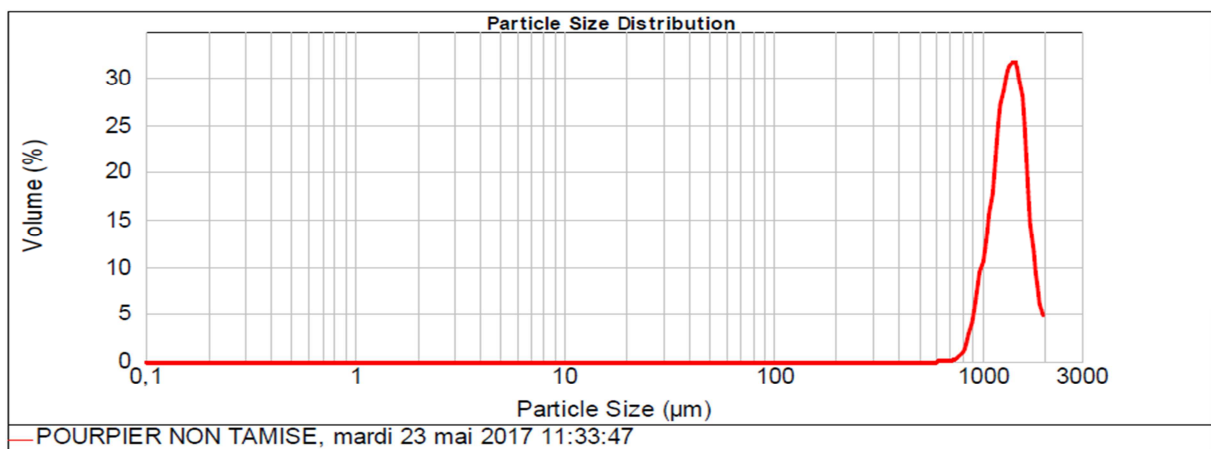
V.5 Résultats des analyses rhéologiques des poudres

V.5.1 La granulométrie

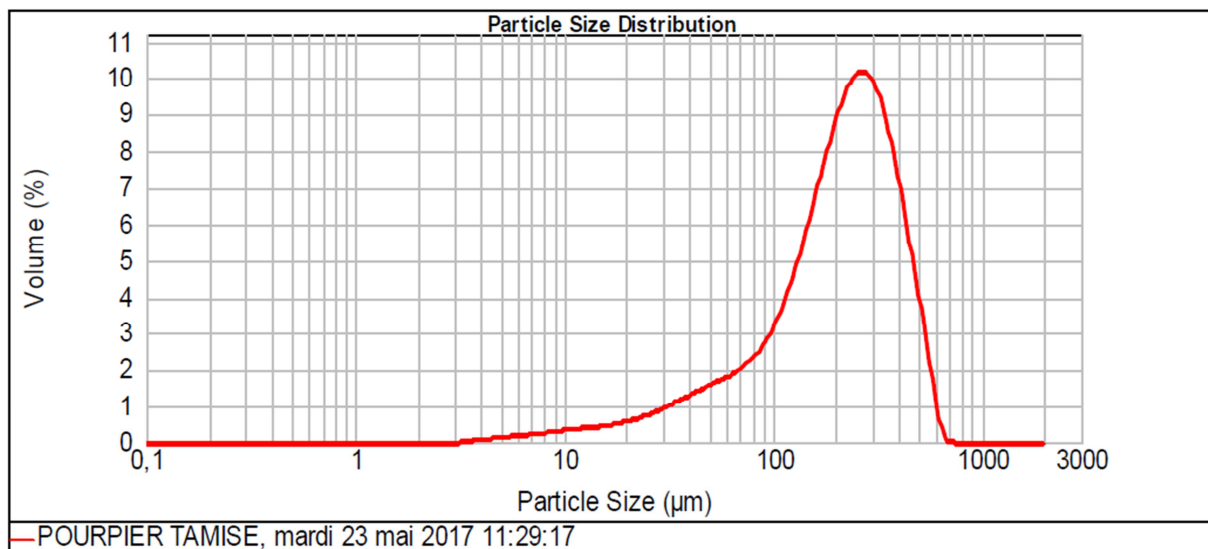
La granulométrie est une analyse qui détermine les dimensions et la forme des particules. Elle a pour objectif de décrire l'ensemble des caractéristiques qui définissent l'état granulaire d'une poudre.

Cette analyse, revêt une grande importance dans le domaine pharmaceutique, d'autant qu'elle conditionne en partie l'activité et le comportement des médicaments.

Les figures ci-dessous illustrent la distribution par tamisage de la taille des différentes poudres par diffraction au lazer.



a)



b)

Figure 22 : Distribution granulométrique de poudres de la partie aérienne (feuilles et tiges) de *Portulaca oleracea* L, (b) : tamisé ; (a) : non tamisé.

Chapitre IV Résultats et discussion

L'analyse de la granulométrie révèle que, les deux poudres tamisée et non tamisé ne possèdent pas les mêmes pourcentages de grain majoritaire. Celle non tamisée à une taille de grain majoritaire de dimension de 1258,925 μm . Tandis que, la poudre issue de tamisage a une taille majoritaire des particules de petites dimensions de 239,883 μm .

Généralement, autant que la taille des particules est petite autant que le transfert de matière est meilleur. Cette théorie est valable dans le cas de nos poudres analysées.

Nous constatons, des taux d'extraction élevés en PPT pour les poudres issues de tamisage aient une taille plus petite en comparaison à celles de la poudre non tamisée.

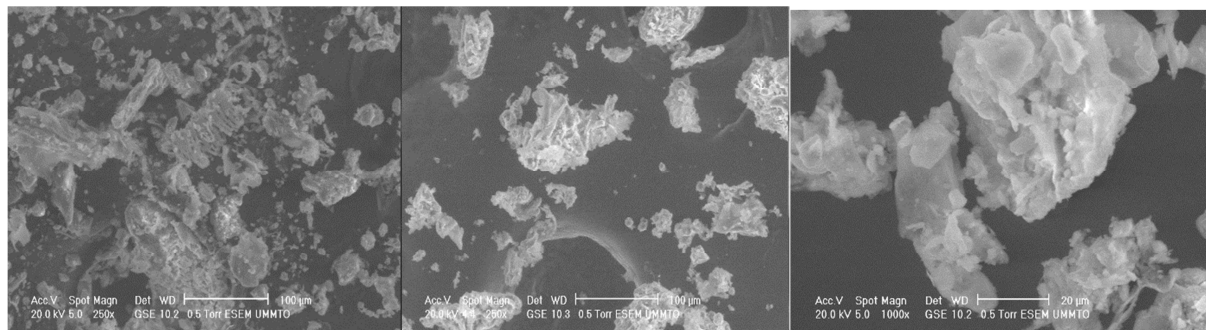
En effet, la libération des substances bioactives est liée à plusieurs facteurs :

- La nature biochimique des particules;
- La structure des particules (la perméabilité);
- La taille et les niveaux de disponibilité de la substance à extraire.

Il est important de signaler que, cette analyse a comme inconvénient de considérer les particules systématiquement sphériques. Raison pour la quelle l'observation microscopique est indispensable.

V.5.2 Structures microscopiques des poudres

Les résultats de l'analyse de MEB sont présentés dans la figure ci-dessous



(a)

(b)

(c)

Figure 23 : Structures microscopiques des poudres des tiges, feuilles et partie aérienne de *portulaca oleracea* L .

a) tiges ;b) feuilles et c) partie aérienne

Nous remarquons d'après la figure (23) que, les trois poudres étudiées semblent être formées à partir des particules de forme relativement irrégulières.

Cependant, la texture de la poudre issue de séchage de feuilles est composée de multi pores particulières en comparaison avec les deux autres poudres qui se caractérisent par une surface

Chapitre IV Résultats et discussion

rugueuse et ressemble à la structure des polymères.

La porosité peut s'expliquer par l'effet de la température de séchage sur certains composés facilement dégradables induisant la création des pores.

Généralement, la forme et la taille des particules varient d'un produit à l'autre. Elles affectent certaines propriétés rhéologiques (la masse volumique, la cohésion) et pharmacodynamiques (l'écoulement et l'aptitude au pastillage).

Selon ces résultats, on préconise d'utiliser la poudre issue de séchage feuilles, car elle constitue un indice de réactivité (libération des substances bioactives).

V.5.3 Résultats d'indice de gonflement des poudres

L'indice de gonflement des trois poudres a été calculé dans le but de montrer le comportement rhéologique des constituants des poudres obtenues dans l'eau (phénomène de gonflement)

Cet indice confirme la présence de mucilages (gommes), constituées de polysaccharides, qui se gonflent au contact avec de l'eau en prenant une consistance visqueuse, parfois collante, semblable à la gélatine.

Les résultats trouvés sont portés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Indices de gonflement des poudres

Types de poudres	Poudre issue de tiges	Poudre issue des feuilles	Poudre issue de la partie aérienne (feuilles et tiges)
Indice de gonflement	4,03±0,17	4,67±0,15	5,03±0,06

Les résultats mentionnés dans le tableau (VI) montrent que, les valeurs de l'indice de gonflement sont presque identiques pour les trois poudres analysées. Cela signifie que, le procédé de séchage n'influe pas sur le phénomène de gonflement de la poudre.

Selon Paris, (1976), les plantes qui possèdent un indice de gonflement supérieur à 10 contiennent des mucilages et on les appelle « plantes à mucilages ». Alors, nous pouvons déduire que, *Portulaca oleracea L* ne possède pas de mucilages. Ce résultat, paraît très important de point de vue conservation et stockage des poudres à des fins d'utilisation, puisque nous montre également que le facteur de rétention d'eau est moins éventuel.

V.5.4 Résultat de test d'infrarouge

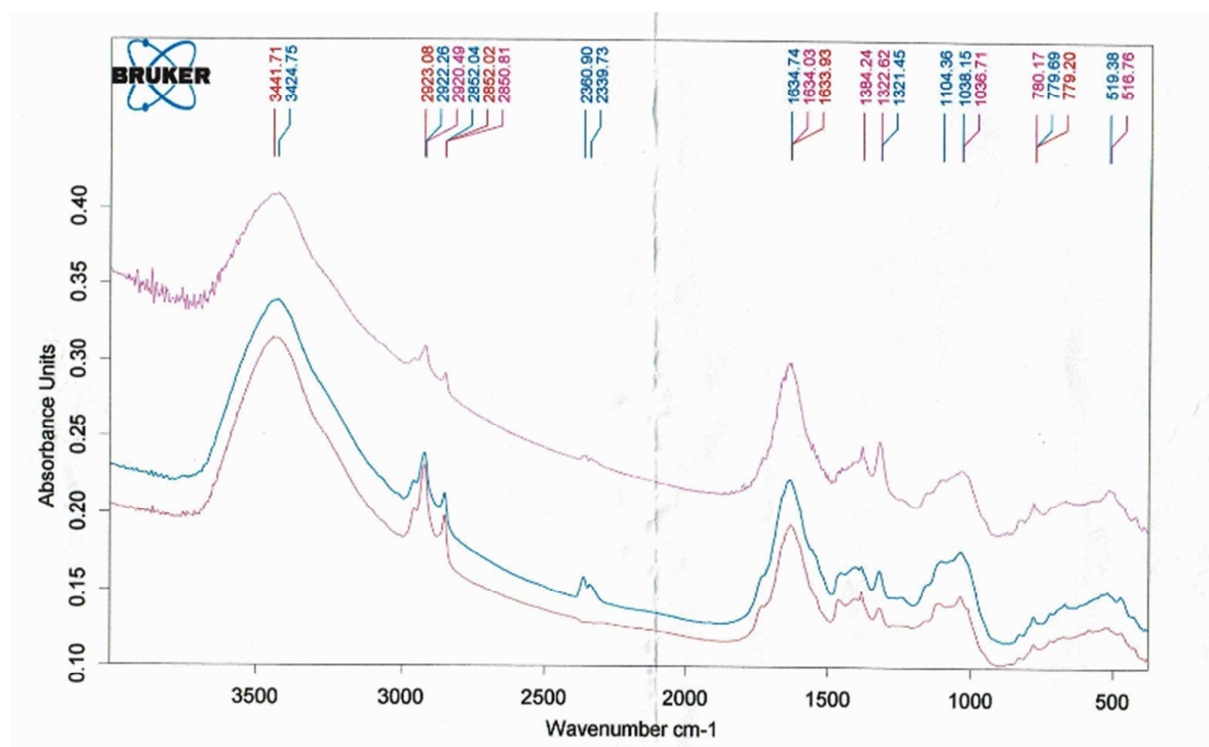


Figure 24 : Le spectre des polyphénols de *portulaca oleracea* L..

Les zones entre 500-4000 cm⁻¹ ont montrées

le O-H (alcool) une vibration d'élongation à 3441.71 cm⁻¹, 3424.75 cm⁻¹, le C-H vibration d'élongation à 2923.08 cm⁻¹, 2922.26 cm⁻¹, 2920.49 cm⁻¹, 2852.04 cm⁻¹, 2852.02 cm⁻¹, 2850.81 cm⁻¹, 2360.90 cm⁻¹, 2339.73 cm⁻¹, le C=O vibration d'élongation entre 1634.74 cm⁻¹, 1634.03 cm⁻¹, 1633.93 cm⁻¹, le CH₂ vibration de déformation à 1384.24 cm⁻¹, le O-H (acide) vibration de déformation à 1322.62 cm⁻¹, 1321.45 cm⁻¹, le spectre montre également les vibrations d'élongation à 1104.36 cm⁻¹, 1038.15 cm⁻¹, 1036.71 cm⁻¹ typique pour le groupe C-O, et une vibration de déformation des groupes CH=CH à 780.17, 779.69 cm⁻¹, 779.20 cm⁻¹, 519.38 cm⁻¹, 516.76 cm⁻¹.

Ces résultats sont en bon accord avec un spectre IR des polyphénols. Leur composition chimique et activité dépendent non seulement de l'espèce productrice, mais aussi des conditions de culture et des paramètres physiques (température, aération, pH), ainsi que la nature du sol et sa composition qui influencent la quantité et la qualité des polyphénols produit.

Chapitre IV Résultats et discussion

V.6 Résultat de l'activité anti microbienne

Les résultats des tests l'activité microbienne (annexe05) sont regroupés dans le tableau(VIII). Les valeurs indiquées sont les moyennes de 4 mesures (annexe 5).

Tableau VII : Diamètres des zones (mm) d'inhibition (moyenne \pm ET) exprimés pour l'extrait des trois poudres et de la plante fraîche

Microorganisme	Partie étudiée	Diamètres d'inhibition (mm) \pm ET			
		Poudre		Frais	
		E.aqueux	E. éthanoïque	E.aqueux x	E. éthanoïque
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	Tiges	15	22	15	22
		++	+++	++	+++
	Feuilles	15	22	16	22
		++	+++	++	+++
	Partie aérienne	17	22	15	22
		++	+++	++	+++
<i>E-coli</i> ATCC 25322	Tiges	22	22	22	22
		+++	+++	+++	+++
	Feuilles	22	22	22	22
		+++	+++	+++	+++
	Partie aérienne	22	22	22	22
		+++	+++	+++	+++
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	Tiges	0	22	0	22
		-	+++	-	+++
	Feuilles	0	22	0	22
		-	+++	-	+++
	Partie aérienne	0	22	0	22
		-	+++	-	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Tiges	0	22	0	22
		-	+++	-	+++
	Feuilles	0	19	0	19
		-	++	-	++
	Partie aérienne	0	17	0	15
		-	++	-	++
<i>Entérocooccus faecalis</i> ATCC 14506	Tiges	0	22	0	22
		-	+++	-	+++
	Feuilles	0	22	0	22
		-	+++	-	+++
	Partie aérienne	0	22	0	22
		-	+++	-	+++

Chapitre IV Résultats et discussion

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

On considère qu'un extrait exerce une action bactériostatique si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 12 mm (Duraffourd et Lapraz, 2002).

EFS : effet fongistatique

(-) ; non sensible (+) : peu sensible ;(++) : moins sensible ; (+++) : plus sensible

Tableau VIII : Diamètres des zones (mm) d'inhibition (moyenne \pm ET) exprimés pour l'extrait des trois poudres et de la plante fraîche

Microorganisme	Partie étudiée	Diamètres d'inhibition (mm) \pm ET			
		Poudre		Frais	
		E.aqueux	E.éthanoïque	E.aqueux	E.aqueux
<i>Candida Albicans</i>	Tiges	EFS	EFS	EFS	EFS
	Feuilles	EFS	EFS	EFS	EFS
	Partie aérienne aérienne	EFS	EFS	EFS	EFS
<i>A.niger</i>	Tiges	0	0	0	0
		-	-	-	-
	Feuilles	0	0	0	0
		-	-	-	-
	Partie aérienne	0	0	0	0
		-	-	-	-

Il ressort du tableau (VIII) et (VII) que, les extraits éthanoïques exercent un large spectre d'activité car ils agissent sur les bactéries Gram positif et négatif, mais le degré de sensibilité diffère d'une souche à une autre. Cependant, ils n'exercent aucune activité antifongique. En effet, un effet fongistatique a été observé vis-à-vis *Candida albicans*.

Globalement, les extraits éthanoïques des différentes poudres sont plus efficaces que les extraits aqueux vis-à-vis de toutes les souches testées avec des diamètres allant jusqu'à (38 mm) tandis que, pour les extraits aqueux ils n'agissent que sur *E.coli* et *S.aureus*. Ces dernières exercent un effet fongistatique sur *Candida albicans*

Cela peut s'expliquer par le fait que, l'extrait éthanoïque est plus riche en polyphénols

Chapitre IV Résultats et discussion

qui sont connus par leurs activités antimicrobienne, antioxydante d'où les diamètres élevés des zones d'inhibition. Quant à la moisissure *A.niger*, elle s'avère résistante à tous les extraits testés sans zones d'inhibition.

Nos résultats sont similaires à ceux de Shuai *et al*, (2014) qu'ont montré aucun effet inhibiteur exercé par les mêmes types d'extraits sur la croissance d'*A.niger*, un effet fongistatique sur *C.Albicans* et un effet inhibiteur sur *E.coli*, *S.aureus*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

V.7 Résultat de l'activité antioxydante

V.7.1 Capacité antioxydante totale

Les figures ci-dessous illustrent les résultats obtenus de test du pouvoir antioxydant au molybdate d'ammonium.

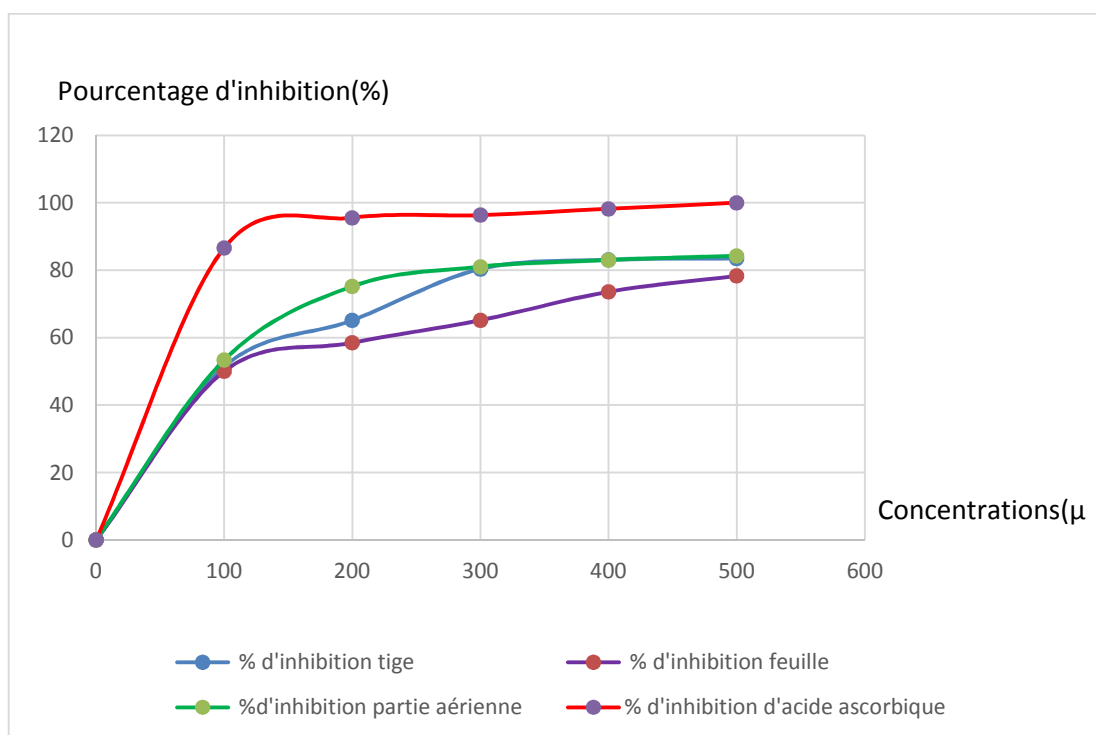


Figure 25: Capacité antioxydante totale des extraits éthanoïques de la poudre (tige/feuille/tige +feuille) de *Portulaca oleracea L* et de l'acide ascorbique.

Chapitre IV Résultats et discussion

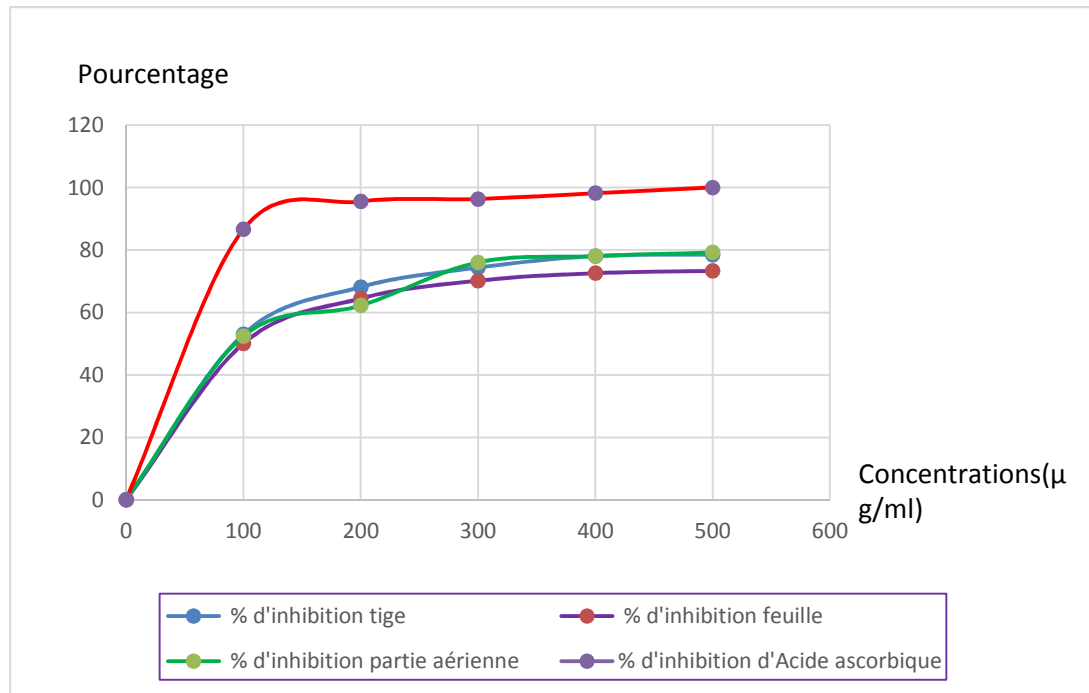


Figure 26 : Capacité antioxydante totale des extraits éthanoïques de *Portulaca oleracea L* fraîche (tige/feuille/ tige +feuille) et de l'acide ascorbique.

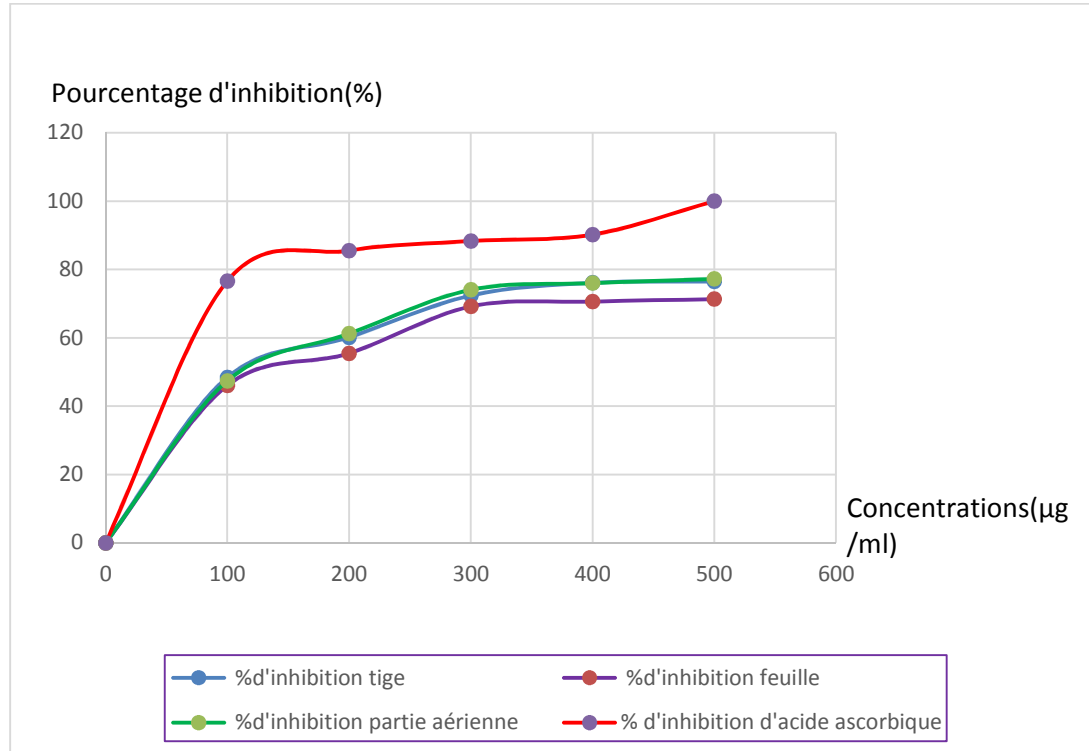


Figure 27 : Capacité antioxydante totale des extraits aqueux de la poudre (tige/feuille/tige +feuille) de *Portulaca oleracea L* et de l'acide ascorbique.

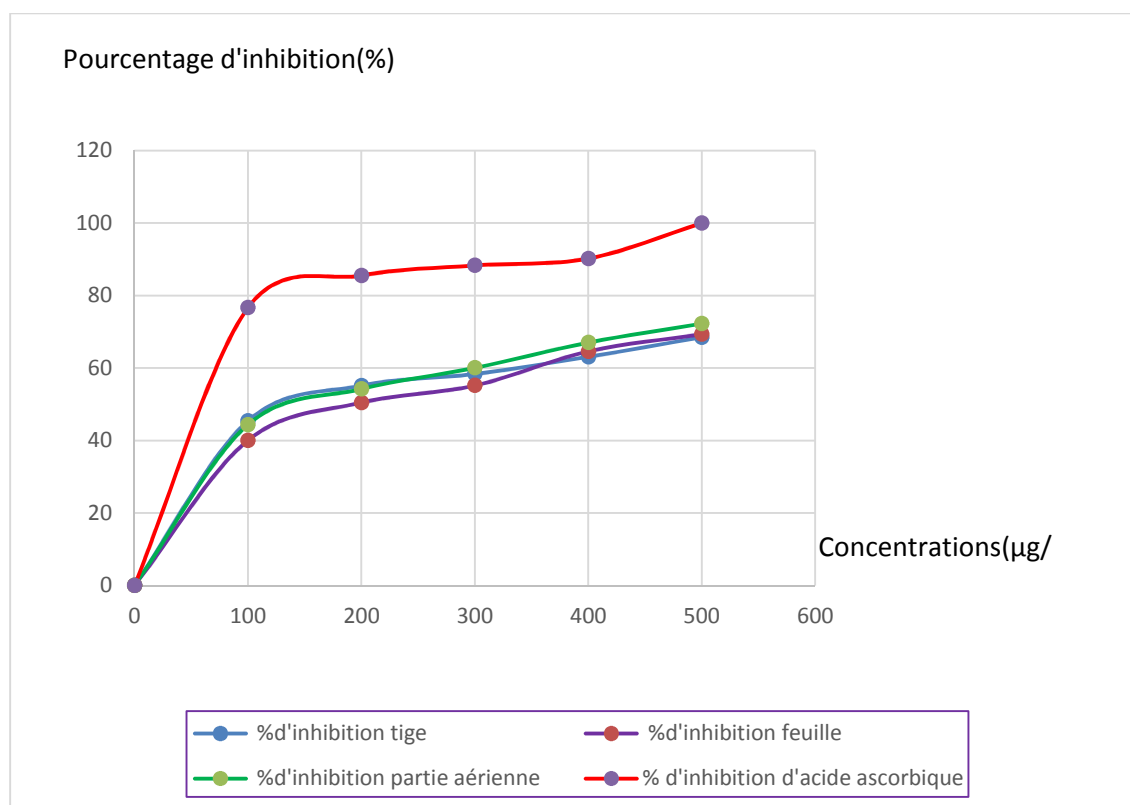


Figure28 : Capacité antioxydante totale des extraits aqueux de *Portulaca oleracea L. fraiche* (tige/feuille/tige +feuille) et de l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus, révèlent une activité antioxydante appréciable de nos extraits et proportionnelle à la concentration utilisée.

Nous constatons que, l'extrait éthanolique est celui qui se caractérise par la plus forte activité antioxydante. Les résultats pour les extraits aqueux quant à eux sont affectés respectivement d'une baisse d'activité.

V.7.2 Résultats de la réduction du fer

Les résultats obtenus illustrés dans les figures () indiquent que, le pouvoir réducteur présente une augmentation proportionnelle à la concentration d'extrait appliquée. En comparant les résultats obtenus pour les extraits, à ceux de l'acide ascorbique, nous remarquons une différence.

Chapitre IV Résultats et discussion

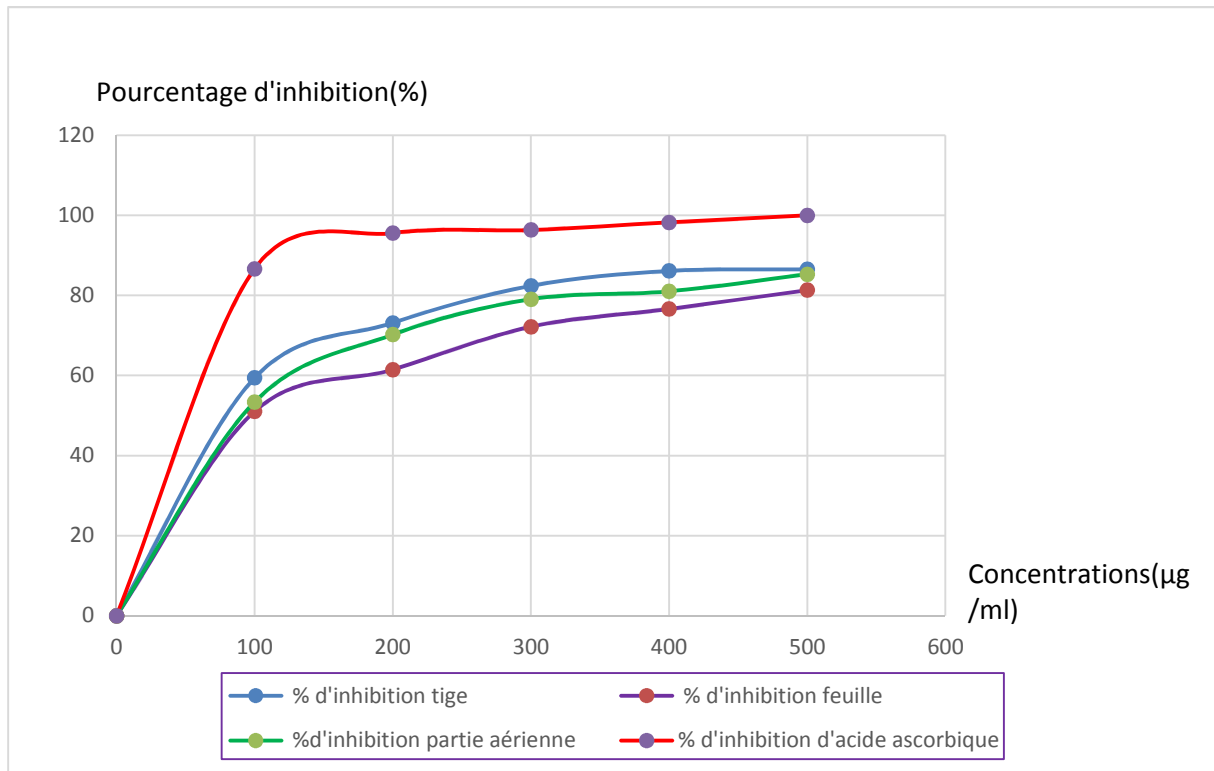


Figure 29: réduction du fer des extraits éthanolique de la poudre (tige/feuille/tige+feuille) de *Portulaca oleracea L.* et de l'acide ascorbique.

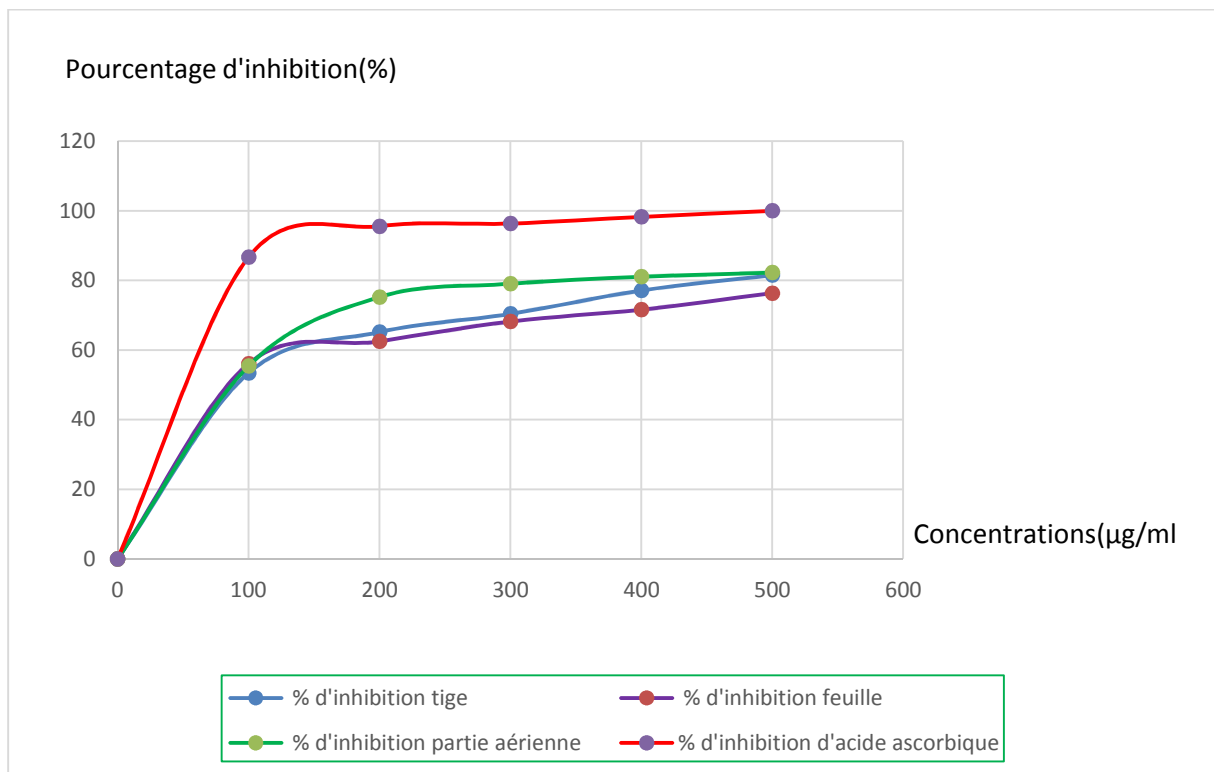


Figure 30: réduction du fer des extraits éthanolique de *Portulaca oleracea L* fraîche (tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique.

Chapitre IV Résultats et discussion

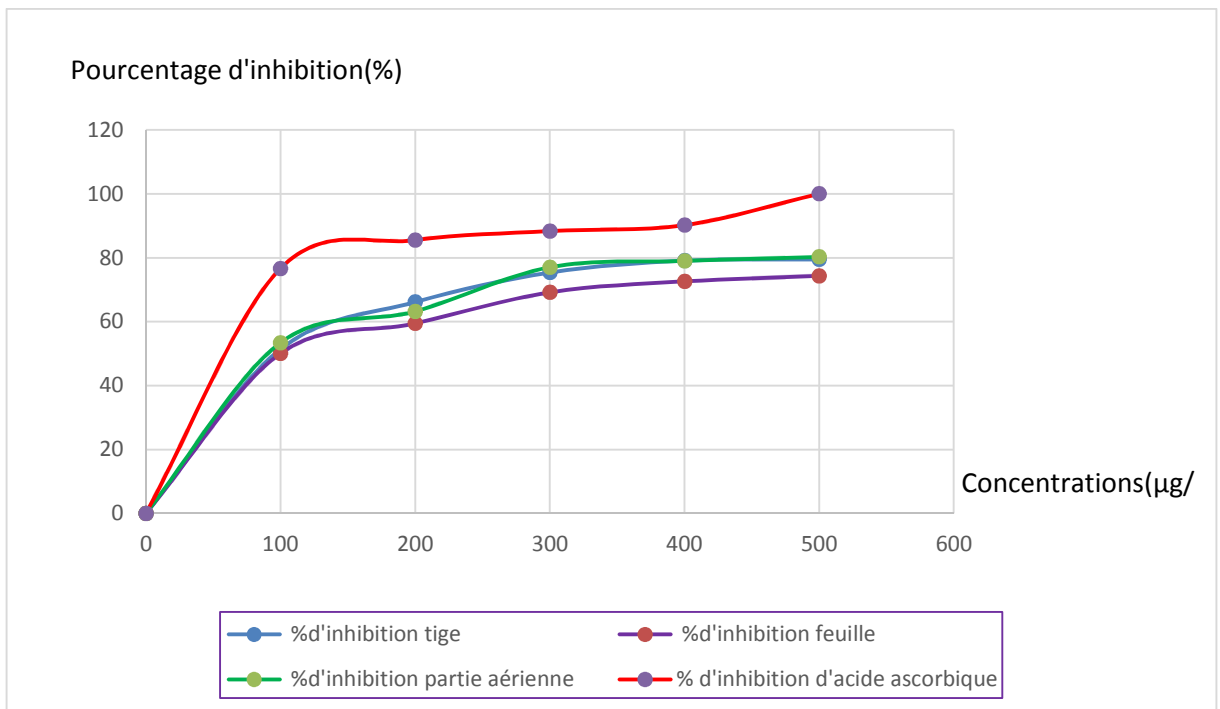


Figure31 : réduction du fer des extraits aqueux de poudre (tige/feuille/tige+feuille) de *portulaca oleracea* et de l'acide ascorbique .

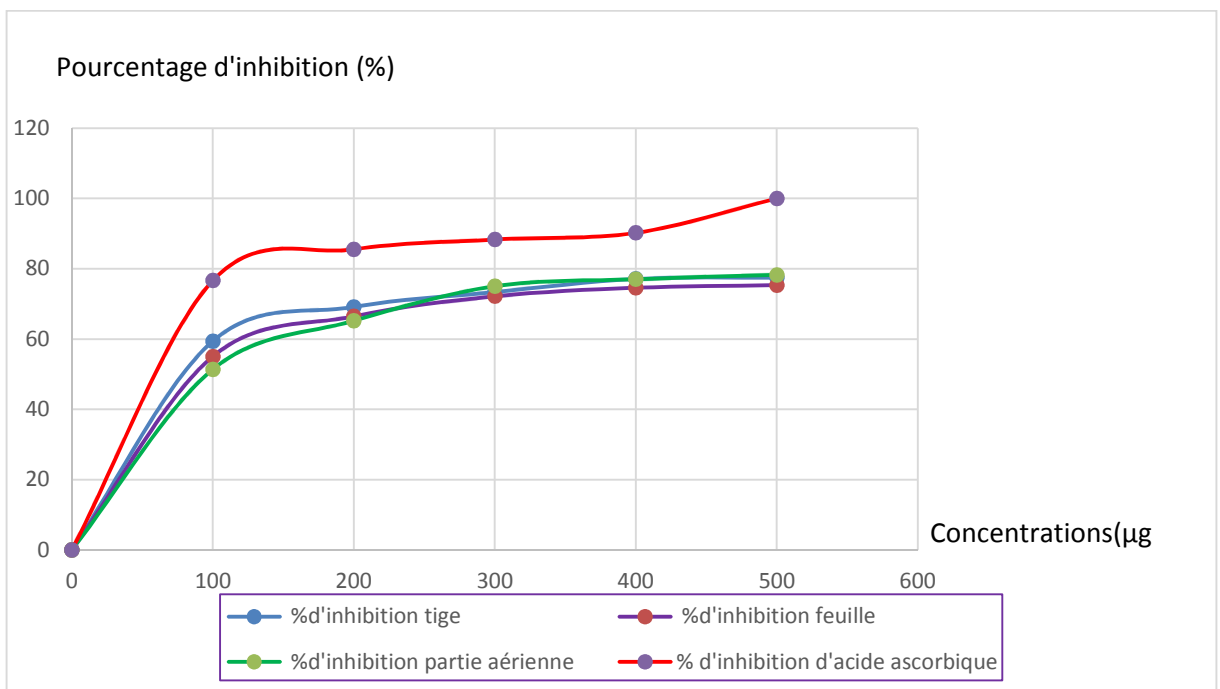


Figure 32: réduction du fer par les extraits aqueux de *Portulaca oleracea L* fraiche (tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique .

Chapitre IV Résultats et discussion

V.7.3 Résultats du test de DPPH

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits.

Les figures suivantes rapportent les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées de chaque extrait.

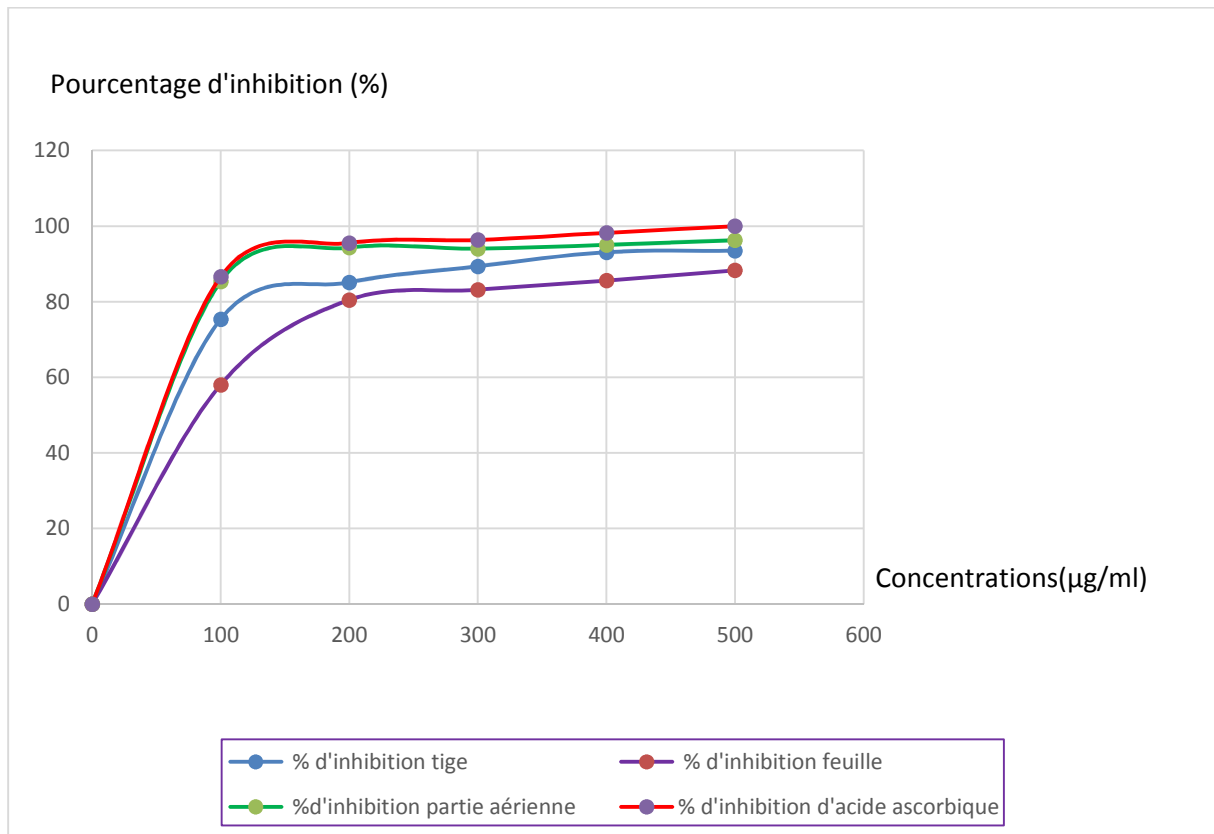


Figure33 : piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits éthanoïque de la poudre (tige/feuille/tige+feuille) de *Portulaca oleracea L* et de l'acide ascorbique.

Chapitre IV Résultats et discussion

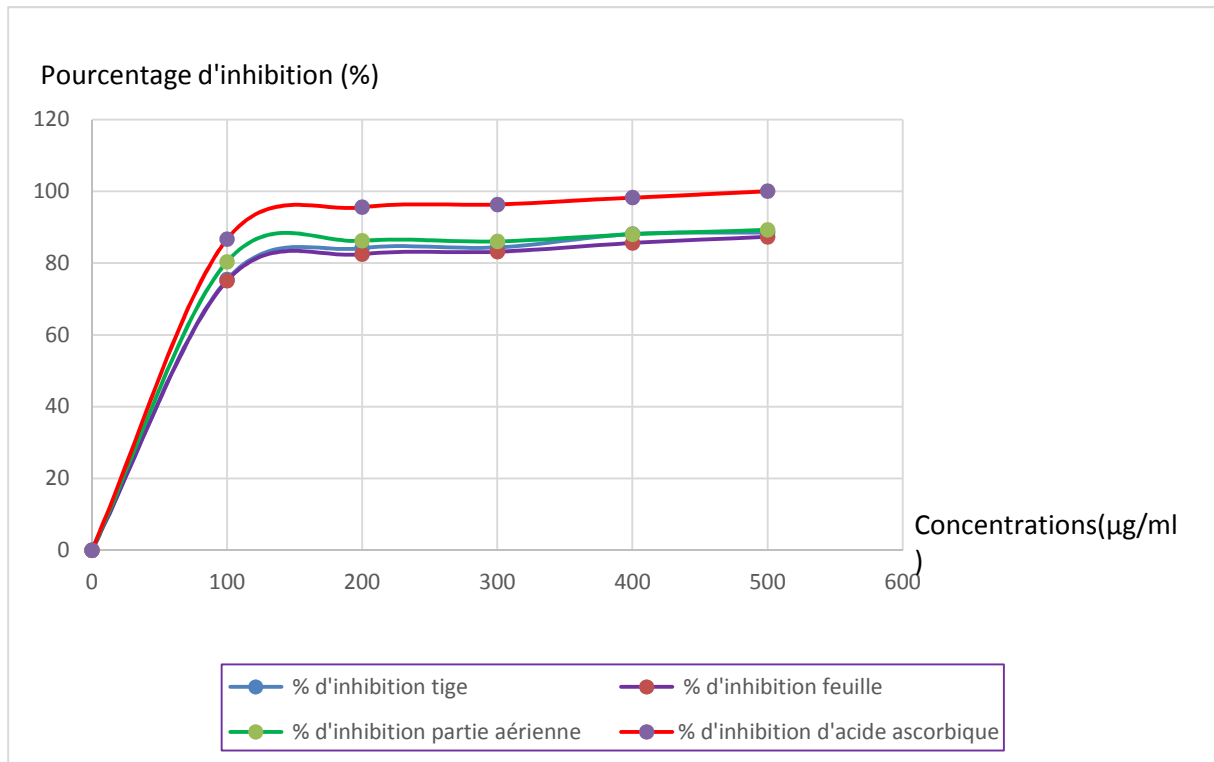


Figure34 : piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits éthanolique de *Portulaca oleracea L* fraîche (tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique.

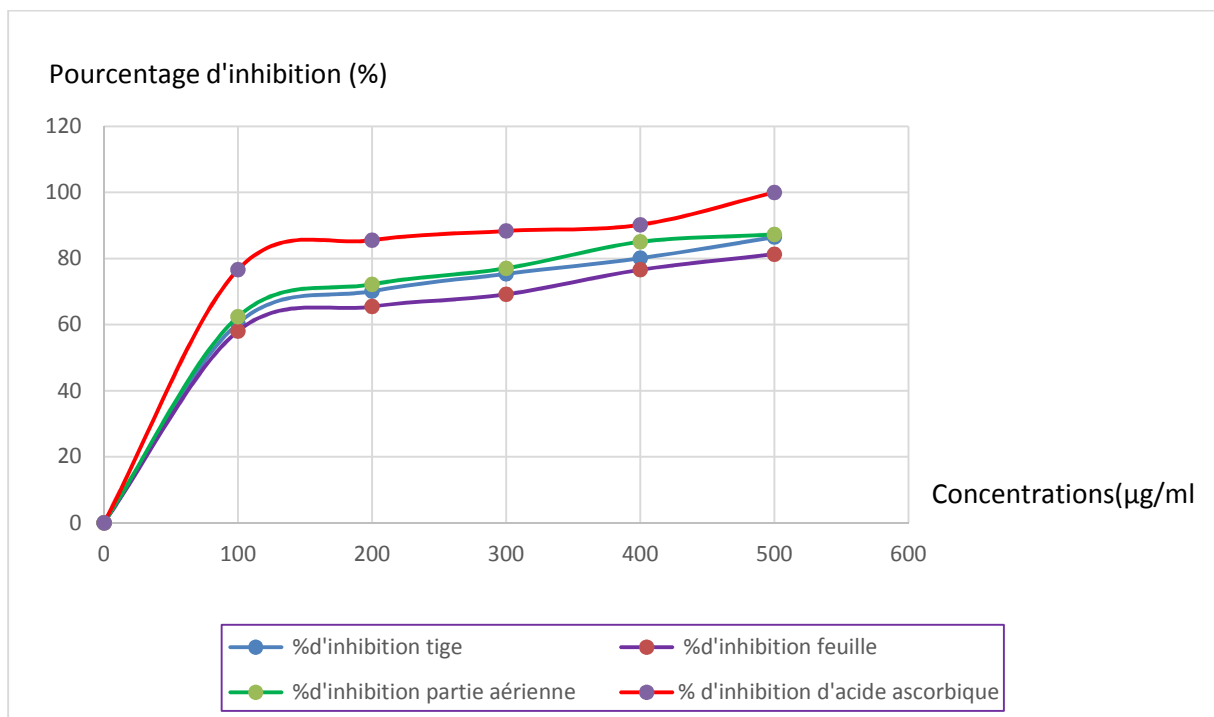


Figure35 : piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits aqueux de poudre (tige/feuille/tige+feuille) de *Portulaca oleracea L* et de l'acide ascorbique.

Chapitre IV Résultats et discussion

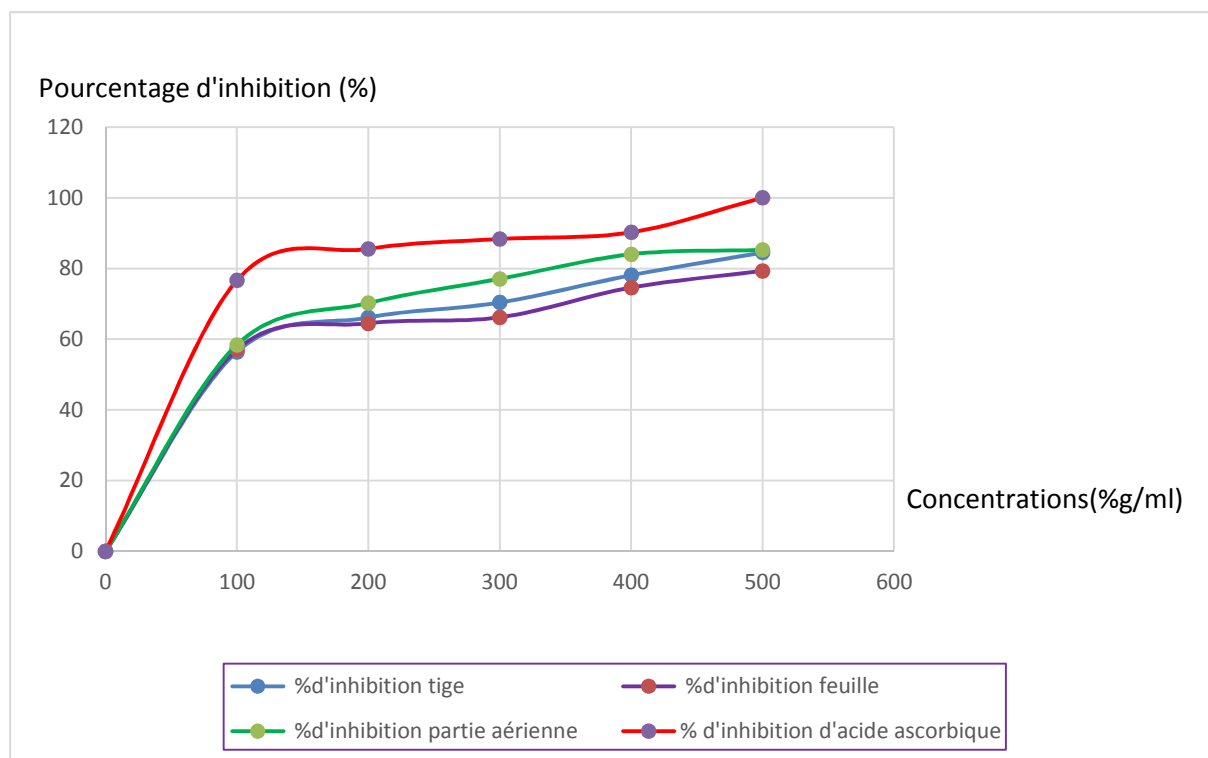


Figure 36: piégeage de DPPH en fonction des concentrations des extraits aqueux de *Portulaca oleracea* L fraîche (tige/feuille/tige+feuille) et de l'acide ascorbique.

Les extraits étudiés de *Portulaca oleracea* L ont présentés à très faibles concentrations des pourcentages d'inhibitions élevés. A une concentration de 300µg/ml les pourcentages d'inhibitions sont de l'ordre de 89,37(DPPH) % , 82,37 %(FRAP) et 81,07%(TAC) pour les extraits éthanioïques et 75,37%(DPPH),77,04%(FRAP)et 76,04 %(TAC) obtenus par,l'extrait aqueux.

La tige exhibent la plus grande valeur d'activité antioxydante ,dans les trois tests suivi par la partie aérienne, Les feuilles de *portulaca oleracea* L affichent une activité antioxydante relativement faible malgré la présence de polyphénols révélés par le test quantitatif . Ces composés ne sont peut être pas extraits ou se trouveraient en faible quantité.

D'après les valeurs obtenues, on à remarqué que les extraits éthanioïques présentent un IC50 inférieur à celui des extraits aqueux , donc une activité meilleure.

En comparaison avec l'antioxydant utilisé comme contrôle positif, l'acide ascorbique qui présente un IC50 égale à 0.91µg/ml, tous les extraits testés s'avèrent moins actifs.

Plusieurs travaux ont montrés des résultats différents pour le piégeage du radical libre DPPH par *Portulaca oleracea*, Sanja et ces collaborateurs ont trouvés une valeur nettement inferieur

Chapitre IV Résultats et discussion

à nos résultats avec un IC50 égal à 12,67 µg/ml dans un extrait méthanolique (Sanja *et al*, 2009).

Une autre étude faite par Uddin *et al*, (2012) montre des IC50 varient entre 1300 à 1710 µg/ml pour le FRAP à différent stades de maturation dans l'extrait méthanoïque, ces résultats sont largement supérieurs à ceux trouvés dans notre travail.

Les différences constatées avec les résultats obtenus auparavant par les auteurs déjà cités peuvent être expliquées par la nature différente des solvants et le type d'extraction utilisés.

Les résultats de l'activité anti oxydante sur les extraits de *Portulaca oleracea* sont en accord avec ceux obtenus par l'examen quantitatif dont on a enregistré que l'extrait éthanioque présente la quantité la plus élevée en polyphénols totaux et en flavonoïdes, ceci nous permet de penser que les polyphénols seraient responsables de l'activité antioxydante .

Conclusion

Portulaca oleracea L. est une plante médicinales très utilisée en médecine traditionnelle. Malgré son utilisation dans la région méditerranéenne et le Moyen-Orient, elle demeure encore relativement peu utilisée en médecine conventionnelle.

Après avoir récolté le matériel végétal (feuilles, tiges). Nous avons effectué un screening phytochimique afin d'identifier la nature des principaux métabolites secondaires présents. Ainsi, nous avons identifié la présence d'alcaloïdes, de composés poly-phénoliques (flavonoïdes, tanins), de saponosides, de composés réducteurs (coumarines). Ces composés possèdent pour la plupart des activités biologiques intéressantes ce qui justifierait l'utilisation abondante et variée de cette espèce dans la médecine traditionnelle.

Le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux effectué sur les extraits obtenus par macération à partir de la plante séchée et de la plante fraîche montrent des teneurs de l'ordre de 867,26 mg EAG/g MS et 657,43 mg EAG/g MS de polyphénols totaux et des concentrations de l'ordre de 250,92 mg /g MS et 197,92 mg/g MS pour les flavonoïdes respectivement d'extrait éthanolique et aqueux

Nous avons testé l'activité antimicrobienne de ces extraits sur des microbes via un test in-vitro et l'analyse des résultats a démontré que la plupart des bactéries sont sensibles avec des degrés de sensibilité qui varient ainsi que les extraits éthanoliques sont plus efficaces que les extraits aqueux. Les deux extraits exercent un effet fongistatique sur *C.albicans* mais n'exercent aucun effet sur *A. niger*.

L'activité antioxydante des différents extraits de *Portulaca oleracea* a été évaluée spectrophotométriquement par test de DPPH, FRAP et TAC, nous avons enregistré que l'extrait éthanolique possède l'activité antioxydante la plus élevée (IC₅₀= 28,89 µg/ml), suivi par l'extrait aqueux (IC₅₀= 48,75µg/ml)

D'après les résultats on peut dire que cette espèce locale *Portulaca oleracea* L. peut constituer une source naturelle de composés naturels à usage biologique et thérapeutique intéressant.

Notre travail reste une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant:

- Déterminer la DL₅₀, de faire des tests de toxicité aiguë et chronique.
- Un fractionnement des extraits et identification des molécules responsables du

pouvoir antioxydant en utilisant des techniques d'identification plus performantes.

- Evaluation des autres activités biologiques éventuelles.

-De fractionner, de purifier et caractériser les différentes fractions de nos extraits à usage thérapeutique.

-De faire des tests in vivo afin de vérifier les propriétés biologiques des différents composants de la plante étudiée.

Chapitre IV
Résultats et Discussions

*Références
Bibliographiques*

AKOBUNDU O, 1989. Guide des adventices d'Afrique de l'Ouest. Agyakwa, ITAP 522p.

Abdel-Moneim AE, Dkhil MA, et Al-Quraishy S; 2011. "The redox status in rats treated with flax seed oil and lead-induced hepatotoxicity". *Biological Trace Element Research*; 143(1): 457–467

ANDERSEN YM and Markham KR. Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications. Ed. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, FL, **2006**, p. 553-616.

ANDERSEN, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res*, 28 : 65-180

ANTHONY, J.P., Fyfe, L. and Smith, H., (2005). Plant active components - a resource for antiparasitic agents? *TRENDS in Parasitology* **Vol. 21**, No.10 October

ARONSON JA, 1989. Haloph: A database of salt tolerance plants of the world. Office of Arid Land Studies, University of Arizona, Tucson, 77p.

ATZEI AD, 2003. Le piante nella tradizione popolare della Sardegna. Sassari, C. Delfino, 595p.

BAHAZ M. et RACHDI H.(2010). Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhettinolepis lonandoides* Coss (Tichert), thèse d'ingénieur, université de Ouargla, Algérie, 54p.

BAILEY LH, Bailey EZ, 1976. Hortus third: a concise dictionary of plants cultivated in the United States and Canada. MacMillan, New York, 1290 p

BENAVENTE-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A., Del Rio, J.A. (1997). Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 4505–4515.

BENBROOK M., 2005. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed. The organic center : 6-8.

BELOUED A, 2009. Plantes médicinales d'Algérie. Masson, Elsevier Masson, Alger. 174p.

BERGE G, Diallo D, Hveem B, 2005. Les plantes sauvages du Sahel malien: les stratégies d'adaptation à la sécheresse des Sahéliens. Paris, Karthala, 330 p.

BERMEJO JE, Leon J, 1994. Cultures marginalisées 1492 : une autre perspective. Food & Agriculture Org, 354p.

BILLING J. and Sherman P. W. Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol.* **1998**; 73: 3-49.

BOSI G, Guarrera MP, Rinaldi R, Bandini M, **2008**. Ethnobotany of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in Italy and morphobiometric analyses of seeds from archaeological sites in the Emilia Romagna Region (Northern Italy). University of Modena and Reggio Emilia, Plant and culture: seed of cultural heritage of Europe, 136p.

BOSSOKPI , I.P.L. (**2002**). Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). *Thèse de pharmacie, Bamako*, p 133.

BOURGEOIS Th, **1993**. Les mauvaises herbes dans la rotation cotonnière au Nord-Cameroun (Afrique) - Amplitude d'habitat et degré d'infestation - Cycle de développement. Thèse USTL Montpellier II, Montpellier, France, 241p.

BRUNETON , J. (**1993**). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

BRUNETON J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. médicales internationales Editions Technique & Documentation, Cachan, [S.l.], **1999**, p. 647-673.

BRUNETON J; **2009**. Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4ème Ed *Éditions médicales internationales Tec et Doc*. Paris : 1288.

BONNER W. E. and Beecher G. R. Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *J. Chromatog. A* **1995**; 705: 247-256.

CHUNG, K., Wong, T.Y., Wei, C., Huang, Y., Lin, Y. (**1998**). Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 38: 421-464.

COUPLAN F, **2009**. Le régal végétal: plantes sauvages comestibles. Paris: Sang de la terre, 527p.

COWAN , M.M. (**1999**). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12(4): 564- 582.

DIALLO , D., (**2000**) ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). Thèse de doctorat, 221 P, Lausanne (Suisse)

DIANYU L, Tao S et Lan X; **2011**. Two Antioxidant Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. *Helvetica Chimica Acta*; 94 (3): 497-501.

DURAFFOURD C. et LAPRAZ J.C. (2002). Traité de Phytothérapie clinique.

Endobiogénie et Médecine. Edition Masson, Paris.827p.

DWECK AC, 2001. Purslane (*Portulaca oleracea*), the global panacea. *Personal Care Magazine*, 2 (4): 7-15.

DZOMBA P. et MUCHANYEREYI N.(2012). Potential antimicrobial plant extract based therapeutics from temnocalyxobovatus roots. *European Journal of Medicinal Plants*, 2(3):209-

EBRAHIMI N.S., HADIAN J., MIRJALILI M H., SONBOLI A., YOUSEFZADI

M. (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus*

caramanicus at different phonologicals stages. *Food chemistry*, 110 : 927-931. Ed

C.N.R.S. Paris, 662 Pages.

EFFENDI L., YAJUN Y., M ATTHEOS A. and KOFFAS G., 2008 - Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylatedflavonols in *Escherichia coli*.*Metab.Eng*, 8: 172-181.

FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI

N., BOULAABA M., ABDELLY C. (2008). Phenolic composition of *Cynara*

cardunculus L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372-379.

FAO and WHO (1972). Evaluation of certain food additives and the contaminants

Mercury Lead and Cadmium. Sixteenth report of the Joint FAO/WHO Expert

Commitee on Food Additives

FLEEGER J.L et FLIPSE I.J.(1964). Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid

metabolism by bovine spermatozoa. *J. DairySci*. 47 (5): 535-538.

FOSTER CO, 1980. Purslane *Portulaca oleracea*. Herb-Q.Wilmington, Vt., Uphill Press.

Autumn 2: 7-22.

JONES BS, Luchsinger EA, 1987. Plant Systematics. New York: McGraw-Hill Book

Company, 512p

HAFLINGER E, Brun-Holl J, 1981. Tavole delle malerbe. Basil, CIBA-GEIGY, 623p

Hagerman A. E. and Butler L. G. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J.*

Biol. Chem. **1981**; 256: 4494-4497.

Harborne J. B. Recent advances in chemical ecology. *Nat Prod Rep* 1997; 14: 83-98.

HARBORNE J. B. et WILLIAMS C. A. (2000).Advances In Flavonoid Research Since

1992. *Phytochemistry*. 55 : 481-504.

HAUDRICOURT AG, Hedin L, 1993. L'uomo e le piante cultivate. Palermo, Flaccovio, 228p.

HENNEBELLE , T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

HENNEBELLE, T., Sahpaz, S., Skaltsounis, A.L., Bailleul, F. (2007). Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrinum*. *Biochem. Syst. Ecol*, 35: 624-626.

HODEK , P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139: 1-21.

HOLM LG, Plucknett DL, Pancho JV, Herberger JP, 1977. The world's worst weeds: Distribution and biology. East-West Center, University Press of Hawaii, Honolulu

HOPEN HJ, 1972. Growth of common purslane as influencing control and importance as a weed. *Weed Sci.*, 20:20-23

IKEGAMI F, Sumino M, Fujii Y, 2006. Pharmacology and toxicology of *Bupleurum* root-containing Kampo medicines in clinical use. *Hum.Exp.Toxicol*, 25: 481-494.

GALLINO B, 2001. Aggiornamento Phytoalimurgia Pedemontana, in O. Mattiolo Phytoalimurgia Pedemontana. Peveragno, Blu, 232p.

GHEDIRA K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytother.* **2005**; 3: 162-169

GORMAN M, 1988. Purslane goes American. *Org.Gard*, 35 (6): 68-69.

GRUBBEN GJH, Denton OA, 2004. Légumes. Wageningen, Fondation PROTA, 737p.

GUENZAT A; 2012. Effet des extraits aqueux lyophilisés de *Portulaca oleracea* et *Zygophyllum gaetulum* sur le profil lipidique et le statut redox, chez des rats rendus diabétique par injection de Streptozotocine. Mémoire de Magister, Oran.

GUINEBERT E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R. Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole* **2005**; 554-558.

GUNASEKARAN N, Arumugam A, Prasad N et Perumal S; 2014. Effect of hydrothermal processing on total polyphenolics and antioxidant potential of underutilized leafy vegetables, *Boerhaavia diffusa* and *Portulaca oleracea*. *Asian Pac J Trop Biomed* ; 4(1): 468-477.

- GUTTERMAN Y, 1974.** The influence of the photoperiodic regime and red-far red light treatments of *Portulaca oleracea* L. plants on the germinability of their seeds. *Oecologia*, 17: 27-38. Ici
- .KAUFMANN SHE.** Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer ; R.G. Landes, New York; Austin, **1997**, p. 345.
- KEYS JD, 1976.** Chinese Herbs: Their Botanical Chemistry and Pharmacodynamics. E.Tuttle Co., Tutland, VT, USA, 374p
- KNAGGS A.R. (2003).**The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*, 20 : 119-136.
- KRISHNAN S., Manavathu E. K. and Chandrasekar P. H.** *Aspergillus flavus*: an emerging non-fumigatus *Aspergillus* species of significance. *Mycoses* **2009**; 52: 206-222.
- KSOURI R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly. C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*, 45: 244-249
- LAMENDIN H, 2007.** Soignez votre bouche par les plantes: Remèdes d'hier et d'aujourd'hui. L'Harmattan, 213p
- Lim TK, 2013.** Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. New York, Springer, 1022p.
- LARWENCE A., HAMMOUDA F., SALAH A., ABADA S. and OUCHA__ N. Ñ.** Valeur alimentaire des marcs de raisin. III. - Rôle des tanins condensés dans la faible valeur nutritive des marcs de raisin chez le mouton : effet d'une addition de polyéthylène glycol 4000. *Ann. Zootech.* 1984; 33: 533-543.
- LEE, K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y. (2005).** Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem*, 53 : 1990-1995
- LEONG , LP., Shui, G. (2002).** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.
- LEUNG AY, Foster S, 1996.** Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in food, drugs and cosmetics. Hoboken, John Wiley, 688p.
- LIM YY, Quah EPL, 2007.** Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea* L.. *Food Chemistry*, 103: 734-740

LUGASI A., HOVARI J., SAGIK., BIRO L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J.Acta.biologica. szegediensis.* 47 (14):119-125.(Cited in Mohammedi Z, 2005).

MACHEIX JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, **2005**, p. 4-5.

MALE _Év D. É. and Kunti_ç V. Investigation of metal--flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal--flavonoid complexing reactions. *J. Serb. Chem. Soc.* **2007**; 72: 921-939.

MARFAK A., 2003 - Radiolyse Gamma des Flavonoïdes : etude de leur Réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 187 p.

MARTIN S.et ANDRIANTSITOHAINA R.(2002).Mécanismes de la protection cardiaque etvasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51 : 304–315.

MIDDELTON , E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839

MILIAUSKAS G., VENSKUTONIS P.R., VAN BEEK T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85 : 231-237

MIYANISHI K, Cavers PB, 1980. The biology of Canadian weeds. *Portulaca oleracea L.* *Can. J. Plant Sci.* 60: 953-963

MUANDA F., 2010. Identification de polyphéols , evaluation de leur activite antioxydante et etude de leur proprietes biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique .Université Paul Verlaine-Metz : 55p

MUTHU , C., Ayyanar, M., Raja, N., and Ignacimuthu, S., (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **2:43** doi:10.1186/1746-4269-2-43

NIJEVELDT , R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P. (2001).Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am.J. Clin Nutr*, 74 : 418–425.

.NOGUCHI K, Nakayama K, Ban CD, 1975. Studies on ecological characteristics of common purslane [*Portulaca oleracea*]. *J.Cent.Agric.Exp.Stn.Konosu*, 22: 179-202

PARIS R.R. (1976). Moyes H-Précis de matière médicale-Tome 1, édition MASSON
, Paris.

RAHMAN , I., Biswas, S.K., Kirkham, P.A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72: 1439-1452.

RANGKADILOK , N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., Satayavivad, J. (2007). Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. *Food Chem. Toxicol*, 45: 328-336.

RAY S. D., Wong V., Rinkovsky A., Bagchi M., Raje R. R. and Bagchi D. Unique organoprotective properties of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cadmium chloride-induced nephrotoxicity, dimethylnitrosamine (DMN)-induced splenotoxicity and mocap-induced neurotoxicity in mice. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **2000**; 107: 105-128

REAUME , T., 2009. 620 Wild Plants of North America: Fully Illustrated. CPRC Press. P 784

REMSY C., Manach C., Texier O. and Regeat F. Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Med. Nutr.* **1996**; 32: 17-27.

.RODRIGUEZ , E., (2007). Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil(Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola). *Journal of Ethnopharmacology* **111**, 295–302

SAAD B, Said O, 2011. Greco-Arab and islamic herbal medicine: traditional system, ethics, safety, efficacy, and regulatory issues. John Wiley & Sons, 568p

SANJA SD, Sheth NR, Patel NK, Patel D, Patel B; 2009. Characterization and evaluation of antioxidant activity of *Portulaca oleracea*. *Interional Journal of*

SARNI -Manchado P and Cheynier V. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, **2006**, p. 2-10.

SCHOCH WH, Pawlik B, Schaveigruber FH. 1988. Botanische Makroreste. Berne, Paul Haupt, 653p

SEIGLER DS. Plant secondary metabolism. Ed. Kluwer Academic, Boston, **1998**, p. 193-205.

SIMOPOULOS AP, Robinson J, 1998. The Omega plan. New York, Harper Collins, 1-55.

A, Tau D, Manchester L et Reiter; 2005. Purslane: A plante source of oméga 3 and mélatonine. *J Pineal*; 39: 331-322.

SKANDAMIS P.N. et NYCHAS G.J.E. (2001). Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J. Applied Microbiol*,91 : 1011-1022.

SUBRAMANIAN S., Stacey G. and Yu O. Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends Plant Sci.* **2007**; 12: 282-285

TOHGE T., Matsui K., Ohme-Takagi M., Yamazaki M. and Saito K. Enhanced radical scavenging activity of genetically modified Arabidopsis seeds. *Biotechnol. Lett.* **2005**; 27: 297-303.

TOUFEXIS D, Hammack SE, Triggler DJ, 2006. Anti-anxiety drugs. New York, Chelsea House Publishers, 124p.

TUTIN TG, 1993. Flora Europaea. Cambridge, England, Cambridge University Press, 629p.

UDDIN MK, Juraimi AS, Hossain MA, Anwar F et Alam MA; 2012b.“Effect of salt stress of *Portulaca oleracea* on antioxidant properties and mineral compositions”.

Australian Journal Crop Science; 6: 1732–1736.

ULANOWSKA K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak__bkiewicz-Banecka J. and W_Âgrzyn G. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia* **2007**; 62: 132-135.

URQUIAGA I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.* **2000**; 33: 55-64.

.VALSARAJ R., Pushpangadan P., Smitt U. W., Adersen A., Christensen S. r. B. g., Sittie A., Nyman U., Nielsen C. and Olsen C. E. New Anti-HIV-1, Antimalarial, and Antifungal Compounds from *Terminalia bellerica*. *J. Nat. Prod.* **1997**; 60: 739-742

- VAN ACKER** , S., van Balen, G.P., van den Berg, D.J., van der Vijgh, W.J.F. (1996). Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56 :935– 943
- VENGRIS J, Dunn S, Stacewicz-Sapuncakis M, 1972.** Life history studies as related to weed control in the northeast. Res. Bull. Agric. Exp. Sta. University of Massachusetts, 44 p.
- WACHTER G. A., Hoffmann J. J., Furbacher T., Blake M. E. and Timmermann B. N.** Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochem.* **1999**; 52: 1469-1471.
- WALLE T.** Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radical Biol. Med.* **2004**; 36: 829-837.
- WARE S, 1967.** A new *Talinum* (*Portulacaceae*) from the cedar glades of middle Tennessee. *Rhodora*, 69: 466–475.
- WANG J, Mazza G, 2002.** Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alfa in LPS/IF N-Y activates Raw 264.7 Macrophages. *J Aric. Food chem.* 50: 4183–4189.
- W-ERDMAN J., BALENTINE J.D., ARAB L., BEECHER G., DWYER J.T., FOLTS J., HARNLY., HOLLMAN J.P., L-KEEN C., MAZZA G., MESSINA M., SCALBERT A., VITA J., WILLIAMSON G. and BURROWES J., 2005 -** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. Washington. Journal of Nutrition, (3) 137 : 718-737.
- Wyk BEV, 2005.** Food Plants of the World. Portland, Timber Press, 480p
- YAO, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59 :113-122.
- YOSHIDA , H., Ishikawa, T., Hosoai, H., Suzukawa, M., Ayaori, M., Hisada, T., et al. (1999).** Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein. *Biochem Pharmacol*, 58 : 1695–703.
- ZHANG , Y., Vareed, S.K., Nair, M.G. (2005).** Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. *Life Sci*, 76: 1465-1472.
- Zimmerman CA, 1976.** Growth characteristics of weediness in *Portulaca oleracea* L.. *Ecology*, 57: 964-974.

Annexe 01 :

Tableau II: Appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture, appareillages utilisés pour l'activité antimicrobienne, matériels, solution

Appareillages, Verrerie de laboratoire	Solvant	Milieu de culture
<p>Agitateurs variés (à barreau magnétique chauffant et non). Balance de précision 0.001g (KERN 770) Bain-marie, Étuve (MEMMERT) Four à moufle (NABERTHERM) Microscope électronique à balayage (PHILIPS ESEM XL 30) pH- mètre (INOLAB) Plaque chauffante (RYPA) Mastersizer (SCIROCCO) Spectrophotomètre visible (EV 9200) Réfrigérateur béchers, burettes, fiole, entonnoir Flacons, pipette gradée Pipette pasteur cristallisoirs, éprouvettes, tubes à essai ...etc). Mortier, pilon, verre de montre, tamis, papiers filtres, spatule, passoire, cuves.</p>	<p>Acide chlorhydrique Ammoniaque Acétone, Acétate de sodium Acide gallique Acétate d'éthyle Chloroforme Chlorure ferrique Carbonate de calcium Chlorure d'aluminium Carbonate de sodium Eau distillée Éthanol Éther diéthylique Éther de pétrole, Hydroxyde de sodium, Isobutanol Méthanol, Propanol Potasse Sulfate d'aluminium Sulfate de sodium anhydre Réactif de Dragendroff Réactif du Folin-Ciocalteu</p>	<p>Gélose nutritive (GN) Gélose Mueller Hinton (MH) Gélose sabourau</p>
Appareillages utilisés pour l'activité antimicrobienne	Matériels	Solution
<p>Autoclave de paillasse (WEBECO) Bain-marie (MEMMERT) Étuves bactériologiques (MEMMERT) : Etuve 37°C et Etuve 28°C Spectrophotomètre visible (MEDLINE) Réfrigérateur.</p>	<p>boites de Pétri Anse de platine, bec bunsen, cuves, disques stériles (papier Wattmann), embouts en plastiques stériles, micropipettes, pince, pipettes Pasteur, tubes à essai, Antibiotique(ATB). Antifongique (ATF)</p>	<p>Eau distillée Eau physiologique stérile (9 g/l) Eau de javel</p>

Annexe 02 :

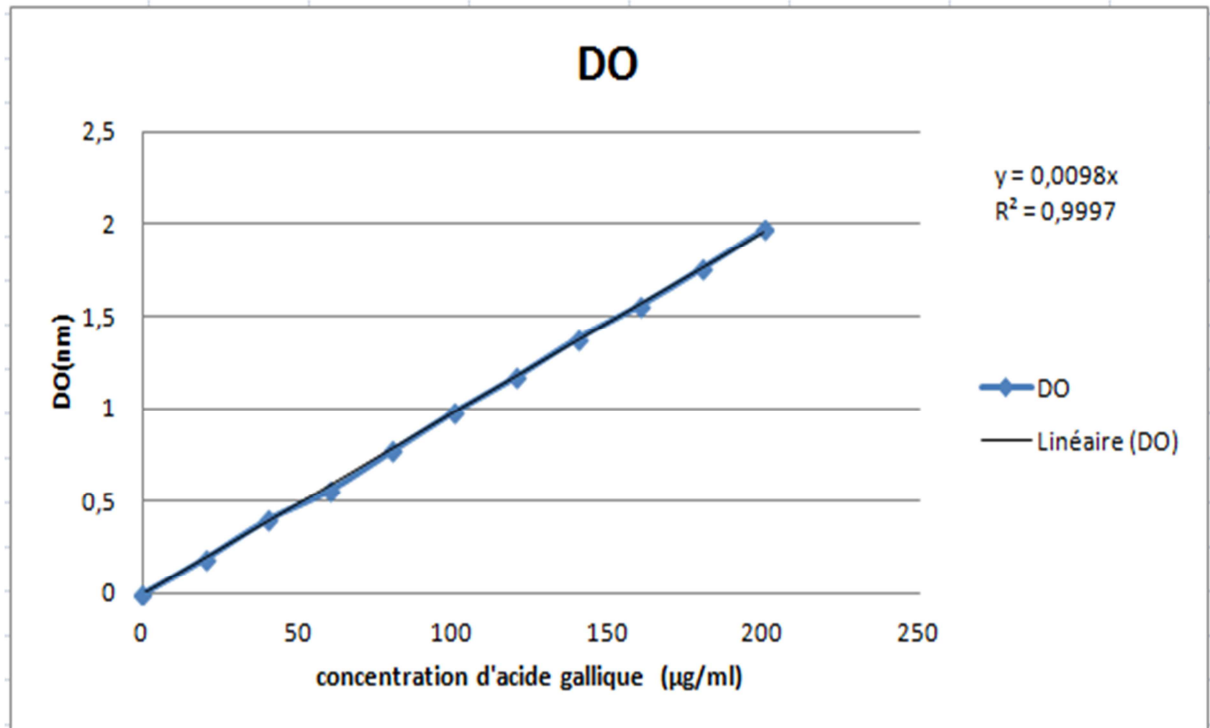


Figure01 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (pour extraits organiques)

Annexe 03 :

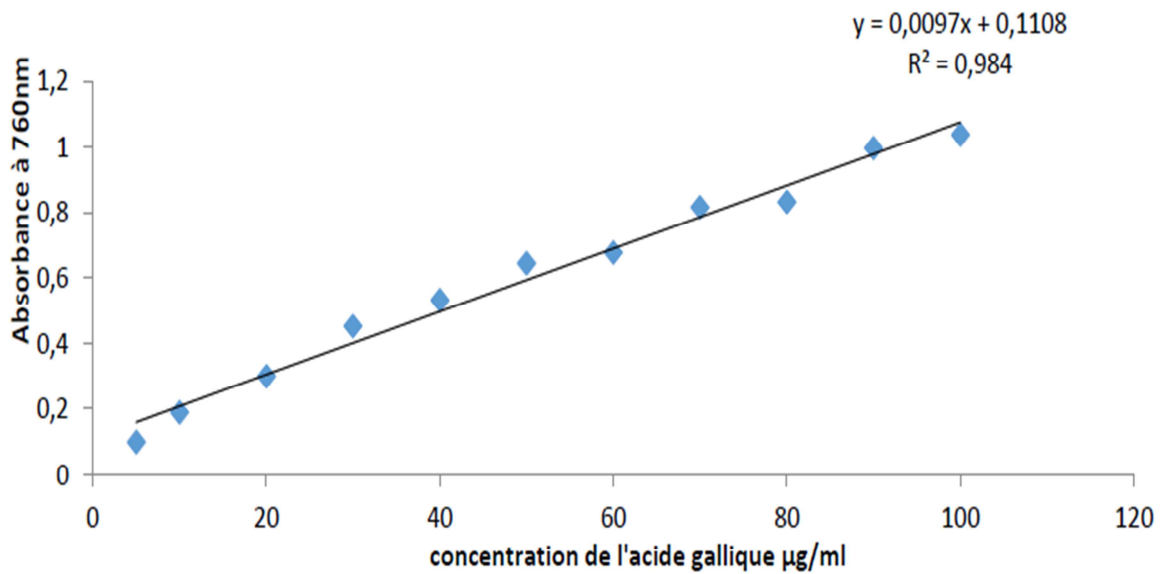


Figure02 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (pour extraits aqueux)

Annexe 04 :

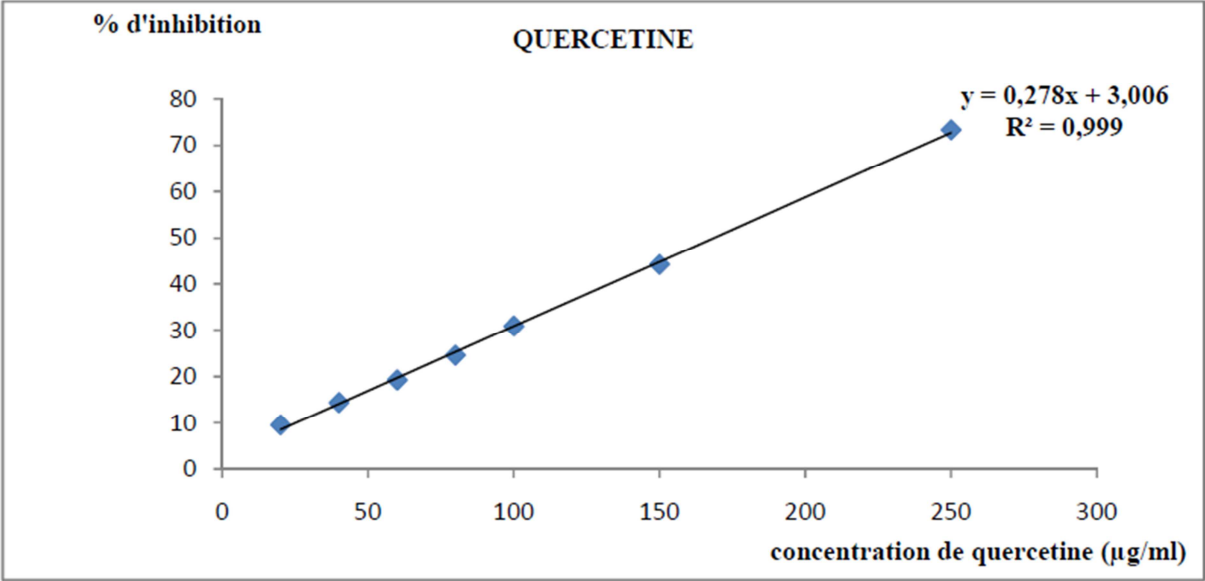


Figure 03 : Courbe d'étalonnage de quercetine

Annex 05 : Résultats de l'activité anti microbienne

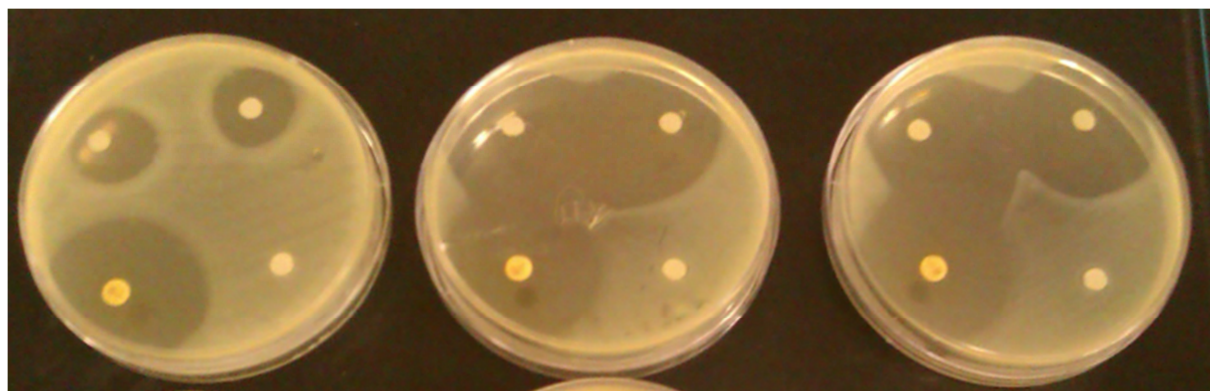


Figure 01 :Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de poudre de P.oleracea L vis-à-vis de E.colie

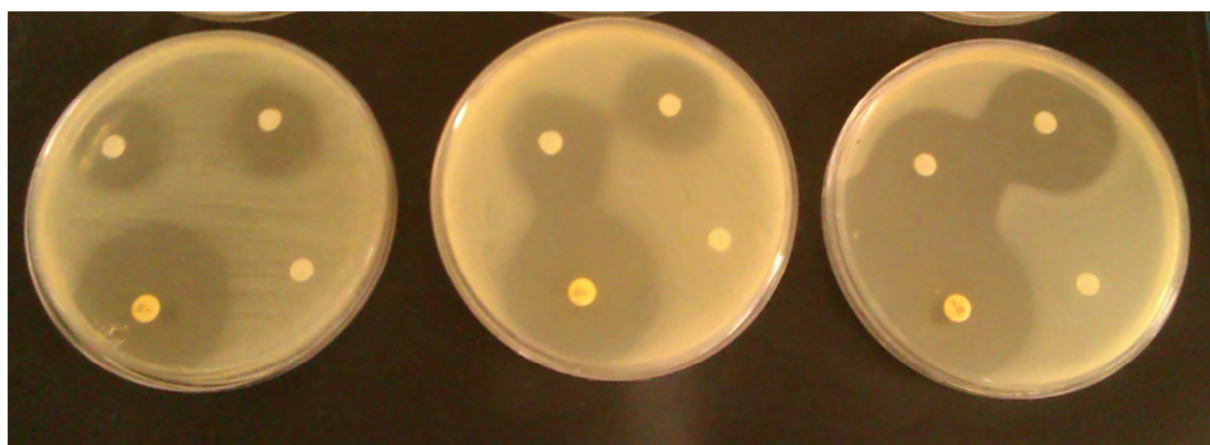


Figure 02 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de poudre de P.oleracea L vis-à-vis de E.colie

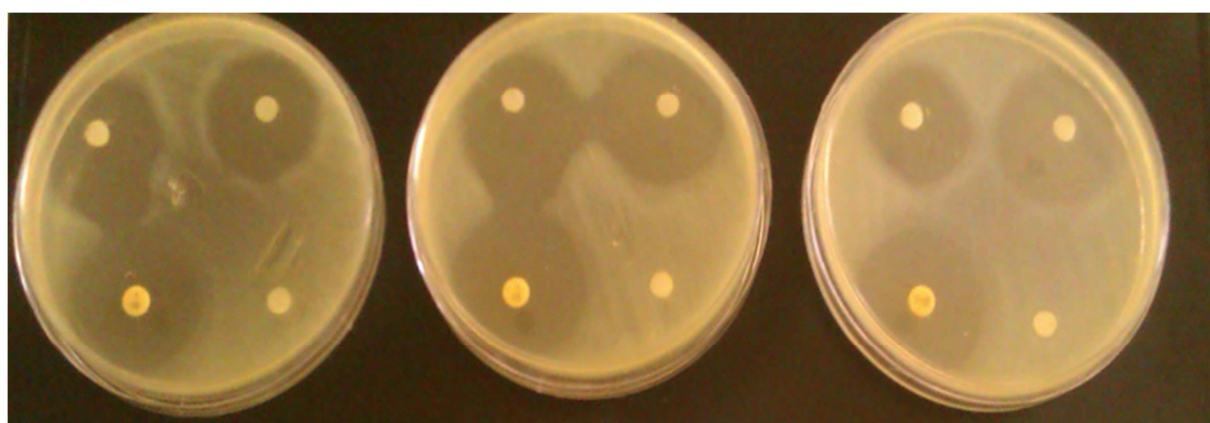


Figure 03 : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de P.oleracea L fraiche vis-à-vis de E.colie

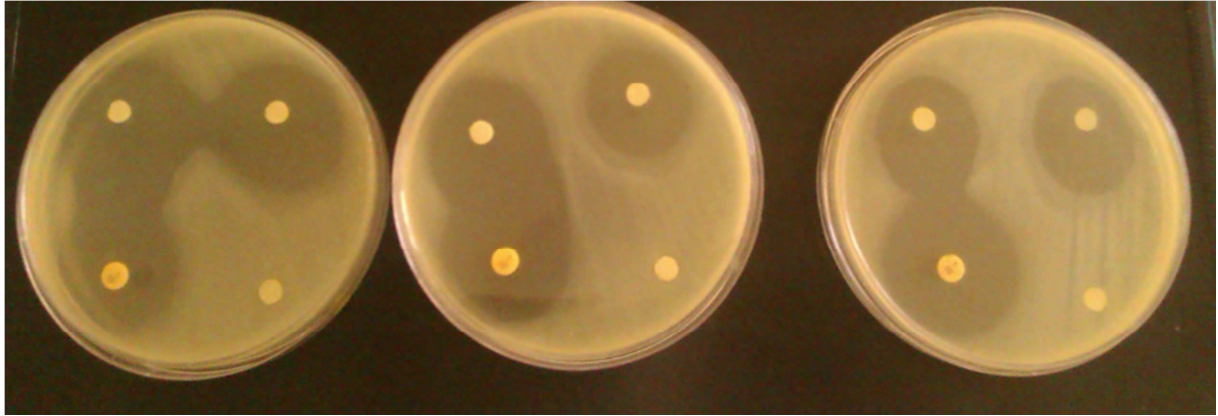


Figure 04 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de *P.oleracea L* fraiche vis-à-vis de *E.colie*

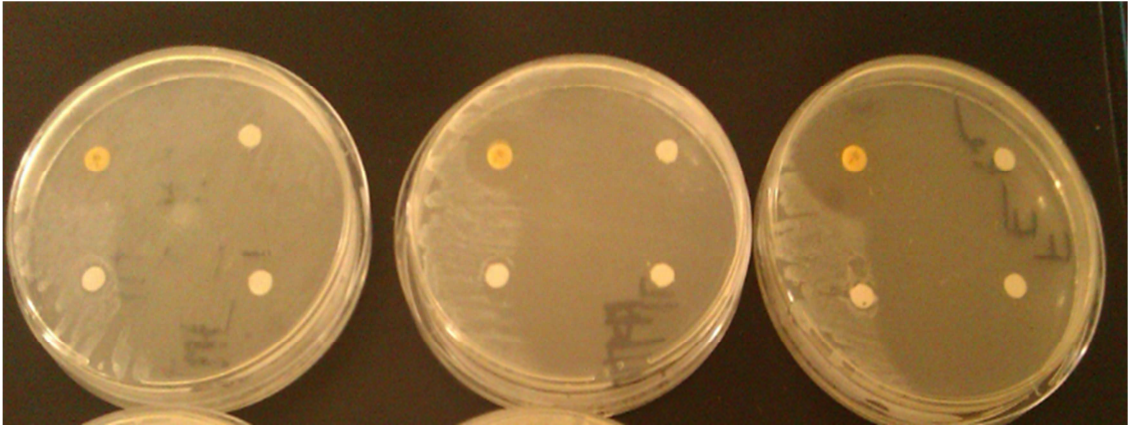


Figure 05 : :Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de poudre de *P.oleracea L* vis-à-vis d'*E.faecalis*

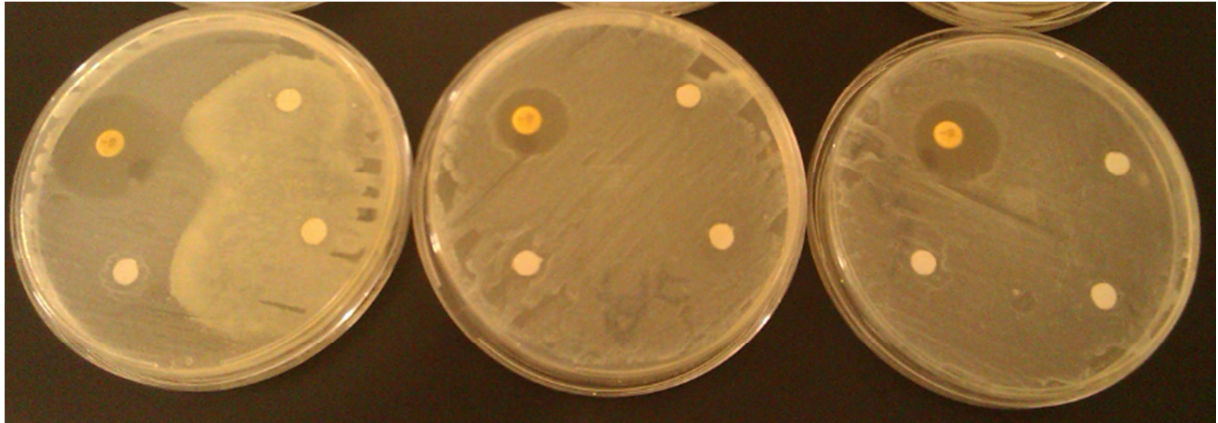


Figure 06 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de poudre de *P.oleracea L* vis-à-vis d'*E.faecalis*

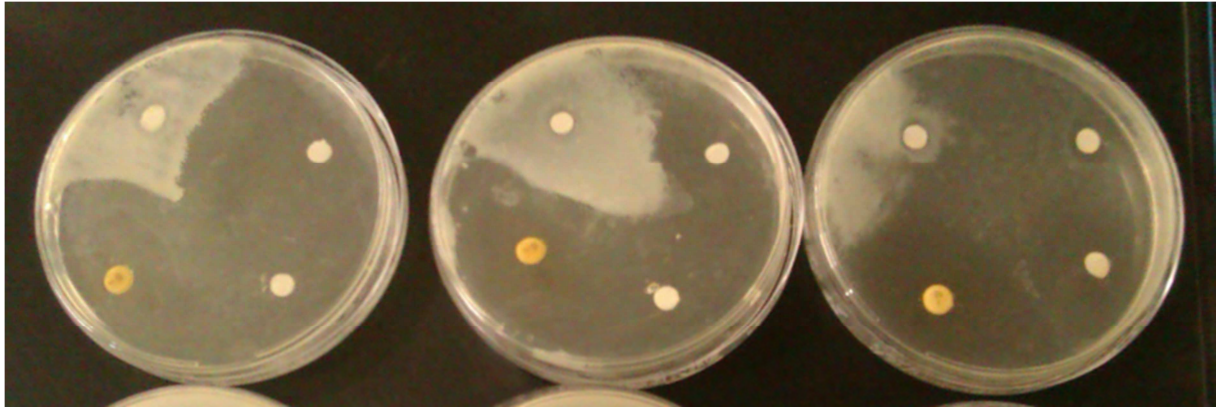


Figure 07 : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de *P.oleracea* L fraîche vis-à-vis d'*F.faecalis*

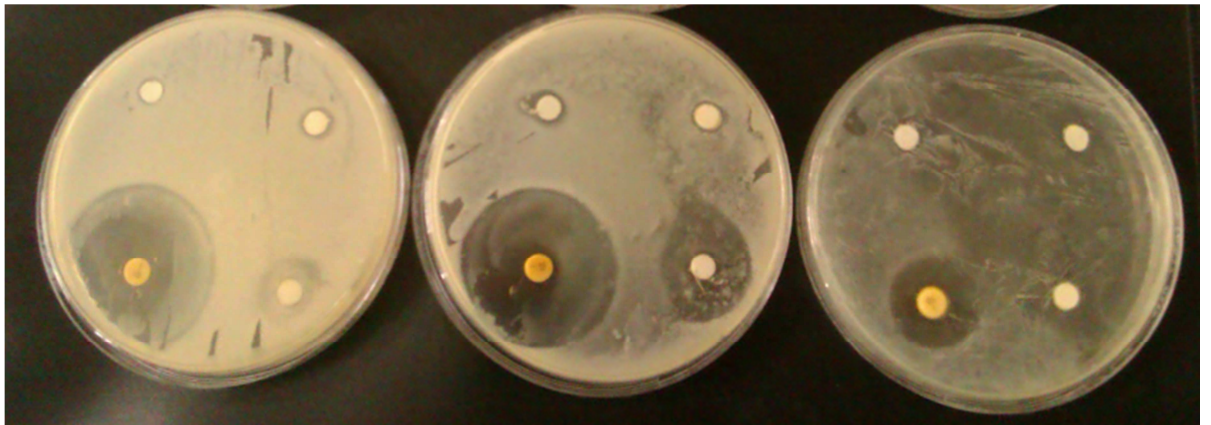


Figure 08 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de de *P.oleracea* L fraîche vis-à-vis d'*F.faecalis*

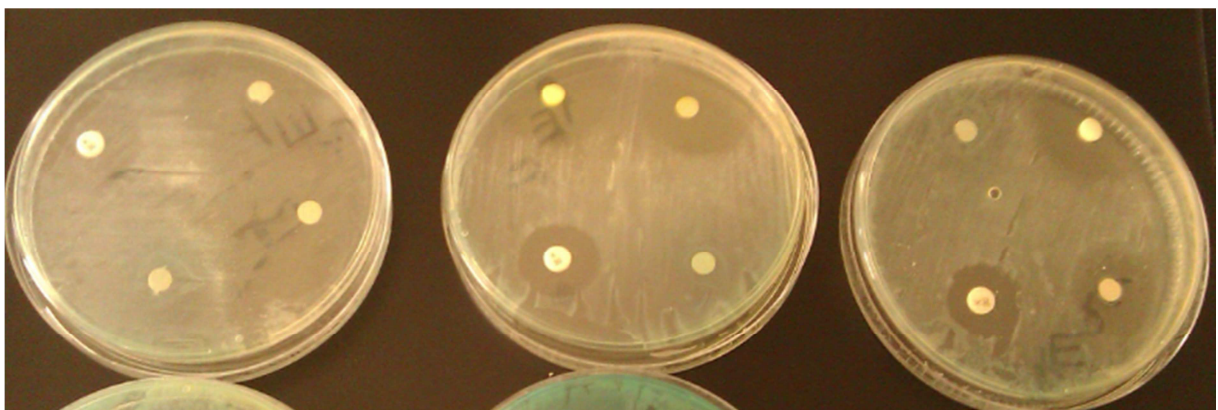


Figure 09 : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de poudre de *P.oleracea* L vis-à-vis de *pseudomonas* aéruginosa

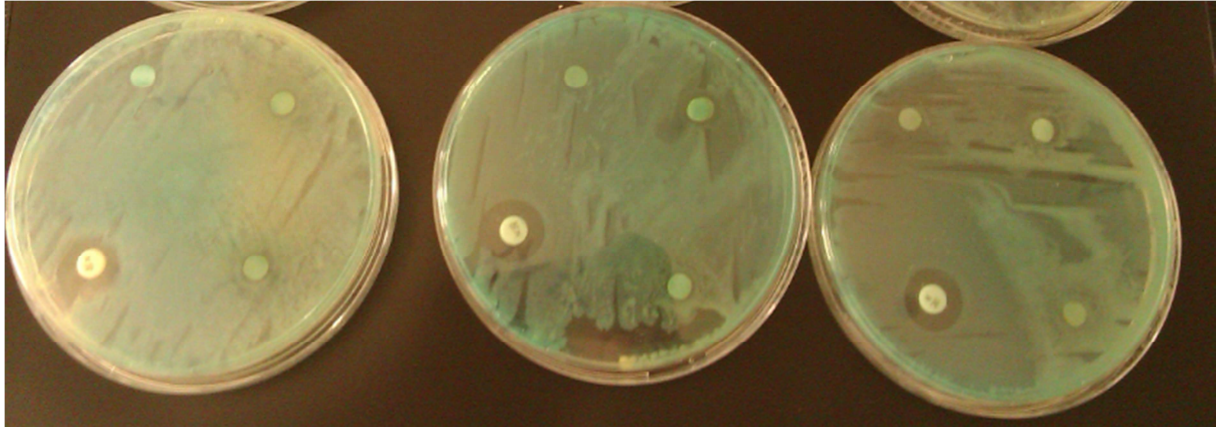


Figure 10 : : Antibiogramme de l'extrait aqueux de poudre de *P.oleracea* L vis-à-vis de *pseudomonas* aéruginosa

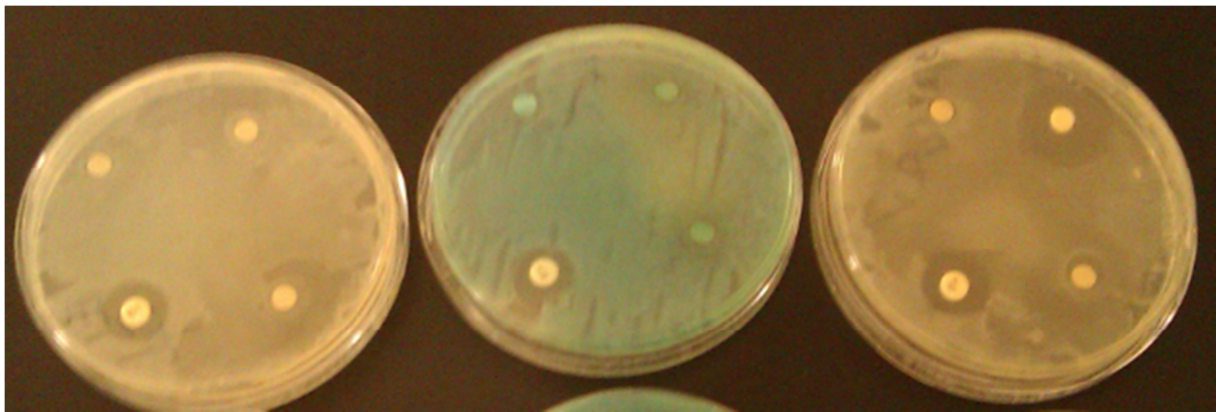


Figure 11 : : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de *P.oleracea* L fraîche vis-à-vis de *pseudomonas* aéruginosa

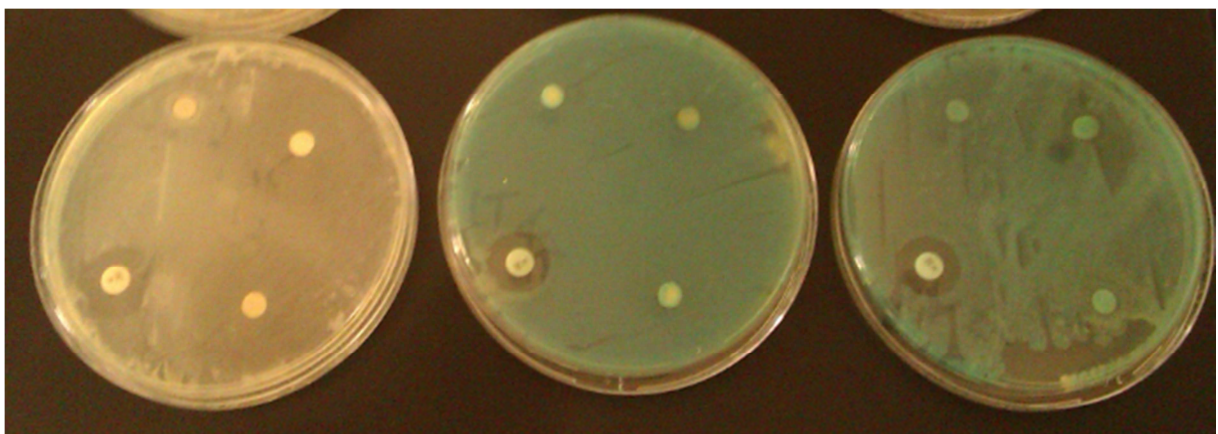


Figure 12 : : Antibiogramme de l'extrait aqueux de *P.oleracea* L fraîche vis-à-vis de *pseudomonas* aéruginosa

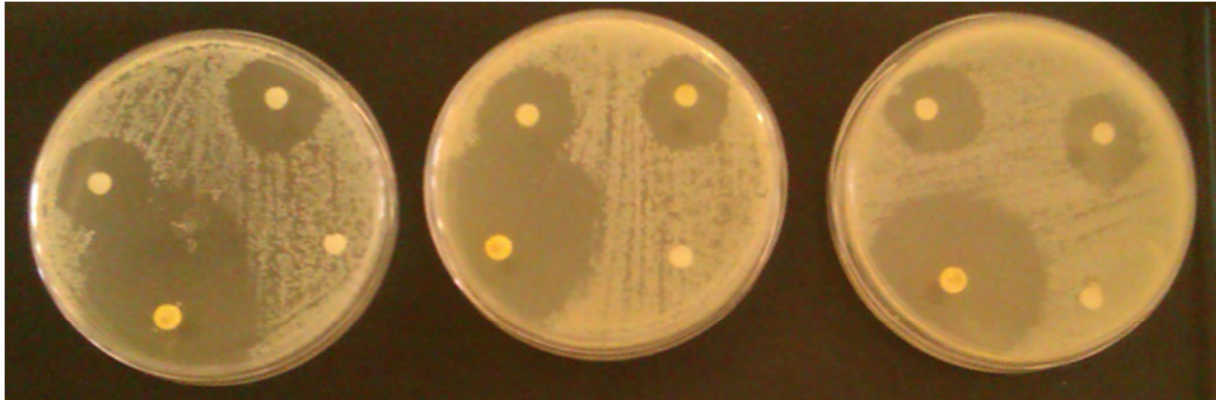


Figure 13 : : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de poudre de *P.oleracea* L vis-à-vis de *Bacillus cereus*

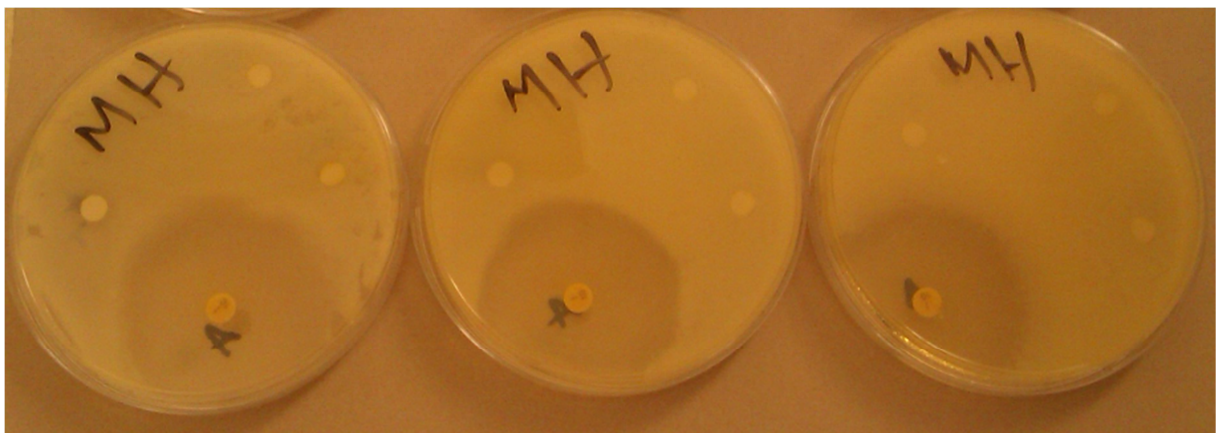


Figure 13 : : Antibiogramme de l'extrait aqueux de poudre de *P.oleracea* L vis-à-vis de *Bacillus cereus*

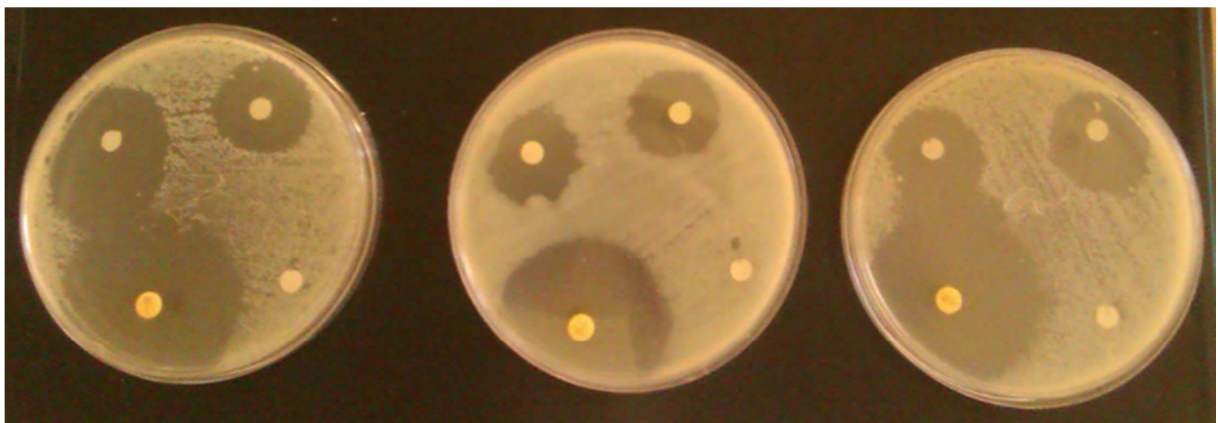


Figure 14: : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de *P.oleracea* L fraîche vis-à-vis de *Bacillus cereus*

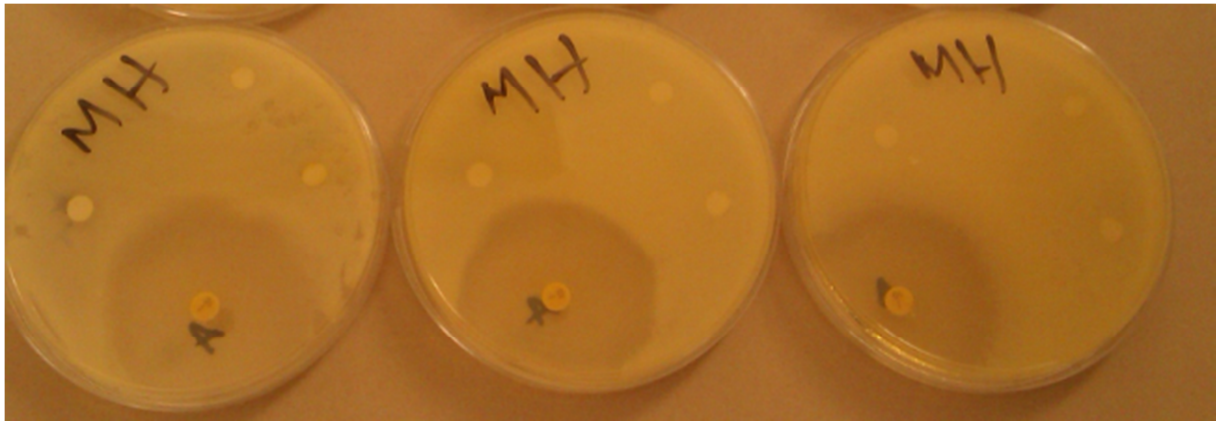


Figure 15 : : Antibiogramme de l'extrait aqueux de *P.oleracea L* fraiche vis-à-vis de *Bacillus cereus*

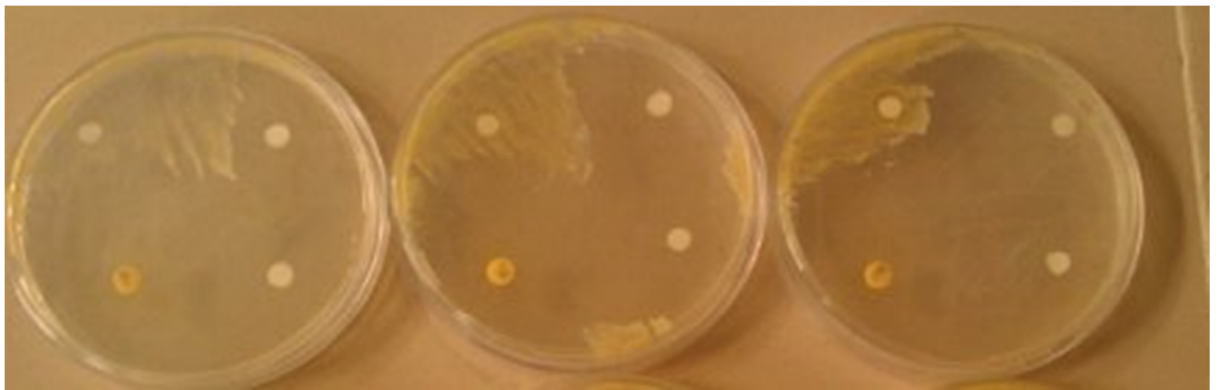


Figure 16 : : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de poudre de *P.oleracea L* vis-à-vis de *S.aureus*

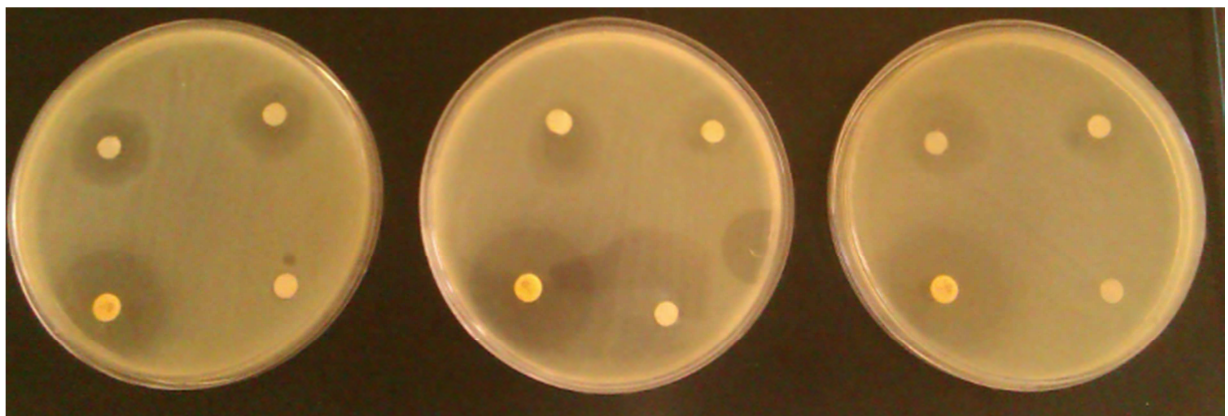


Figure 17 : : Antibiogramme de l'extrait aqueux de poudre de *P.oleracea L* vis-à-vis de *S.aureus*

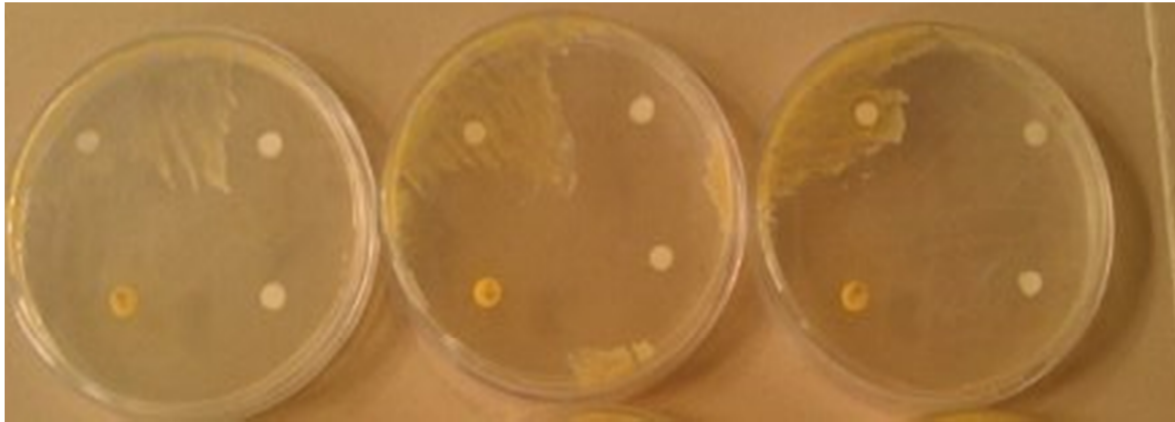


Figure 18 : : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de *P.oleracea L* fraiche vis-à-vis de *S.aureus*

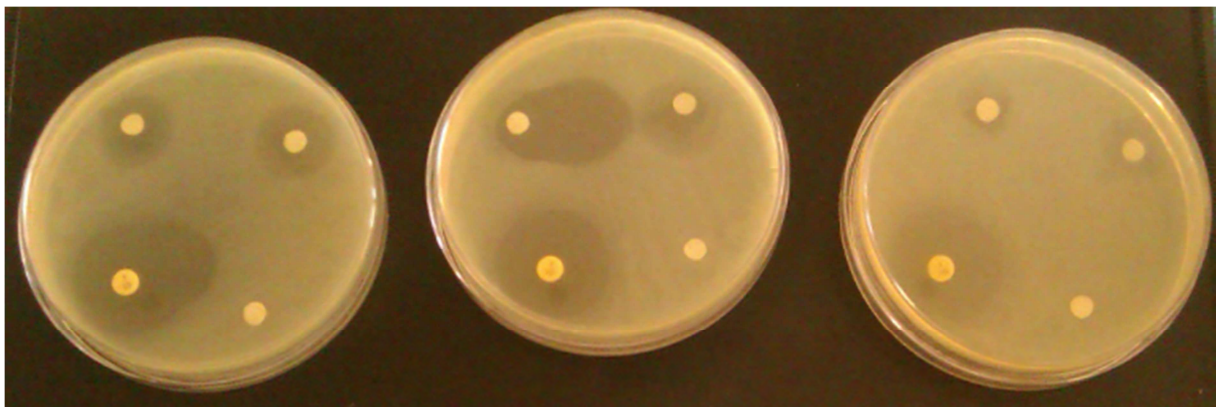


Figure 19 : : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de *P.oleracea L* fraiche vis-à-vis de *S.aureus*

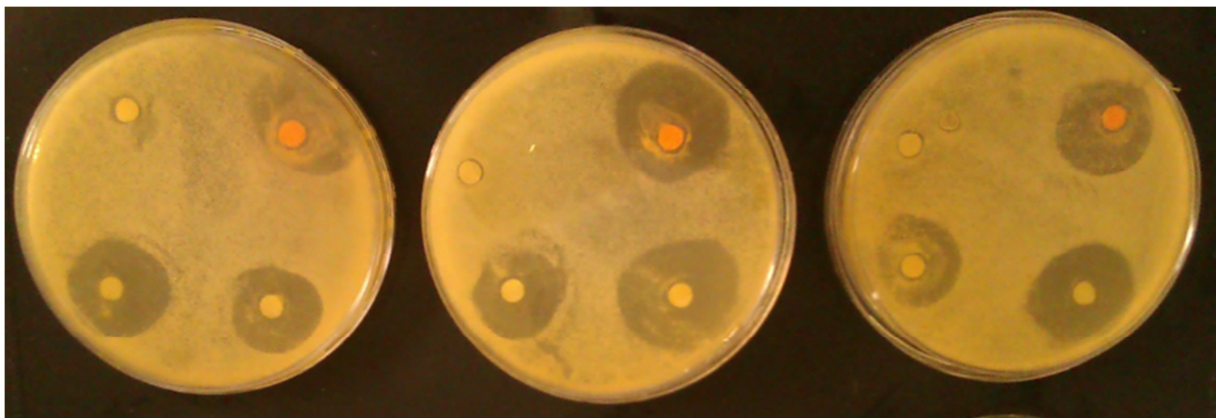


Figure 20 : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de poudre de *P.oleracea L* vis-à-vis de *Candida Albicans*

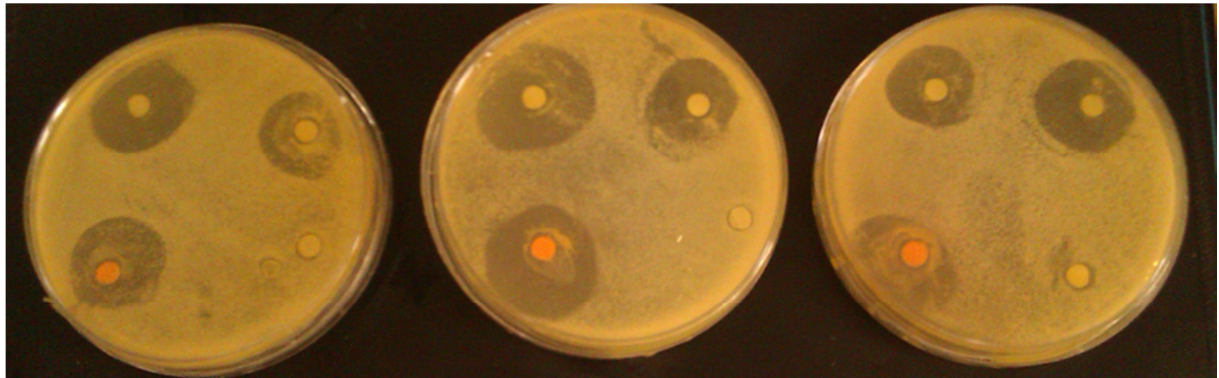


Figure 21 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de poudre de *P.oleracea* L vis-à-vis de *Candida Albicans*

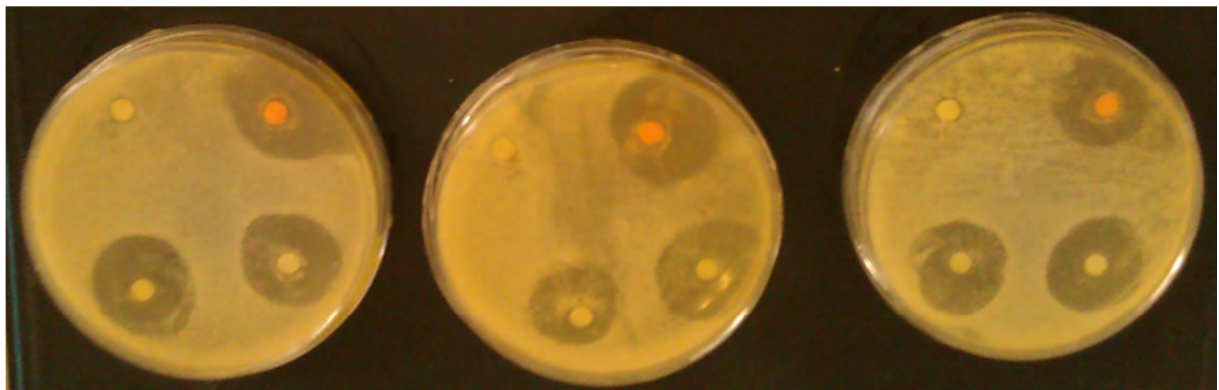


Figure 22 : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de *P.oleracea* L fraîche vis-à-vis de *Candida Albicans*

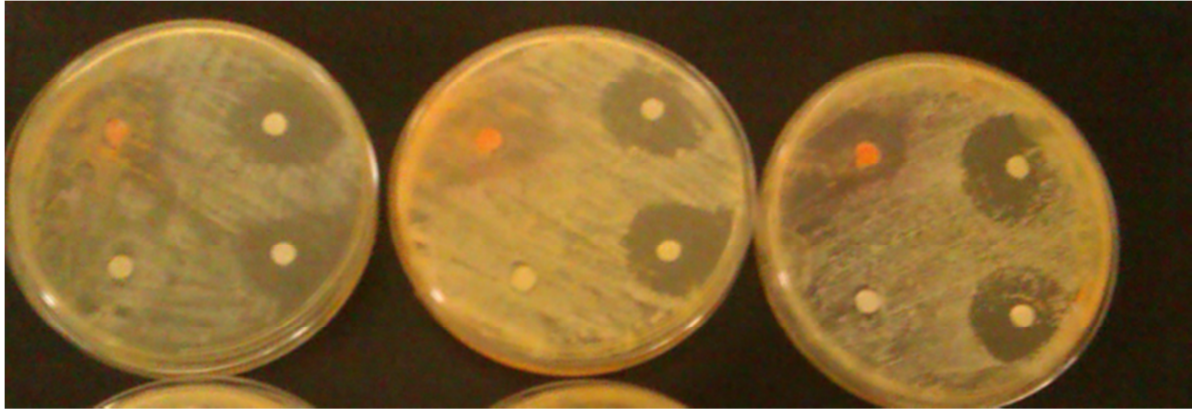


Figure 24 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de *P.oleracea* L fraiche vis-à-vis de *Candida Albicans*

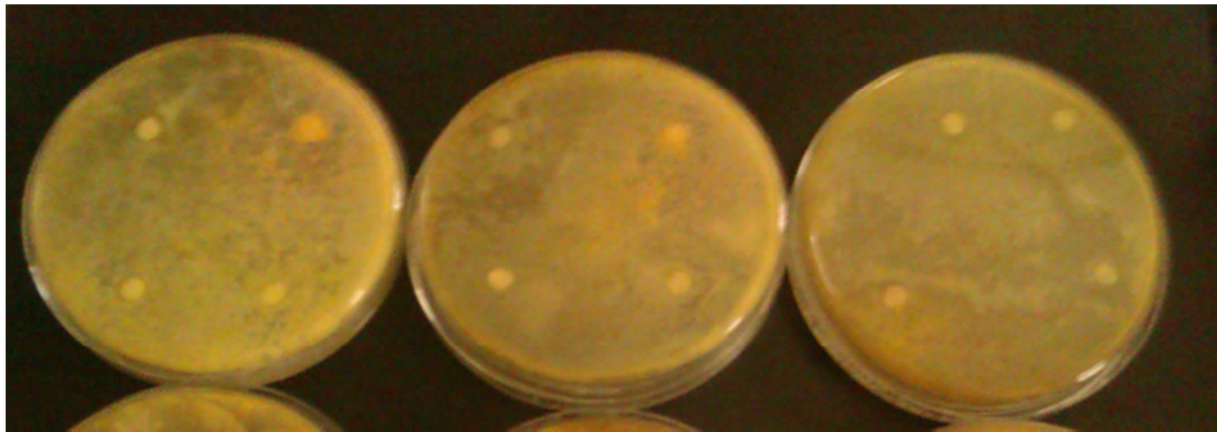


Figure 25 : Antibiogramme de l'extrait éthanoïque de poudre de *P.oleracea* L vis-à-vis de *A.niger*

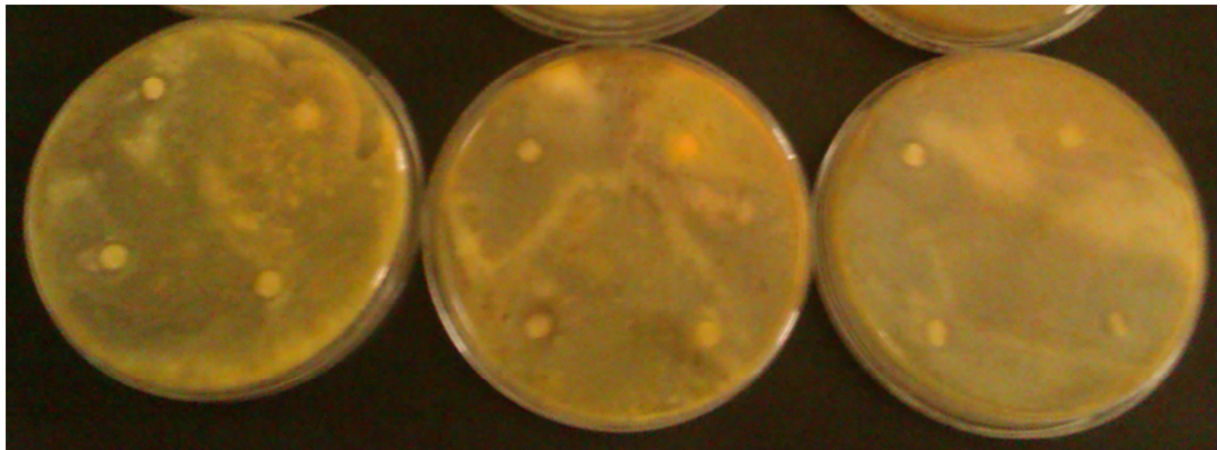


Figure 26 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de poudre de *P.oleracea* L vis-à-vis de *A.niger*

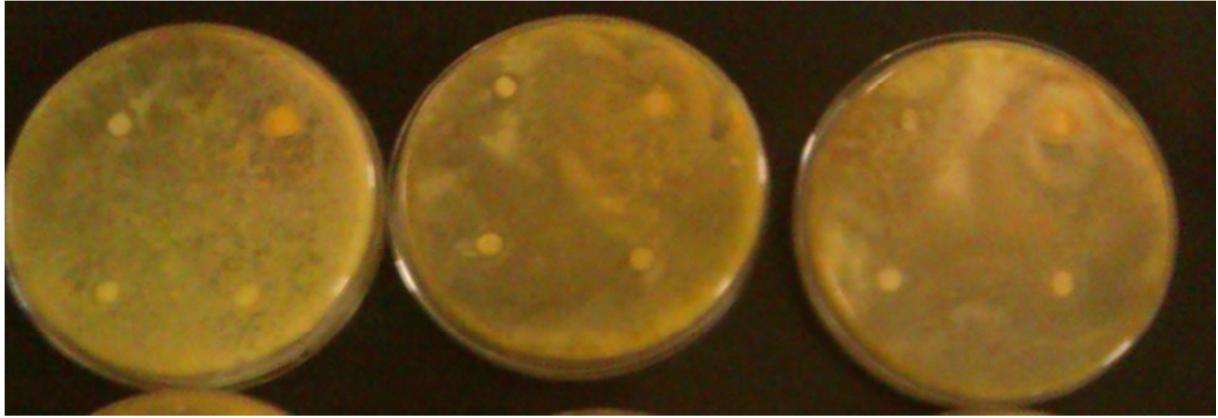


Figure 27 : Antibiogramme de l'extrait éthanœique de *P.oleracea* L fraiche vis-à-vis de *A.niger*

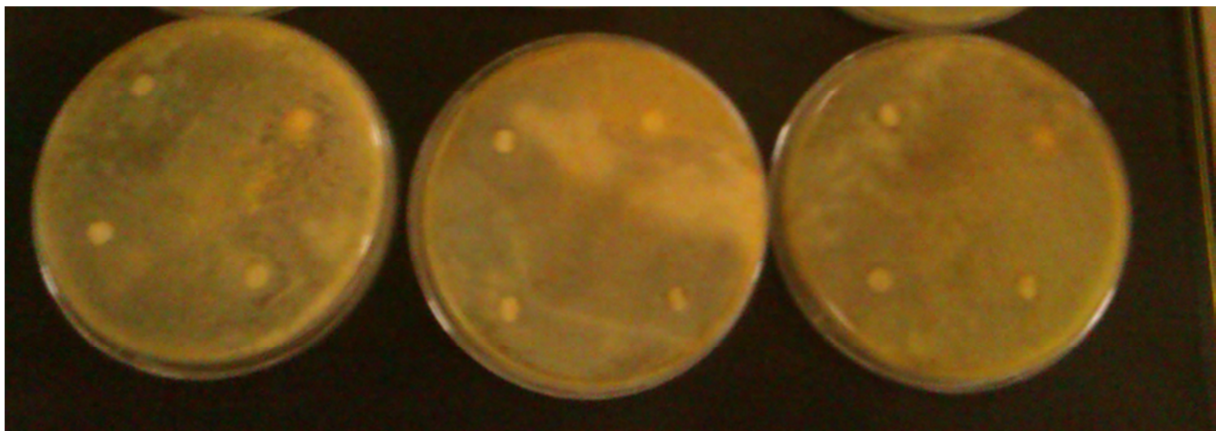


Figure 28 : Antibiogramme de l'extrait aqueux de *P.oleracea* L fraiche vis-à-vis de *A.niger*

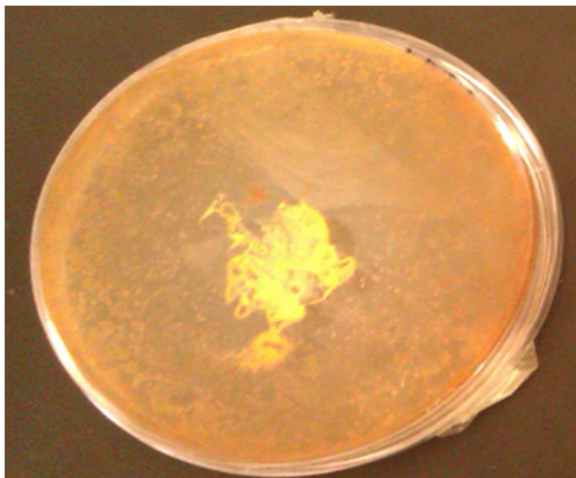


Figure 29 :Témoins négatifs de l'antibiogramme de *A.niger*

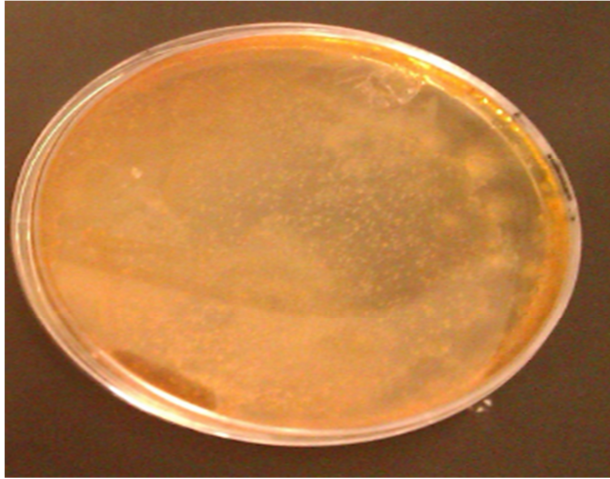


Figure 30 : :Témoïn positif de l'antibiogramme de *A.niger*