



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la  
vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :

Sana RAHAL

Lamia RAHAL

Le : mercredi 10 juillet 2019

### Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits végétaux (cas de *Portulaca oleracea* L.)

---

Jury :

Mme. Leila Belbesir	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. Djamila Mokrani	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Hanen Achour	MAB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

## Remerciements

*Alhamdo li Allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la Connaissance et qui nous a aidé à compléter cette recherche modeste.*

*Premièrement, nous remercions Madame Makrani Djamila pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordé en réalisant ce travail , nous le remercions profondément pour son compréhension, son patience et son politesse incomparable.*

*Comme nous ne pouvons pas oublier à remercier les membres du jury Ahmed Athamena et Hanen Achour pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons à remercier profondément Guesmia Hadjer ingénieur de laboratoire de la Centre de Recherche Scientifique et Techniques sur les Régions Arides (CRSTRA) ,Biskra pour l'attention qu'elle a porté à ce travail, son support et ses encouragements, aussi a tous les travailleurs du laboratoire spécialement à Fadloui Haroune Et Fougalya Abdhamid.*

# Table des matières

Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figure	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Première partie_Partie bibliographique	
Chapitre 01. Généralités sur la plante étudiée (Portulaca oleracea L.)	
1 .1 Définition des plantes médicinales.....	3
1.2. Définition de phytothérapie.....	3
1.3. Description et caractéristique de la plante.....	3
1.4. Classification botanique de Portulac aoleracea L.....	4
1.4.1. Classification deCronquist1981.....	4
1.5 Composition chimique de Portulaca oleracea L.....	5
1.6 Habitat.....	6
1.7. Utilisation médicinale.....	6
Chapitre 02. Les Métabolites secondaires	
2.1. Définition des métabolites secondaires.....	8
2.2. Classement des métabolites secondaires.....	8
2.1.1 Polyphénols.....	8
2.1.1 .1. Classification des composés phénoliques.....	9
A. Acides phénoliques.....	9
B.Flavonoïdes.....	9
2.1 .2 Alcaloïdes.....	11
2.1 .3. Terpénoïdes.....	11
2.3. Activité antibactérienne.....	11
Deuxième partie_Partie expérimentale	
Chapitre 03. Matériel et méthodes	
3.1. Matériel végétal.....	12
3.2. Méthodes.....	12
3.2.1. Séchage et broyage.....	12
3.2.2. L'extraction.....	13
3.2.3- Détermination de rendement.....	16

3.2.4-Analyse quantitative des composées phénoliques .....	16
3.2.5. Activité antibactérienne .....	17
3.2.5.1. Préparation des dilutions de l'extrait de la plante : .....	19
3.2.5.2. Préparation de pré-culture.....	19
3.2.5.3. Préparation des disques .....	19
3.2.5.4. Préparation le milieu de culture.....	19
3.2.5.1. 5. Inoculum.....	20
3.2.5.1. 6 .Ensemencement.....	20
3.2.5.7. Incubation et Lecture .....	21
3.2.5. 8 .Expression des résultats .....	21
Chapitre 04. Résultats et discussion	
4.2 Dosage des polyphénols totaux .....	24
4.2.1 Dosage des polyphénols.....	24
4.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux .....	25
4.2.3. Dosage des tanins condensés.....	27
4.3. Test de l'activité antibactérienne.....	28
4.5. Résultats selon l'extrait: .....	29
4.5.1 Extrait aqueux (EA) .....	29
4.5.2. Extrait méthanolique (EM) .....	30
4.5.3Extrait éthanolique (EE).....	30
Conclusion .....	32
Références bibliographiques .....	34
Résumé	

# Liste des tableaux

Tableau 1. Classification de <i>Portulaca oleracea</i> L.	5
Tableau 2. Composition nutritionnelle.	6
Tableau 3. Les souches bactériennes utilisées pour l'activité antibactérienne	18

# Liste des Figures

Figure 1 .Morphologie de la plante <i>Portulaca oleracea</i> L.....	4
Figure 2.structure chimique des poly phénol .....	10
Figure 3. la carte géographique de commune de Guemar .....	12
Figure 4.les différentes étapes d'obtention de la poudre de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	13
Figure 5. les différents extraits préparés.....	13
Figure 6. Protocole de préparation de l'extrait par macération. ....	14
Figure 7 . Evaporation de l'extrait par le Rota Vapeur. ....	15
Figure 8. l'antibiotique Gentamicine .....	18
Figure 9. les dilutions de l'extrait de la plante .....	19
Figure 10 .Préparation le milieu de culture .....	20
Figure 11. l'ensemencement des bactéries. ....	21
Figure 12. Disposition des disques d'extrait et d'antibiotique dans la boîte. ....	21
Figure 13. Histogramme du rendement des différents extraits de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	23
Figure 14. Droite d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux. ....	24
Figure 15. Teneur des extraits en poly phénols totaux en mg EAG/G ES . ....	25
Figure 16. Droite d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux. ....	26
Figure 17. Teneur des extraits en flavonoïdes totaux en mg EQ/g ES . ....	26
Figure 18. Droite d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	27
Figure 19. Teneur des extraits en tanins condensés totaux en mg EAC/g ES . ....	28
Figure 20.activité antibactérienne de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
Figure 21. Zones d'inhibition (par mm) de chaque Bactérie dans les différents extraits.....	31

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Désignation</b>
AlCl <sub>3</sub>	Trichlorure d'aluminium
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle
GMH	Gélosé Muller Hinton
HCl	Acide chlorhydrique
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Bicarbonate de sodium
EAM	Extraction Assisté par macération
Mg	Milligramme
Mm	Millimètre
ATB	Antibiotique
Abs	Absorbance
%	Pourcentage
C°	Degré Celsius
P	Poids
EE	Extrait éthanolique
EM	Extrait méthanolique
EA	Extrait aqueux
mg EQ/g MS	milligramme d'équivalent de matière sèche
Con	Concentration
Bact	Bactérie
NaOH	Hydroxyde de sodium
TCs	tanins condensés

# Introduction

Pendant longtemps, les plantes médicinales et leurs préparations ont constitué la seule source de médicaments avec les animaux. L'usage des plantes médicinales n'est pas uniquement une lointaine coutume, 90% de la population mondiale utilise peut être encore uniquement des plantes brutes et des extraits non raffinés de plantes pour se soigner

Dans plusieurs régions d'Afrique, les plantes médicinales représentent pratiquement le seul arsenal thérapeutique à disposition des guérisseurs traditionnels qui soignent dans certains cas plus de 90% de la population. Il est donc indispensable d'étudier ces plantes et de donner une base scientifique pour leur utilisation (Sofowora, 2010)

Les plantes médicinales sont extrêmement nombreuses. On estime que 13000 espèces de plantes médicinales ayant été utilisées pendant au moins un siècle comme remèdes traditionnels par diverses cultures dans le monde entier.

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques qu'elles synthétisent, des métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence, ceux-ci englobent des protéines, des lipides et des hydrates de carbone qui servent à la subsistance et à la reproduction de plus, elles synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires qui sont utilisés par l'homme dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des principes actifs connue par leurs divers activités biologiques(Small et Catling ,2000)

Dans ce contexte le présent travail est consacré à l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits de l'espèce *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  $\beta$  carotène (Simopolous et *al.*, 2005).

Le document est structuré en deux parties :

Une synthèse bibliographique, comportant :

- Un chapitre qui présente la plante *Portulaca oleracea* L.
- Un chapitre sur les métabolites secondaires.

Une partie expérimentale englobant l'extraction des différents extraits et l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

**Première partie**

**Partie bibliographique**

**Chapitre 01. Généralités  
sur la plante étudiée  
(*Portulaca oleracea* L.)**

### 1.1 Définition des plantes médicinales

Dans le code de la santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France "une plante" est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinale. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (Ghabrier, 2010).

### 1.2. Définition de phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: phuton qui signifie "plante" et thérapie qui signifie "traitement" (Gayet, 2013). La phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes. A la différence de la médecine classique, en phytothérapie, il est recommandé d'utiliser la plante entière, appelée aussi "Totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire (Vigan, 2012).

### 1.3. Description et caractéristique de la plante

*Portulaca oleracea* L. communément appelée pourpier, elle est connue sous le nom arabe « Redjila », se produit dans la péninsule arabique et les zones adjacentes (Chan et al, 2000), y compris Émirats Arabes Unis et Oman. Le pourpier est également consommé comme légume dans certains provinces de la Chine (Honggang et al.,2014) .La partie utilisée est la partie aérienne(tige, feuille) .Un membre de la famille des Portulacacées ,est l'un des 25 genres de plantes succulentes et arbustes de cette familles .Le genre *Portulaca* comprend environ 40 espèces de tropicales et des espèces de climat chaud. *Portulaca oleracea* L. est listé dans l' Organisation mondiale de la santé comme des plantes médicinales les plus utilisées et il a été donné le terme « Global Panacea» (Lim et Quah, 2006) .C'est une plante aux tiges rampantes longue de 10-30 cm (Belhadje Salah et Cheml, 2004) , pluricaule , à feuilles opposés, rondes ,épaisses fleurs jaunes (Figure 1), solitaires , 5 pétales libres avec 6-12 étamines,les grains sont ovales, très petites et généralement de couleur noire (Beloued,2009).



**Figure 1 .** Morphologie de la plante *Portulaca oleracea* L.

(Changizi et al 2013)

**\*Nom vernaculaire arabe**

- Regila
- Blabicha
- Brabra
- Bou el kazit

**\*Nom targui ou berbère**

- Arrhilem
- Bouguel
- Benderaech
- Tafrita (Beloued,2009)

Dans la région de Biskra, elle est connue sous le nom Berzguala.

**1.4. Classification botanique de *Portulac aoleracea* L.**

**1.4.1. Classification deCronquist1981**

La classification de Cronquist est une classification classique des angiosperme .Elle est peut-être la dernière version des classifications majeures basées sur les critères morphologiques, anatomiques et chimiques. Elle est encore plus ou moins utilisées dans certains ouvrages et bases de données (Jean-Francois, 2007).

*Portulaca oleracea* L.est classé selon Cronquist dans le tableau 1.

**Tableau 1:**Classification de *Portulaca oleracea* L.  
(Julve.,2014)

<b>Règne</b>	<b>Plantea</b>
<b>Sous-règne</b>	<b>Tracheobionta</b>
<b>Divison</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>Classe</b>	<b>Magnolipsida</b>
<b>Sous classe</b>	<b>Caryophyllidae</b>
<b>Ordre</b>	<b>Caryophyllales</b>
<b>Famille</b>	<b>Portulacaceae</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Portulaca</i></b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Portulaca oleracea</i> L. 1753</b>

### 1.5 Composition chimique de *Portulaca oleracea* L.

Le pourpier est signalé être riche en acide gras ,en particulier l'acide alpha linoléique (acide gras omega-3) dont la concentration dans le pourpier est le plus présent dans les légumes à feuilles ,polysaccharide, l'amidon ,tanins, glycoside d'antraquinone l'acide glutamique et l' $\alpha$ -tocophérol (Abdallah, 2010) ,triterpenoïde. Les travaux réalisée sur l'extrait méthanoïque ont permis l'isolement des composées phénoliques totaux qui sont capables d'inhiber l'activité des radicaux libres (Lim et Quah, 2007). Il contient plusieurs types de vitamines: Vit B( B1,B2) ,Vit C, et les minéraux tel que: le magnésium , le manganèse , le calcium, le potassium (Amirul et *al.*, 2014) ( Tableau 3) ,le fer ,le phosphore ,le zinc (Kmal Uddin et *al.*, 2014) .

Le pourpier contient de grandes quantités de L-noradrénaline (l- noradrénaline ; 0 ,25% en herbes fraiche) , une neurohormone vasopresseur et activités anti hypotensive et réduit une hémorragie au niveau tissulaire (Anthony et Dweck, 2001).

**Tableau 2:** Composition nutritionnelle.

Ciqual 2008 (valeur nutritive pour 100g)

<b>Pourpier, cru, feuilles</b>			
<b>eau</b> : 93,9 g	<b>cendres totales</b> : g	<b>fibres</b> : 0,9 g	<b>valeur énergétique</b> : 76,8 kJ
<b>protéines</b> : 1,3 g	<b>lipides</b> : 0,1 g	<b>glucides</b> : 3 g	<b>sucres simples</b> : 2,9 g
<b>Macroéléments et oligo-éléments</b>			
<b>potassium</b> : 494 mg	<b>magnésium</b> : 68 mg	<b>phosphore</b> : 44 mg	<b>calcium</b> : 65 mg
<b>sodium</b> : 45 mg	<b>cuivre</b> : 0,11 mg	<b>fer</b> : 1,99 mg	<b>sélénium</b> : 0,9 µg
<b>vitamines</b>			
<b>vitamine C</b> : 21 mg	<b>vitamine B1</b> : 40 µg	<b>vitamine B2</b> : 110 µg	<b>vitamine B3</b> : 480 µg
<b>vitamine B5</b> : 0 µg	<b>vitamine B6</b> : 70 µg	<b>vitamine B9</b> : 12 µg	<b>vitamine B12</b> : 0 µg

### 1.6 Habitat

*Portulaca oleracea* L. s'épanouit dans de nombreuses situations biogéographiques du monde, elle est adaptable aux conditions défavorables comme la sécheresse, la salinité et dans le sol présentant des carences en éléments nutritifs (Uddin et al., 2014).

En Algérie on trouve *Portulaca oleracea* L. dans les champs cultivés, jardins, cultures, et dans les cultures et décombres. Communs dans le tell, les hauts plateaux, Aurès et dans les oasis du Sud (Beloued, 2009).

### 1.7. Utilisation médicinale

*Portulaca oleracea* L. est riche en vitamine C, un antioxydant naturel qui peut jouer le rôle dans la protection contre le cancer du poumon et de la cavité buccale. Comme elle peut aussi avoir un effet protecteur contre le stress oxydatif causé par une déficience en vitamine C (Arruda et al., 2004). De plus cette plante est traditionnellement utilisée comme anti-

inflammatoire (yeux), anti diabétique, analgésique (tête), antibactérien, antifongique (Cherukuri et *al.*, 2013) ,diurétique ,et antiviral comme le traitement de l'hépatite viral.

*Portulaca oleracea* L. contient des molécules actives pour le traitement de certains maladies infectieuses parasitaires comme la trypanosomiase et leishmaniose (Costa et *al.*, 2007).Sa valeur médicinale est évidente lors de son utilisation pour le traitement des brûlures ,du mal de tête, et des maladies liée a l'intestin ,au foie, a l'estomac, la toux, a la diminution di souffle pulmonaire et à l'arthrite. Son utilisation comme tonique purgative et cardiaque, émoullient, relaxant musculaire le rend important dans la médecine traditionnelle (Kamal Uddin et *al.*, 2014).

Par ailleurs, Musa et al 2007, ont montré que *Portulaca oleracea* L. n'est pas toxique et ça jusqu'à des doses supérieures à 1,8 g/kg.

# **Chapitre 02. Les Métabolites secondaires**

### 2.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge et *al.*, 2002; Abderrazak et Joël, 2007). Exerçant un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température...etc). Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes) (Raven et *al.*, 2000).

Sur le plan pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux, et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale (Newman et Cragg, 2012).

### 2.2. Classement des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, Ils appartiennent à trois grandes familles :

- Les composés aromatiques ou poly phénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins) et les quinones.
- Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes (Merghem, 2009).

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Bruneton, 1993).

#### 2.1.1 Polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Bruneton, 1999). La grande majorité de composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique formé par la voie du shikimate (Gorham, 1977). Sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. Chimiquement, ils sont réactifs et donnent souvent lieu à des liaisons hydrogènes, ou chélater des métaux pour les O-dihydroxyphénols (catéchol); Enfin, ils sont sensibles à l'oxydation (Gorham, 1977).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

### **2.1.1 .1. Classification des composés phénoliques**

La classification de ces substances a été proposée par Harborn (1980). On peut distinguer les différentes classes des poly phénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, principales classes sont largement répandues (Macheix et *al.*, 2006).

#### **2.1.1 .1.1. Poly phénols monomériques**

##### **A. Acides phénoliques**

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Haslam, 1994). Ils se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) (Pandey et Rizvi, 2009).

##### **Remarque**

Les acides hydrox cinnamiques sont plus fréquents que les acides hydrox benzoïques et comprennent essentiellement l'acide p -coumarique, caféique, férulique et sinapique (Pandey et Rizvi, 2009).

##### **B.Flavonoïdes**

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Benhamoud, 2011). En 2003, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grunhage, 2003). Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux, ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances (Heller et Forkmann, 1993). Ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (Cycle C) (Figure 2) (Akroum, 2011).

#### **2.1.1.1.2. Polyphénols sous forme de polymères**

##### **A. Tanins**

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Kamra et *al.*, 2006). Ces composé naturellement produits par les plantes se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (Mangan, 1988 Mcsweeney et *al.*, 2001, Makkar, 2003). Grâce à la présence de

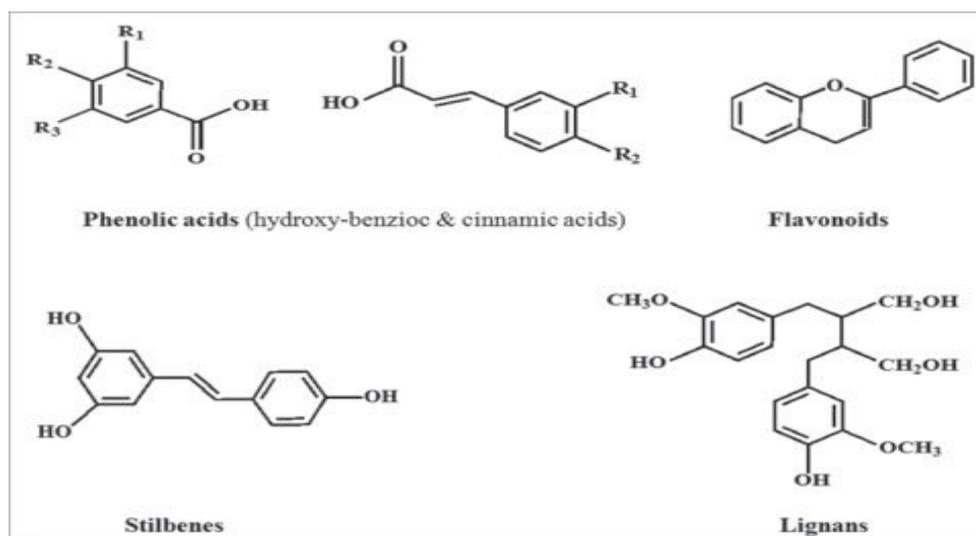
plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (Khenaka, 2011), Aussi à d'autre polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Haslam, 1998).

Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacée, les Rosacée (Ghetherm et *al.*, 2001). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (Khanbabae et Ree, 2001). En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Rira, 2006).

### B. Lignines

C'est l'un des polymères bio sources les plus abondants sur Terre, elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles. C'est également le polymère aromatique naturel le plus abondant (Privas, 2013). Subissant les contraintes de la gravité, la lignine est apparue afin notamment de rigidifier les parois cellulaires (Cruz et *al.*, 2001).

Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (Murry et *al.*, 1982).



**Figure 2.** structure chimique des poly phénol

(Ribau-Gayon, 1968)

### 2.1 .2 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (Schauenberg et Paris, 2005). Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (Hess, 2002). Ils peuvent être présents dans tous les organes (Ziegler et Facchini, 2008). Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue (Roux et Catier, 2007).

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Ziegler et Facchini, 2008).

### 2.1 .3. Terpénoïdes

Appelés aussi terpènes, constituent une vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Hellal, 2011). En effet les plantes synthétisent plus de vingt-deux milles dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (Conolly, 1992). Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale ( $C_5H_8$ ) (Seenivasan., 2006) c'est-à-dire leur particularité structural la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (Hernandez-Ochoa, 2005).

Les précurseurs de tous les isoprénoïdes, le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère allylique pyrophosphate diméthylallyl (DMAPP), avec près de 40 milles structures moléculaires (Yu et Utsumi, 2009). Ils constituent une importante classe de produits secondaires, hydrophobes quelquefois volatils et unis par une origine commune (Seaman, 1982).

### 2.3. Activité antibactérienne

Correspond à la capacité d'une molécule ou d'un composé présent au sein d'un végétal a très faible concentration, d'inhiber le développement d'une bactérie ou la tue.

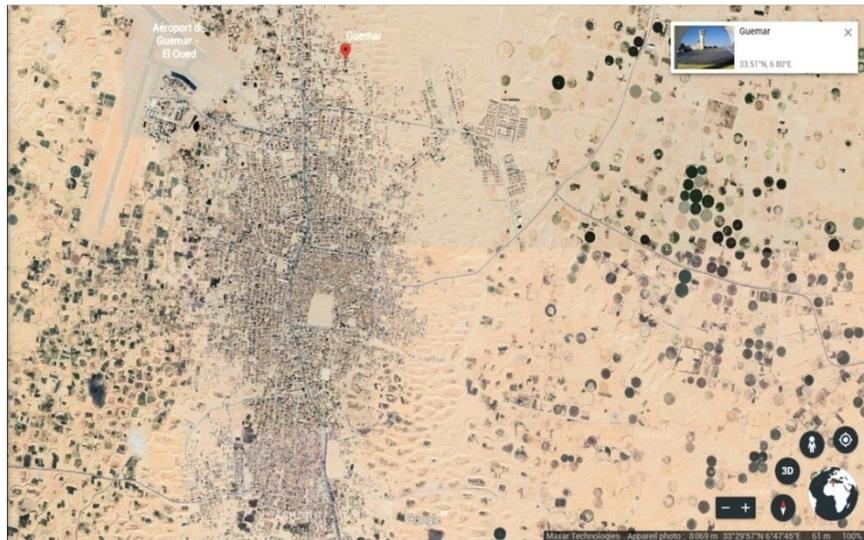
La sensibilité d'une bactérie a un antibactérien vari selon la nature de l'antibactérien, L'activité antimicrobienne a été réalisée contre les microorganismes pathogènes fréquent qui causent des problèmes dans les milieux médicaux et champs de nourriture. Grace à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens (Taous, 2009).

**Deuxième partie**  
**Partie expérimentale**

# **Chapitre 03. Matériel et méthodes**

Le présent travail a pour objectif la valorisation de l'espèce *Portulaca oleracea* L. qui est cultivé dans la région du Sahara Algérien. Les expérimentations ont été réalisées comme suit :

L'extraction des extraits et l'évaluation de l'activité antibactérienne ayant été effectuée au niveau du laboratoire du Centre de Recherche Scientifique et Techniques sur les Régions Arides (CRSTRA), Biskra.



**Figure 3.** la carte géographique de commune de Guemar

### 3.1. Matériel végétal

Nous avons récoltes les parties aériennes de *Portulaca oleracea* L. de la région d'Oued Souf à l'Est-Sud Algérien (commune de Guemar).

### 3.2. Méthodes

#### 3.2.1. Séchage et broyage

La plante a été récoltée pendant la période de floraison durant le mois de Mars 2019 à la commune de Guemar de la région d'Oued Souf (Algérie). Après le lavage, la plante est mis à sécher dans un endroit sec et aéré. Les matières végétales doivent être étalées en fines couches sur des claies et mélangées ou retournées fréquemment presque de 20 jours en moyenne. Les feuilles sèches sont ensuite finement broyées et conservées dans une bouteille de verre. (Figure 4) (Lahmari et *al.*, 2012)



**Figure 4.** les différentes étapes d'obtention de la poudre de *Portulaca oleracea* L.

### 3.2.2. L'extraction

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales.

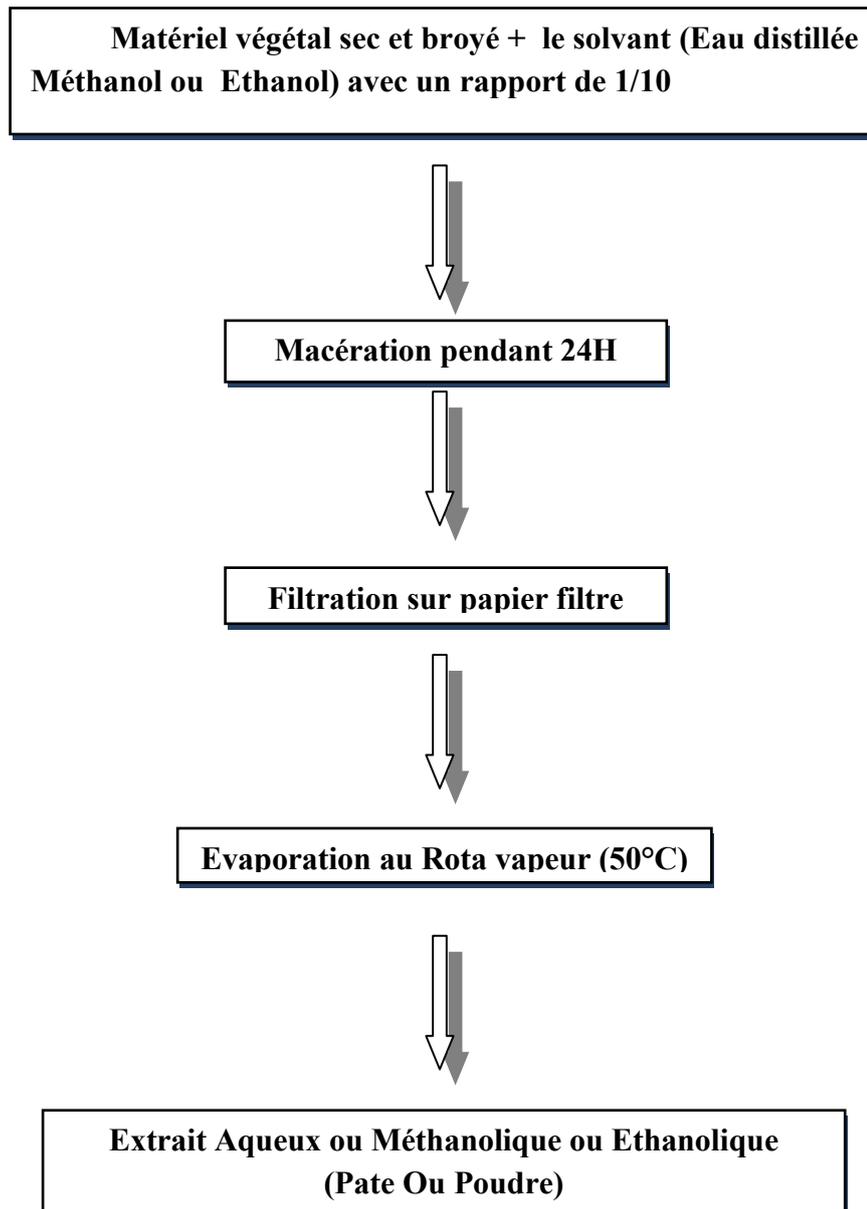
Dans notre étude, l'extraction est effectuée par l'utilisation des solvants organique à polarité Méthanol , l'éthanol et l'eau par macération pour l'extraction des principes actifs à partir de la plante de *Portulaca oleracea* L.(Figure 5)



**Figure 5.** les différents extraits préparés

### **Extraction assistée par macération (EAM)**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue mais elle présente un rendement souvent médiocre, (Leybros Et Fremeaux, 1990) (Figure6).



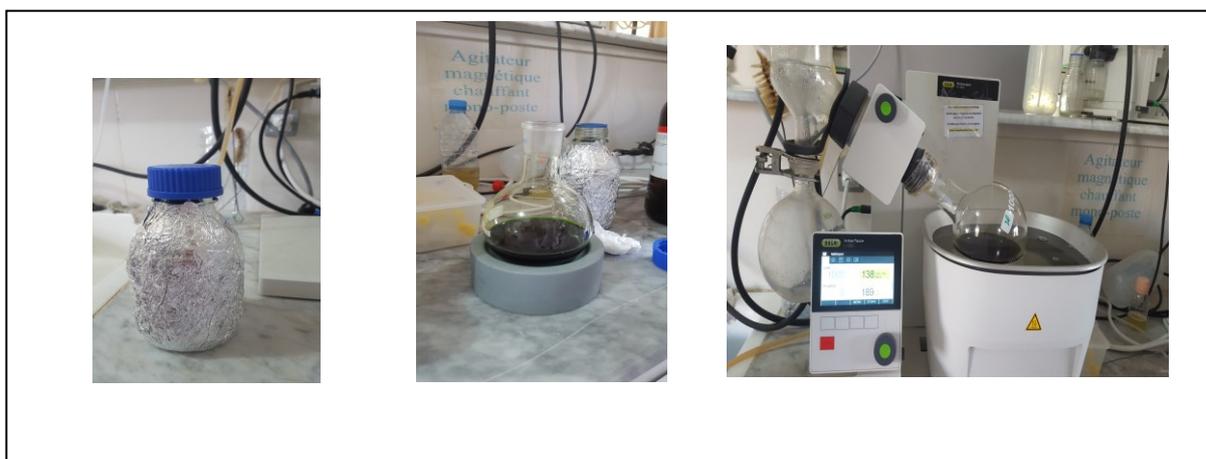
**Figure 6.** Protocole de préparation de l'extrait par macération.

### 3.2.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

La macération consiste à émerger 20g de poudre de *Portulaca oleracea* L. dans 200 ml de l'eau distillée, pendant 24 heures.

Ensuite, la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un Rota vapeur à une température de 40°C. (Figure 7)

La solution obtenue est séchée dans l'étuve ventilé (45°C) pendant 24H pour obtenir une poudre ou patte qui est conservée à 4°C jusqu'à son utilisation. (Khosravi et *al.*, 2013).



**Figure 7 .** Evaporation de l'extrait par le Rota Vapeur.

### 3.2.2.2. Préparation de l'extrait méthanolique

La macération consiste à émerger 30g de poudre de *Portulaca oleracea* L. dans 300 ml de méthanol (95%), pendant 24 heures.

Ensuite, la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un Rota vapeur à une température de 50°C.

La solution obtenue est séchée dans l'étuve (45°C) pendant 24H pour obtenir une poudre ou patte qui est conservée au 4°C jusqu'à son utilisation. (Khosravi et *al.*, 2013).

### 3.2.2.3- Préparation de l'extrait éthanolique

La macération consiste à émerger 20g de poudre de *Portulaca oleracea* L. dans 200 ml de l'éthanol (95%), pendant 24 heures.

Ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un Rota vapeur à une température entre 40 et 50°C.

La solution obtenue est séchée dans l'étuve (45°C) pendant 24H pour obtenir une poudre ou pâte qui est conservée au 4°C jusqu'à son utilisation (Khosravi et *al.*, 2013).

### 3.2.3- Détermination de rendement

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R (\%) = (P1-P2) / P3 \times 100$$

Où :

**R**: est le rendement en %;

**P1** : Poids du ballon après évaporation ;

**P2** : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide) ;

**P3** : Poids de la matière végétale de départ en g (Falleh et *al.*, 2008).

### 3.2.4-Analyse quantitative des composées phénoliques

#### 3.2.4.1- Dosage des polyphénols totaux :

- Principe

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par Singleton et Ross,(1965) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène.

- Mode opératoire

- Un volume de 200 µl de chaque extrait est mélangé avec 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu ;
- Après 5 min, ajouter 800 µl de la solution de carbonate de sodium à 7.5%;
- le tout est agité par un vortex ;
- Le mélange obtenu est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 2heures;
- la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.
- Un courbe étalon est réalisé en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations.

#### 3.2.4.2. Dosage de Flavonoïdes totaux

L'estimation quantitative des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Portulaca oleracea* L. est réalisée suivant une méthode colorimétrique du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (Kosalec et al., 2004) avec modification légère, on met 1ml d'extrait et on ajoute 1ml d' $AlCl_3$  à 2% puis le mélange est vigoureusement agité, après 6 minutes on ajoute 800  $\mu$ l de NaOH(1M).

L'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard Quercétine. La teneur en flavonoïde est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

#### 3.2.4.3 - Dosage des tanins condensés (TCs)

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TCs et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985). Un volume de 50 $\mu$ l de chaque extrait a été ajouté à 1500 $\mu$ l de la solution vanilline (4%), puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750  $\mu$ l de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage est réalisée par la catéchine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats obtenus sont exprimés en  $\mu$ g équivalent catéchine par milligramme de la matière sèche  $\mu$ g EC / mg MS.

#### 3.2.5. Activité antibactérienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Portulaca oleracea* L. nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé. Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme, c'est-à-dire l'application des disques imprégnés de principes actifs sur des milieux de culturesensemencés de microorganismes.

L'activité antimicrobienne, quand elle est présente, se manifeste alors par des zones d'inhibition autour des disques.

➤ **Milieu de cultures**

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antibactériens sont les suivants:

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactérienne.
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries à l'extrait de la plante (Boudjouref ., 2011).

➤ **les Souches bactériennes**

Les souches bactériennes choisis pour cette étude sont des bactéries pathogènes impliquées fréquemment dans la contamination et l'altération des denrées alimentaires (Tableau 3).

**Tableau 3:** Les souches bactériennes utilisées pour l'activité antibactérienne

<b>Bactéries</b>	<b>Souches</b>	<b>Références</b>
<b>Gram positif</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 14579
	<i>Listeria monocytogénèse</i>	ATCC 35152
<b>Gram négatif</b>	<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 33090
	<i>Salmonella</i>	ATCC 14028
	<i>Klebsiela pneumoniae</i>	ATCC 14352

➤ **Antibiotique**

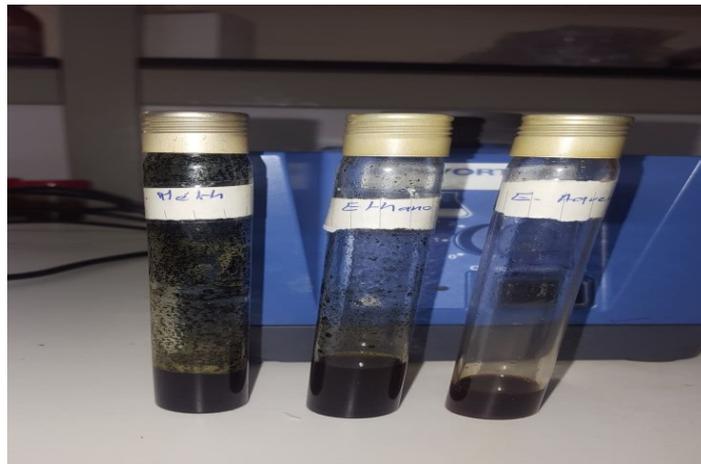
Pour valoriser l'activité antibactérienne, on utilise l'antibiotique Gentamicine (Figure8) pour faire le contrôle positif.



**Figure 8.** l'antibiotique Gentamicine

### 3.2.5.1. Préparation des dilutions de l'extrait de la plante :

L'extrait de la plante a été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec dilutions successives. Nous dissolvons 250 mg d'extrait éthanolique dans 1 ml de DMSO à 20% et 1 g d'extrait méthanolique et aqueux dans 2 ml de DMSO à 20% et les bien agité dans le vortex pendant 15 min pour l'obtention d'une préparation homogène (Figure 9).



**Figure 9.** les dilutions de l'extrait de la plante

### 3.2.5.2. Préparation de pré-culture

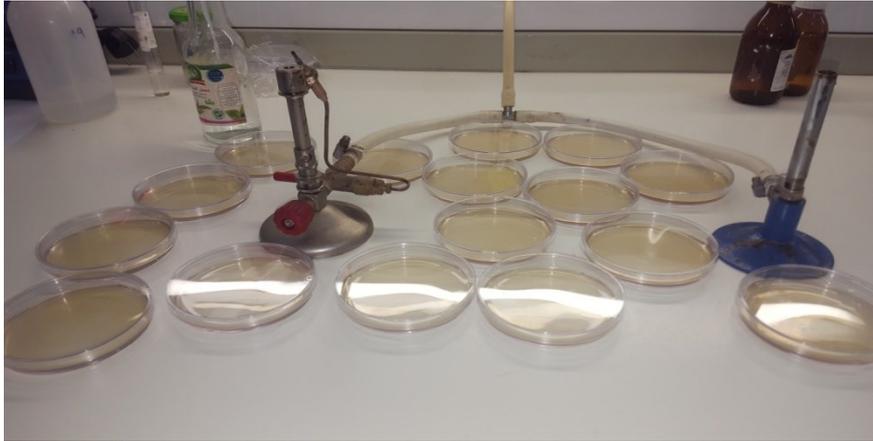
Nos bactéries sontensemencées à partir du brouillon nutritif (B N) sur des boites de pétri contenant une gélose (GN) puis incubées pendant 24 h à 37°C pour obtenir des colonies jeunes.

### 3.2.5.3. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier d' wattman, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation.

### 3.2.5.4. Préparation le milieu de culture

On met le stérilisation et la surfusion de milieu de culture (Muller Hinton) à l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C, puis on le verser dans les boites de Pétri à 4 mm d'hauteur et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification (Harrar, 2012)(Figure 10).



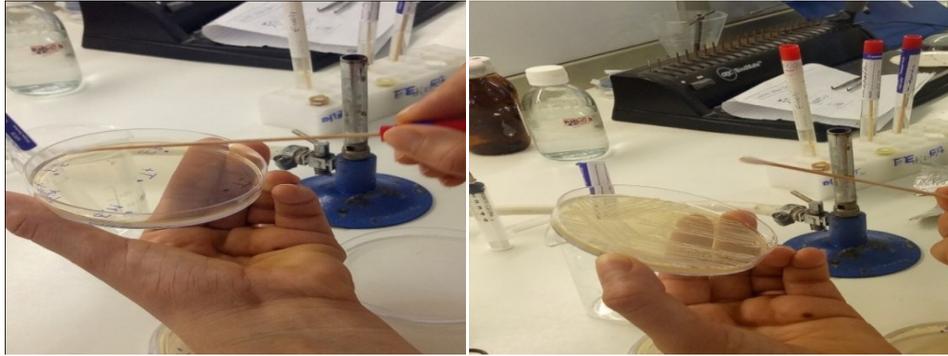
**Figure 10** . Préparation le milieu de culture

#### **3.2.5.1. 5. Inoculum**

Après incubation de 24h à 37°C, on a choisit 2 à 3 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube contenant 5 ml de l'eau physiologique (Athamena, 2009), bien mélangé avec agitation à vortex.

#### **3.2.5.1. 6 .Ensemencement**

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec Benzène;
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse);
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas;
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose;(Figure11)
- Les disques stériles imprégnés dans les différentes concentrations d'extrait de la plante de 10 µl par disque, ont été déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de gélose au bec Benzène (3 disques de l'extrait et 1 disque de l'antibiotique et 1 disque négatif) (Figure 12) (Djelloul Daouadji, 2010).
- Finalement, les boîtes de Pétri ont été incubées 24h à 37°C (Athamna.,2009).



**Figure 11** . l'ensemencement des bactéries.



**Figure 12.** Disposition des disques d'extrait et d'antibiotique dans la boîte.

### **3.2.5.7. Incubation et Lecture**

Après incubation 24 heures à 37°C dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition.

### **3.2.5. 8 .Expression des résultats**

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, par les différentes concentrations de l'extrait autour des disques, la mesure est réalisé au verso des boites de Pétri (Athamna, 2009).

Les résultats expérimentaux sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart type (trois répétition pour chaque essai).

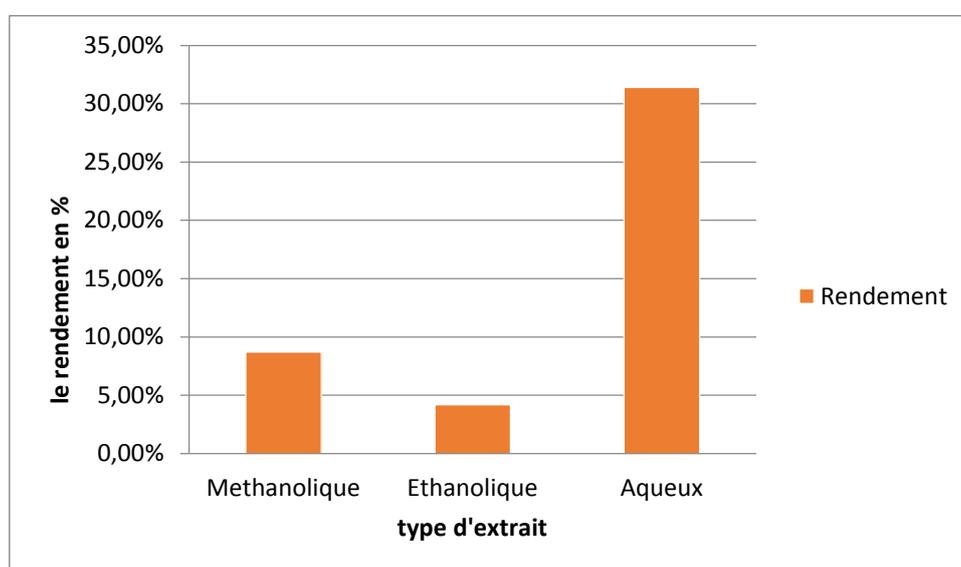
# **Chapitre 04.**

## **Résultats et discussion**

#### 4.1 Le rendement d'extrait

Les extraits obtenus présentent un aspect pâteux de couleur vert foncé. Le rendement d'extraction de la partie aérienne de la plante *Portulaca oleracea* L. a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les données obtenues montrent que les rendements sont variables selon le type de solvant utilisé (Figure 13).

L'extrait aqueux présente le rendement le plus élevé 31.39% et 8.71% pour l'extrait méthanolique, et l'extrait éthanolique présente le pourcentage le moins important 4.1%.



**Figure 13.** Histogramme du rendement des différents extraits de *Portulaca oleracea* L.

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs à savoir le temps, la température et la nature chimique de l'échantillon ainsi que la localisation géographique, la durée de stockage, la génétique, le climat et aussi la période de récolte semble avoir un impact direct sur le rendement (Faten et al., 2012).

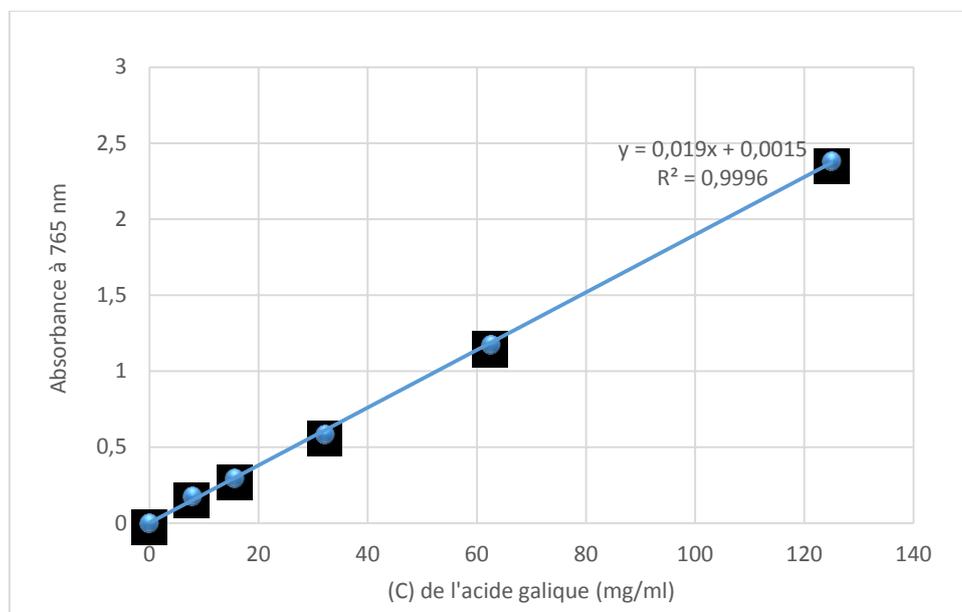
La variation du rendement au sein de la même espèce par rapport au solvant est due à la solubilité des composants chimiques dans les différents solvants (Teugwa et al., 2014).

## 4.2 Dosage des polyphénols totaux

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins condensés sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en mg équivalent d'acide gallique et mg équivalent de Quercétine et mg équivalent de catéchine par mg de la matière sèche.

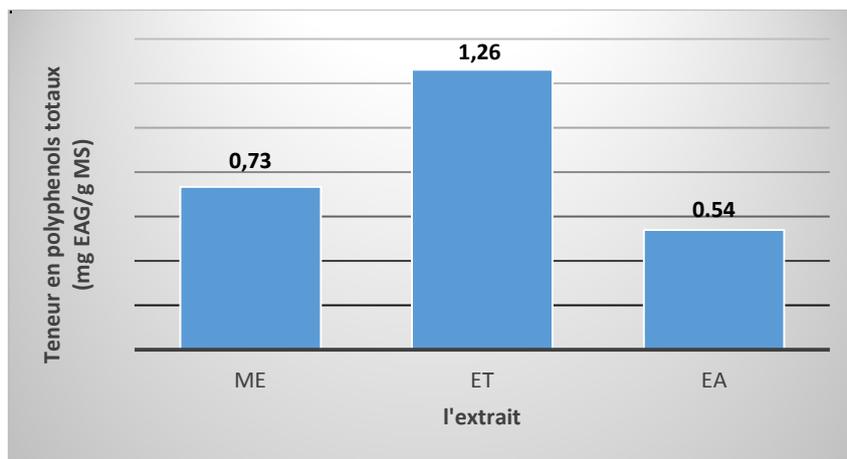
### 4.2.1 Dosage des polyphénols

Les teneurs en phénols totaux de l'espèce étudiée ont été déterminées en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu selon la méthode de Singléton et Rossi (1965) in Wong et al (2006). La droite d'étalonnage a été tracée en utilisant l'acide gallique comme standard, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 765 nm. Les essais ont été réalisés en triplet et la concentration des composés phénoliques totale était déterminée à partir de la droite d'étalonnage de la Figure 14.



**Figure 14.** Droite d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

La quantité des polyphénols dans les extraits est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par 1g d'extrait sec. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 15.



**Figure 15.** Teneur des extraits en poly phénols totaux en mg EAG/G ES .

Les résultats ont montré une variabilité en fonction de solvant. On remarque d'après l'histogramme de la figure 15 que la teneur en poly phénols varie entre 0,54 et 1,26 mg EAG/G ES. L'extrait le plus riche en polyphénols est l'extrait éthanolique avec  $1,26 \pm 0.13$  mg EAG/G ES, suivi de l'extrait méthanolique avec  $0,73 \pm 0.037$  mg EAG/G ES, et en fin l'extrait aqueux avec  $0.54 \pm 0.007$  mg EAG/g ES.

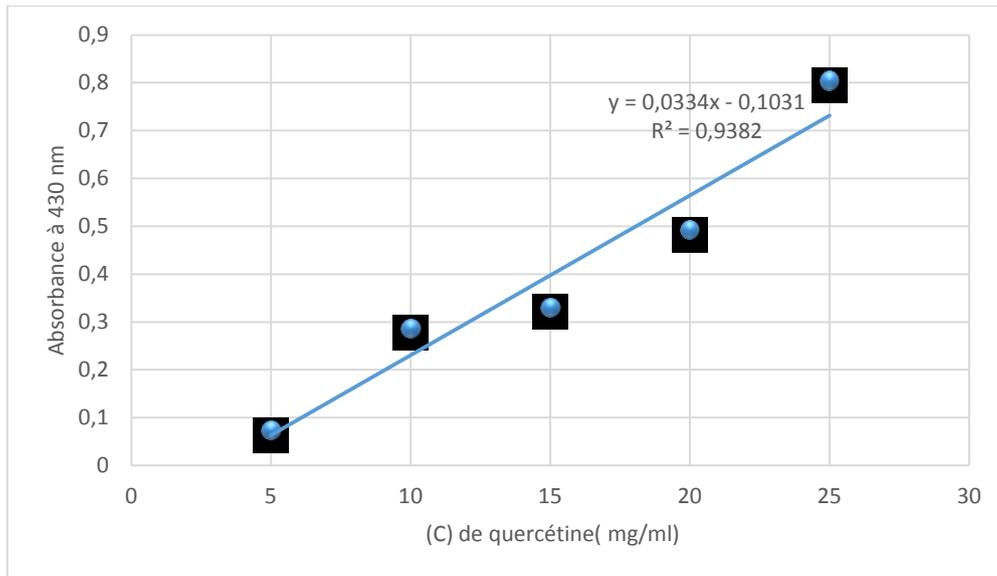
La différence entre la teneur en polyphénols des différents solvants s'explique par la différence en solubilité de ces composés dans les solvants extracteurs choisis, sachant que les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires (Macheix et *al.*, 2005).

Ces valeurs sont supérieures à ceux obtenues par Uddin et ces collaborateurs, qui ont obtenus des concentrations de  $1,428 \mu\text{g EAG/mg ES}$  pour l'extrait aqueux,  $2,768 \mu\text{g EAG/mg ES}$  pour l'extrait hydroéthanolique et  $3,603 \mu\text{g EAG/mg ES}$  pour l'extrait méthanolique (Uddin *et al.*, 2012a).

#### 4.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

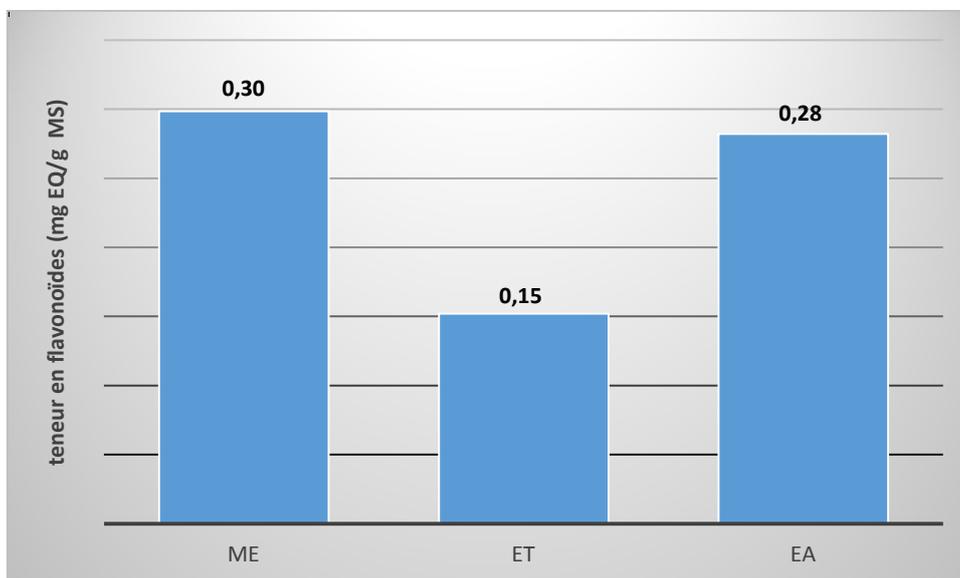
L'estimation des teneurs en flavonoïdes se fait selon la méthode de chélation de l'Aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (Djeridane et *al.* 2006).

La droite d'étalonnage a été tracée en utilisant la Quercétine comme standard, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 430 nm. Des essais sont réalisés en triplicata et la concentration des flavonoïdes totaux était déterminée à partir de la droite d'étalonnage de la Figure 16.



**Figure 16.** Droite d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

La quantité des flavonoïdes dans les extraits est exprimée en milligramme équivalent d'acide Quercétine par 1g d'extrait sec. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 17.



**Figure 17.** Teneur des extraits en flavonoïdes totaux en mg EQ/g ES .

Les résultats ont montré une variabilité en fonction de solvant. On remarque d'après l'histogramme de la figure que la teneur en flavonoïdes varie entre 0,15 et 0.30 mg EQ/g ES. L'extrait le plus riche en flavonoïdes est l'extrait méthanolique avec

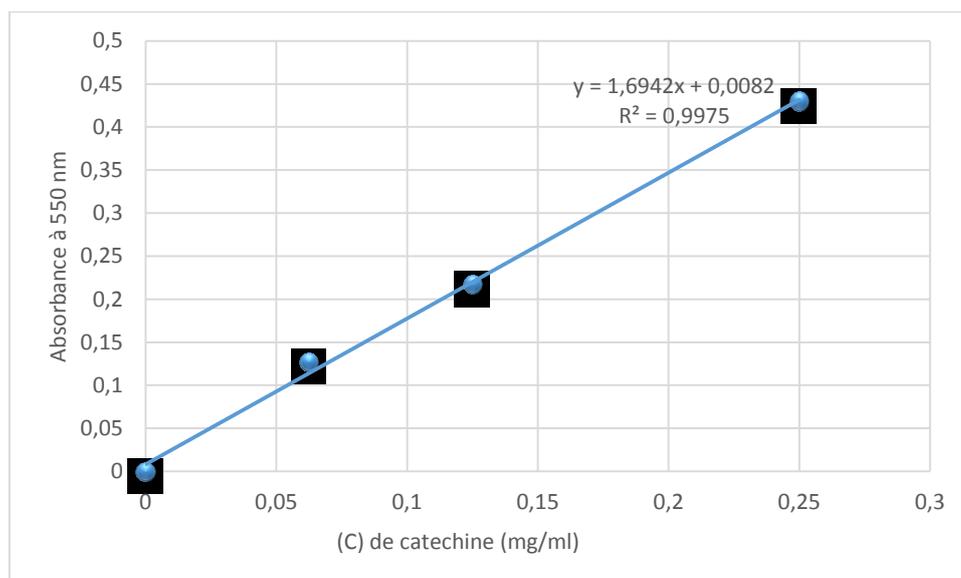
0.30±0,003mg EQ/g ES, suivi de l'extrait aqueux avec 0,28±0,001 EQ/g ES et en fin l'extrait éthanolique avec 0,15±0,001mg EQ/g ES.

D'après Guenzat, (2012) les résultats du dosage des flavonoïdes dans l'extrait aqueux lyophilisé de *Portulaca oleracea* L. été estimés de 0,14µg EC/mg d'extrait sec, qui est un taux faible comparé avec nos résultats.

#### 4.2.3. Dosage des tanins condensés

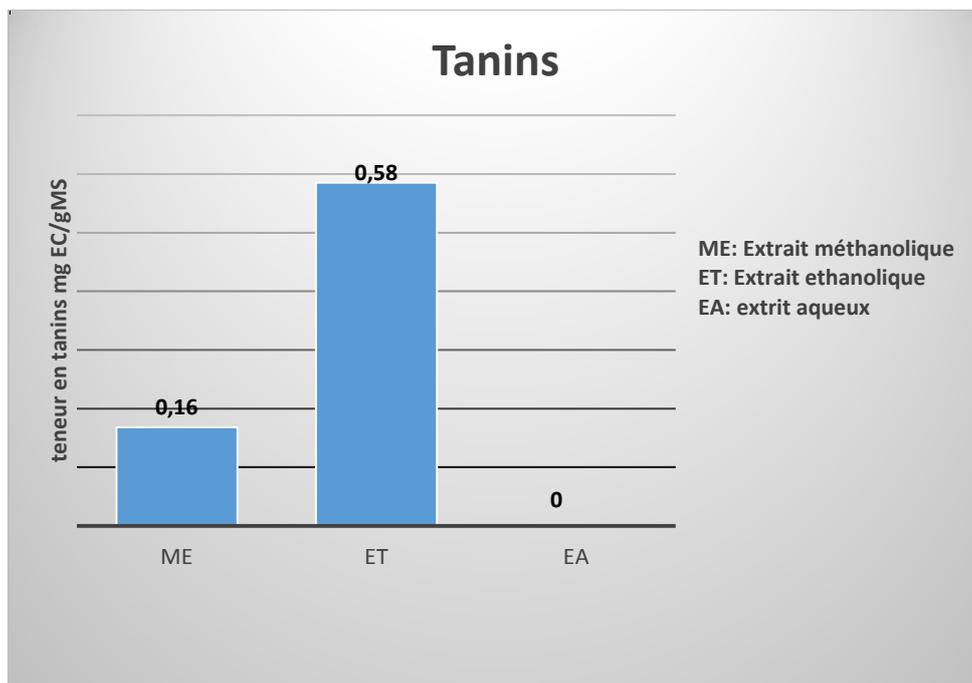
L'estimation des teneurs en tanins condensés de l'espèce étudiée ont été déterminées en utilisant le réactif de vanilline.

La droite d'étalonnage a été tracée en utilisant la catéchine comme standard, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 550 nm. Des essais sont réalisés en triplicata et la concentration des flavonoïdes totaux était déterminée à partir de la droite d'étalonnage de la Figure 18.



**Figure 18.** Droite d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

La quantité des flavonoïdes dans les extrait est exprimée en milligramme équivalent d'acide la catéchine par 1g d'extrait sec. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 19.



**Figure 19.** Teneur des extraits en tanins condensés totaux en mg EAC/g ES .

Les résultats ont montré une variabilité significative en fonction de solvant. On remarque d'après l'histogramme de la figure que la teneur en tanins condensés varie entre 0 et 0.58 mg EC/g ES. L'extrait le plus riche en tanins condensés est l'extrait éthanolique avec  $0,58 \pm 0,007$  mg EC/G ES, suivi de l'extrait méthanolique avec  $0,16 \pm 0,001$  mg EC/g ES, et en fin l'extrait aqueux avec 0 mg EC/g ES.

#### 4.3. Test de l'activité antibactérienne

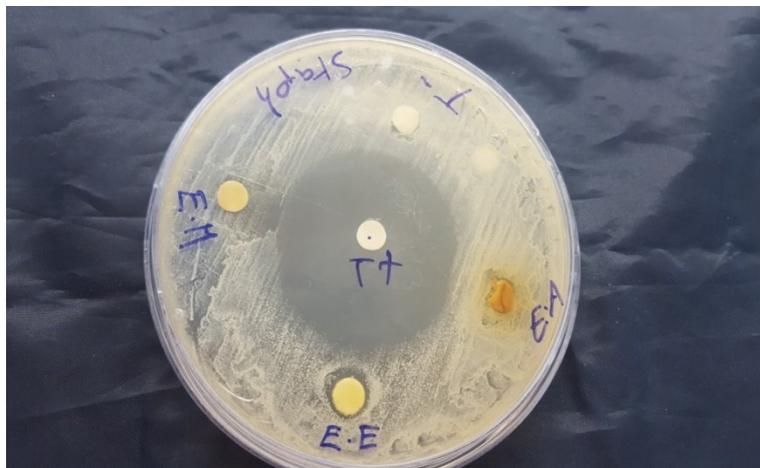
L'activité antibactérienne de l'extrait de *Portulaca oleracea* L. a été évaluée dans cette étude par la technique de diffusion en milieu gélosé par l'antibiogramme (méthode des disques) vis-à-vis six souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogénèse*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, et *Klebsiela pneumoniae*)

La méthode de disque a permis de déterminer l'action de l'extrait de la plante dissout dans le DMSO sur les différentes souches, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprègne de l'extrait. On a utilisé la Gentamicine comme antibiotique de référence, et le DMSO comme témoin négative.

Selon Konan et *al.* 2014, les diamètres des zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne sont rangés en 4 classes à savoir:

- ❖ Non sensible (-) ou résistante diamètre : <7mm

- ❖ Sensible (+): diamètre compris entre 8-14mm
- ❖ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15-20 mm
- ❖ Extrêmement sensible (+++) : diamètre >20 mm



**Figure 20.** activité antibactérienne de la souche *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'activité antimicrobienne des trois extraits de la plantes étudié se varie d'une souche à autre et d'un extrait à autre (Figure20 ) qui montrent que l'extrait aqueux (EA) de *Portulaca oleracea* L., présente l'activité antibactérienne la plus importante, vis-à-vis de *Klebsiela pneumoniae* dont le diamètre de la zone d'inhibition de sensibilité est de 11,5mm puis l'extrait méthanolique (EM) vis -à-vis *Listeria monocytogénèse* avec le diamètre 9,5mm ,par contre plusieurs souches sont non sensibles ou résistantes telle que (*Klebsielapneumoniae* ,*Salmonella*,*Vibrio cholerae*) dans l'extrait éthanolique ( EE) dont le diamètre de la zone d'inhibition de sensibilité est 6mm .

#### 4.5. Résultats selon l'extrait:

##### 4.5.1 Extrait aqueux (EA)

Les diamètres de la zone d'inhibition de sensibilité des souches se varie entre 6 et 11,5 mm cela signifie une forte activité antibactérienne avec *Klebsiela pneumoniae* et sans effet avec les souches *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus* (Figure 21).

#### 4.5.2. Extrait méthanolique (EM)

Les diamètres de la zone d'inhibition de sensibilité des souches se varient entre 6 et 9,5 mm que signifie une forte activité antibactérienne avec *Listeria monocytogénèse* et sans effet avec la souche *Bacillus subtilus* (Figure 21).

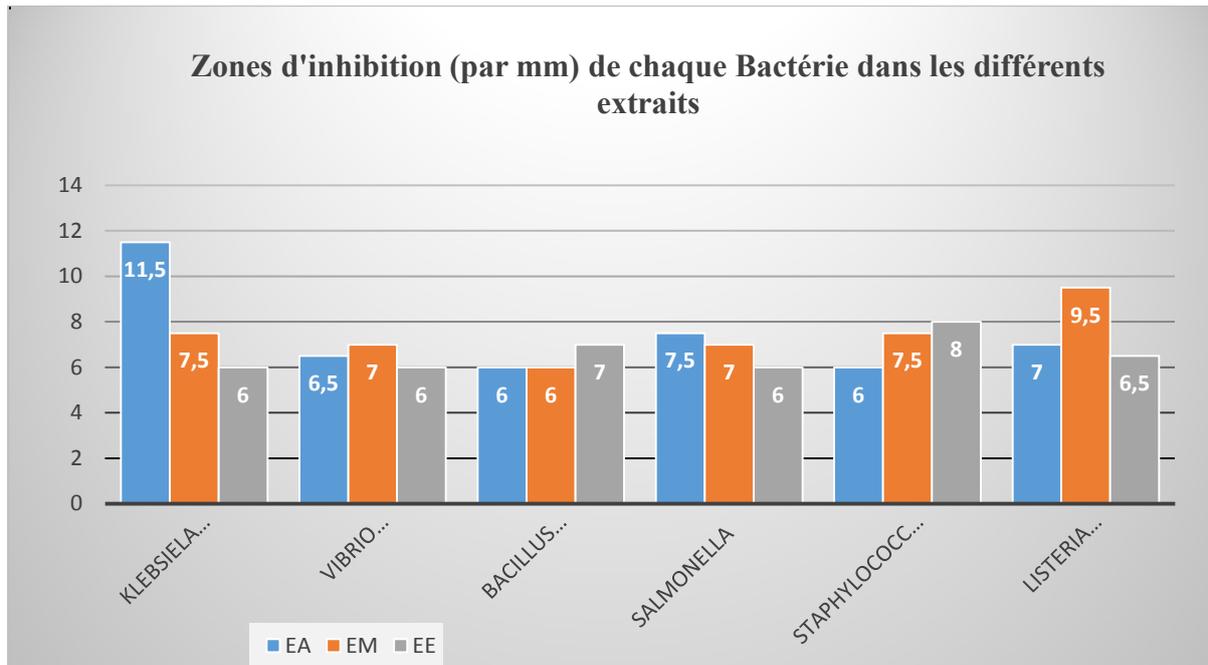
#### 4.5.3 Extrait éthanolique (EE)

Les diamètres de la zone d'inhibition de sensibilité des souches se varie entre 6 et 8 mm que signifie une activité antibactérienne avec *Staphylococcus aureus* et sans effet avec les souches *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiela pneumoniae*.

D'après les résultats, on remarque que l'activité antibactérienne varie d'une souche à autre, et qui peut être importante, faible ou nulle suivant l'extrait et la sensibilité de la souche soit Gram (-) comme *Klebsiela pneumoniae* qui a une forte activité avec EA et nulle avec EE, ou Gram(+) positif comme *Listeria monocyto génèse* qui a une activité importante avec EM et nulle avec EE. Selon Turkmen et al (2007), les bactéries Gram(+) sont plus sensibles que les bactéries Gram (-), cette sensibilité peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries. Les bactéries Gram (-) possèdent une couche additionnelle à la membrane externe ; qui se compose de phospholipides, des protéines et des lipopolysacharides, cette membrane est imperméable à la plus part des molécules.

L'inactivité trouvée dans notre travail, avec quelques souches tel que *Vibrio cholerae* vis-à-vis les trois extrait (EE, EM et EA), *Bacillus subtilus* avec les deux extrait EA et EM, *Salmonella* et *Klebsiela pneumoniae* avec EE dépend de la composition importante des extraits de cette plante en composés phénoliques (Figure 21) et probablement à plusieurs facteurs, parmi lesquels :

- le procédé et les conditions d'extraction
- la nature du matériel d'extraction (risque d'oxydation)
- les conditions de conservation, de stockage et de transport
- la concentration en extrait utilisée
- la diffusion des extraits à travers la gélose
- l'état physiologique de la bactérie, etc



**Figure 21.** Zones d'inhibition (par mm) de chaque Bactérie dans les différents extraits.

# **Conclusion**

## Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude de l'activités biologiques (anti- oxydante et anti - bactérienne) des extraits brut préparés par une méthodes d'extraction (macération) d'une espèce médicinales *Portulaca oleracea* L. de la famille Portulacaceae collectée au Sahara septentrional Est Algérien (la région de Oued Souf),

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements qui sont différentes en fonction des solvants utilisés (31,39 % pour l'extrait aqueux et pour l'extrait méthanolique et 2,61% pour l'extrait éthanolique, 81%).

La teneur en polyphénols totaux pour les trois extraits a été estimée par la méthode Colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique de *Portulaca oleracea* L. par macération est le plus riche; suite de l'extrait contient 1.26 mg méthanolique et enfin l'extrait aqueux. Tandis que le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), les résultats montrent que l'extrait méthanolique est le plus riche de l'extrait aqueux puis l'extrait méthanolique; la quantification des tanins condensées est faite par méthode à la vanilline avec l'Hcl et montre quel 'extrait éthanolique contient une quantité importante suite de l'extrait méthanolique et en fin l'extrait aqueux ne contient pas .

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur six souches bactériennes, selon la méthode sur diffusion de disque, les résultats montrent une variation de sensibilité des souche étudiées vis-à-vis au différents extraits de la plante, un maximum d'inhibition sur *Klebsiela pneumoniae* (zone d'inhibition de 11,5 mm) vis-à-vis l'extrait aqueux et un minimum d'inhibition sur *Bacillus subtilus* et *Staphylococcus aureus* (zone d'inhibitions de 6 mm)vis-à-vis l'extrait éthanolique.

Ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante et antimicrobienne de cette plante.

Comme perspectives nous recommandons les points suivant :

- Travailler sur des molécules pures et isolé de cette espèce afin de tester leur activités antioxydante ;
- Elargir les recherches sur d'autres molécules que les phénols, telles que les alcaloïdes et les terpènes ;
- Réaliser d'autres activités biologiques, telle que l'activité antifongique et antidiabétique.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- 2- Akroum S., 2011- Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine. Algérie. 113 p.
- 3- Amirul A., Abdul Shukor J., Rafii M.Y., Azizah A.H., Abdul H., 2014- Morpho-physiological and mineral nutrient characterization of 45 collected Purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions. *Bragantia*. Vol.73 (4): 253.
- 4-Anthony C. Dweck F., 2001- Purslane (*Portulaca oleracea*) - the global panacea *Personal Care Magazine*. Vol . 2(4): 7-15.
- 5-Barakat L.A., Mahmoud R.H., 2011- The antiatherogenic, renal protective and immunomodulatory effects of purslane, pumpkin and flaxseeds on hypercholesterolemic rats. *N Am J Med Sci*. Vol . 3(9): 411-417.
- 6-Bel hadj Salah K., Chemli R., 2004- Variabilité phénotypique de quelques populations de Pourpier (*Portulaca oleracea* L.) en Tunisie. *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*. Vol. 151(1): 111-119.
- 7-Benhammou N., 2011- Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen. Algérie. 113 p.
- 8-Beloued A., 2009- Plante médicinales d'Algérie. Ed. Elsevier Masson, Alger. 174
- 9- Boizot N., Charpentier J.P., 2006- Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. Pp79-82
- 10-Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C., 1995 Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. Vol. (28):25-30.
- 11-Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Technique et documentation. Paris: Lavoisier.
- 12-Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie -Plantes médicinales (3è éd)*. Paris: Techniques et documentations.

- 13-Chang C.L., Seo T., Matsuzaki M., Worgall T.S., Deckelbaum R.J., 2009- n-3 fatty acids reduce arterial LDL-cholesterol delivery and arterial lipoprotein lipase levels and lipase distribution. *ArteriosclerThrombVascBiol.* Vol. 29(4):255-561.
- 14-Changizi A.S., Zarei A., Taheri S., Rasekh F., Ramazani M., 2013- The Effects of *Portulacaoleracea* Alcoholic Extract on Induced Hypercholesterolemia in Rats. *Zahedan J Res Med Sci.* Vol. 15(6): 34-39.
- 15-Cherukuri V.C., Anusha M., Naresh K., Ranjith K., Elumalai .A., 2013- A review on phytochemical and pharmacological profile of *Portulacaoleracea* Linn. (purslane). *IJRAP.* Vol.4(1):34-36.
- 16- Connolly JD., Hill RA., 1992- dictionary of terpenoids. Ed. Chapman and Hall. CRC Press, New York. USA. 2156p.
- 17- Costa JF, Kiperstok AC, David JP, David JM, Giulietti AM, de Queiroz LP, dos Santos RR et Soares MB; 2007. Anti-leishmanial and immunomodulatory activities of extracts from *Portulacahirsutissima* and *Portulaca werdermannii*. *Fitoterapia*; 78:510-5
- 18- Cronquist A; 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants, *Colombia University Press.* New York: 1753.
- 19- Cruz J.M., Dominguez J.M., Dominguez H., Parajo J.C., 2001- Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol. 49(5):2459-2464.
- 20- Edenharder R., Grünhage D., 2003- Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tertbutylhydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* Vol. (540): 1–18.
- 21- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., 2008- Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities, *C. R. Biologies.* Vol. (331). 372-379.
- 22- Faten R, Abdel G, Ibrahim A, El-elaimy. 2011. Antioxidant and scavenging active enzyme activity of *HiBSUCUS EOSA SIEN* crude extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 02(01) :51-58.
- 23- Gayet, C. (2013). Guide de poche de phytothérapie. Paris: Quotidien malin

- 24-Ghabrier, J.Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1, France.
- 25- Ghestem A., Seguin E., PARIS M., Orecchioni A.M., 2001- Le préparateur en Pharmacie. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 275p.
- 26-Gorham J., 1977- Lunularicacid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea. *Phytochemistry*. Vol. (16):249-253
- 27-Guenzat A; 2012. Effet des extraits aqueux lyophilisés de *Portulacaoleracea* et *Zygophyllumgaetulum* sur le profil lipidique et le statut redox, chez des rats rendus diabétique par injection de Streptozotocine. Mémoire de Magister, Oran.
- 28-Haslam E., 1994- Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* Vol. (11): 41-66.
- 29- Haslam E., 1998- PracticalPolyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge UniversityPress, Cambridge. UK. 422p.
- 30- Hellal Z., 2011- Contribution à l'étude des propriétés antibacteriennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). mémoire de Magister en biologie, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.
- 31- Heller W., Forkmann G., 1993- The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- 32- Hernandez-Ochoa L.R., 2005- Subtitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut national plytechniques, Toulouse. France. 255p
- 33- Hess M., 2002- Alkaloids, Nature'sCurse or Blessing 1ère édition. Ed. WileyVCH, New York. USA. 297 p.
- 34- Hongguang S., Xuefeng L., Gusheng T., Haiyan L., Yinghui Z., BO Z., Xuezhi Z., Wanyin W., 2014- Ethanol extract of *Portulacaoleracea* L. reduced the carbontetrachlorideinducedliverinjury in miceinvolvingenhancement of NF- $\kappa$ Bactivity. *Am J TranslRes.* Vol. 6(6):746-755.
- 35-Jalali F., Hajian K., Baradaran M., Moghaddamnia A.A., 2008- Effect of Linseed (seed of Flax) on bloodlipidlevels. *Pejouhandeh.* Vol. 13(2): 107-113.

- 36-Jean-François .(2007). Jean-François LEGER. Noms vernaculairee des taxons de La BDTFX.
- 37-Julve,Ph.(2014). ff.-Baseflor.Indexbotanique,écologique et chorologique de la flore de France.Version : 06 janvier 2014.http : //perso.wanadoo.fr/philippe.julve//catminat htm
- 38- Kamal Uddin M.D., Juraimi A.S., Sabir Hossain M.D., Altaf UN Nahar M., Eaqub Ali M.D., And Rahman M.M., 2014- PurslaneWeed (*Portulacaoleracea*): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and AntioxidantAttributes. The ScientificWorld Journal. Vol. 2014:1-6.
- 39- Kamra D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C., 2006. Inhibition ofrum inalmethano genesis by tropical plants containingsecondary compounds. International CongressSeries. Vol. (1293) : 156–163.
- 40- Khanbabae K ., Ree T.R., 2001- Tannins:Classification and Defenition. Journal of Royal Society of Chemistry. Vol. (18): 641-649.
- 41- Khenaka K., 2011- Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèseruminale chez l’ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81p.
- 42-Khosravi M et al., 2013- Interactive comment on “Diurnal variation of stratosphericHOCl, ClO and HO<sub>2</sub> at the equator: comparison of 1 -D model calculationswithmeasurements of satellite instruments”. Atmos. Chem. Phys. Discuss. Vol. (12): C12653–C12654.
- 43-Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S., and Vladimir-Knezevic S., 2004- Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis fromnorthernCroatia. Acta. Pharm. Vol. (54): 65-72.
- 44- Lahmari, N., Fahloul D., et Azani, I. (2012). Influence des méthodes de séchage sur la qualité des tomates séchées (variété Zahra). Revue des Energies Renouvelables , 15(2), 285-295.
- 45-Leybros J, Fremeaux P., 1990- Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, Génie des procédés. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.
- 46-Lim Y.Y., Quah E., 2006- Antioxidantproperties of different cultivars of *Portulacaoleracea*. Food Chemistry. Vol. 103(3):734-740.

- 47- Lim Y et Quach E; 2007. Antioxydant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. *Food chem*; 103:734-740.
- 48- Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). *Botanique (3<sup>e</sup> éd)*. Technique et documentation. Lavoisier . Paris. 211p.
- 49- Makkar H.P.S. 2003- Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome the detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. Vol. (49) : 241-256.
- 50- Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P., 2006- Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp:1-28.
- 51- Mangan J. L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr. Res. Rev.* Vol. (1) : 209-231
- 52- Merghem, R. (2009). *Eléments de biochimie végétale (16)*. Ed, Bahaeddine. Algérie 11: 394-397.
- 53- Murry R. D. H., Mendez J., Brown S. A., 1982- the natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. 702 p.
- 54- Musa KY, Ahmed A, Ibrahim G, Ojonugawa OE, Bisalla H, Musa H et Danmalam; 2007. Toxicity Study Studies on the methanolic extract of *Portulaca oleracea L.* (Fam. Portulacaceae). *Journal of biological sciences*; 7(7): 23-29.
- 55- Newman, D.J., Cragg, G.M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod* , 75, 311-335.
- 56- Pandey KB et Rizvi SI., 2009- Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2 (5) : 270 – 278.
- 57- Peksel A., Arisan I., And Yanardag., 2006- Antioxidant activities of aqueous extracts of purslane (*Portulaca oleracea* Subsp. *Sativa L.*). *Ital J Food Sci*. Vol. 3: 295-308.
- 58- Privas E., 2013- Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L'École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. 166 p.
- 59- Raven, H., Evert, R.F., et Eichhorn S.E. (2000). *Biologie végétale (6<sup>e</sup> éd)*. (B. Jules., et M. Charles, Trad.). Paris.

- 60- Ribereau-Gayon J., peynaud E., 1968- Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Édition Dunod, Paris. France. 254 p.
- 61- Rira M., 2006- Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbioteruminald'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
- 62-Roux D., Catier O., 2007- Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. 141 p.
- 63- Schauenberg P., PARIS F., 2005- Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2ème édition. Ed. DelachauxetNestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p.
- 64- Seaman Fc., 1982-Sesquiterpenes lactones as taxonomic characters in asteraceae. In the botanicalreview. Botanicalgarden. Vol. (48): 121-594.
- 65-Seenivasan P., 2006- In vitro antibacterialactivity of som plant essential oils. Jornal of complementary and alternative medicine. Vol. (9): 6-39.
- 66-Singleton V. L., Orthofer R., and Lamuela-Raventos R. M., 1999- Analysis of Total Phenols and OtherOxidationSubstrates and Antioxidants by Means of Folin-CiocalteuReagent. MethodsEnzymol. 152-177.
- 67-Taous, Ali, et al. "Karst et ressources en eau au Moyen Atlas Nord-Oriental." *Geomaghreb*, 5, 41-59. (2009).
- 68-Uddin MK, Juraimi AS, Ali ME et IsmaiMRI; 2012a. "Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of *Portulacaoleracea*(L.) at differentgrowth stages,". *International Journal MoleculeScience*; 13:10257–10267.
- 69-Vigan, M. (2012). Progrès dermatologique - allergologie . John Libbey Eurotext Besancon: France.
- 70-Wong, L. T., Mui, K. W., & Hui, P. S. (2006). A statistical model for characterizing common air pollutants in air-conditioned offices. *AtmosphericEnvironment*, 40(23), 4246-4257.
- 71- Ziegler J., Facchini P.J., 2008- AlkaloidBiosynthesis: Metabolism and Trafficking. *AnnuRev Plant Biol*. Vol (59): 735 – 769.

72- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry*, 64(4), 555-559.

## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة المركبات الفينولية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا في الجزء الجوي من *Portulaca oleracea* L. تم الحصول على المستخلصات الميثانولية الخام والإيثانولية والمائية بواسطة طرق استخراج التعقيم ، والعوائد ذات الصلة هي: 8.71 % ، 4.18 % ، و 31.39 % ؛ يحتوي مستخلص الإيثانول (EE) على أفضل قيمة في تحديد مادة البوليفينول البالغة  $1.26 \pm 0.007$  ملغم / غ من ES ، حتى بالنسبة لتحديد العفص المكثف (TCs) فهو أغنى مستخلص يحتوي على محتوى يساوي  $0.58 \pm 0.007$  mgEAC / g ES ، بينما بالنسبة لمقاوم الفلافونويد ، يكون المستخلص المائي هو الأكثر ثراءً بمحتوى قدره  $0.3 \pm 0.003$  mg EAQ / g ES.

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على ستة سلالات بكتيرية ، وفقا لطريقة نشر القرص ، أظهرت النتائج تبايناً في حساسية السلالات التي تمت دراستها في مقابل المستخلصات المختلفة للمصنع ، وتثبيط أقصى على تثبيط كليبيسيلا الالتهاب الرئوي (منطقة تثبيط 11.5 مم) مقابل - استخراج المستخلص المائي والحد الأدنى من التثبيط على العصوية الرئوية والمكورات العنقودية الذهبية (منطقة مثبطات 6 مم) مقابل المستخلص الإيثانولي

**الكلمات المفتاحية:** *Portulaca oleracea* L. ، EA (مستخلص مائي) ، EE (مستخلص إيثانولي) ، EM (مستخلص الميثانول) ، البوليفينول الكلي ، فلافونويد ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ، منطقة وادي صوف.

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'étude des composés phénolique et l'évaluation de l'activité antibactérienne de la partie aérienne de *Portulaca oleracea* L.

Les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux bruts ont été obtenus par la méthodes d'extraction la macération , les rendements respectifs sont : 8.71%, 4.18%, et 31.39% ; l'extrait éthanolique (EE) a la meilleure valeur dans le dosage des polyphénols de  $1,26 \pm 0,007$  mgEAG/g ES, même pour le dosage des tanins condensés (TCs) est l'extrait le plus riche avec une teneur de  $0,58 \pm 0,007$  mgEAC/g ES; tandis que pour le dosage des flavonoïdes l'extrait aqueux est le plus riche avec une teneur de  $0,3 \pm 0,003$  mg EAQ/g ES.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur six souches bactériennes, selon la méthode sur diffusion de disque, les résultats montrent une variation de sensibilité des souche étudiées vis-à-vis au différents extraits de la plante, un maximum d'inhibition sur *Klebsiela pneumoniae* (zone d'inhibition de 11,5 mm) vis-à-vis l'extrait aqueux et un minimum d'inhibition sur *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (zone d'inhibitions de 6 mm) vis-à-vis l'extrait éthanolique.

**Mots clés :** *Portulaca oleracea* L., EA (Extrait aqueux), EE (Extrait éthanolique), EM (Extrait méthanolique), Polyphénols totaux, Flavonoïde, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, La région d'Oued Souf.

## Abstract

The objective of this study is the study of phenolic compounds and the evaluation of the antibacterial activity of the aerial part of *Portulaca oleracea* L.

The crude methanolic, ethanolic and aqueous extracts were obtained by the maceration extraction methods, the respective yields are: 8.71%, 4.18%, and 31.39%; the ethanolic extract (EE) has the best value in the determination of polyphenols of  $1.26 \pm 0.007$  mgEAG / g ES, even for the determination of condensed tannins (TCs) is the richest extract with a content of  $0,58 \pm 0.007$  mgEAC / g ES, while for the flavonoid assay the aqueous extract is the richest with a content of  $0.3 \pm 0.003$  mg EAQ / g ES.

The antimicrobial activity was determined on six bacterial strains, according to the disc diffusion method, the results show a variation in the sensitivity of the strains studied vis-à-vis the various extracts of the plant, a maximum inhibition on *Klebsiela pneumoniae* (11.5 mm inhibition zone) vis-à-vis the aqueous extract and a minimum of inhibition on *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* (zone of 6 mm inhibitions) vis-à-vis the ethanolic extract.

**Key words:** *Portulaca oleracea* L., EA (aqueous extract), EE (ethanolic extract), EM (methanolic extract), total polyphenols, Flavonoid, antioxidant activity, antibacterial activity, Wadi Souf region.