République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Mis en valeur des potentiels antimicrobiens et antioxydants des graines de trois provenances de pourpier (*Portulaca oleracea* L.)

Présenté par : Melle BEN SMIDA Roufayda

Mme MESSAID Sara

Soutenu publiquement le : **27 /06/2021**

Devant le jury :

Mme	BEN AISSA Atika	MCA	Présidente	UKM Ouargla
Mme	KHALLEF Sakina	MCA	Examinateur	UKM Ouargla
Melle	HADJADJ Soumia	MCA	Encadreur	UKM Ouargla
Mme	HIDOUB Yousra	Doctorante	Co-Encadreur	UKM Ouargla

Année Universitaire : 2020 /2021

Remerciements

Nos remerciements les plus profonds et inexprimables, s'adressent avant tout à **ALLAH** le tout puissant, de nous avoir accordé la force, la santé et le courage afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nos très profondes reconnaissances et nos sentiments les plus sincères vont à notre Encadreur, **Melle HADJADJ Soumia**, maître de conférences A au Département des Sciences Biologiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université KASDI Merbah-Ouargla, pour l'honneur qu'elle nous avons fait en acceptant d'encadrer ce travail, de le diriger avec tant de compétence et de gentillesse. Pour ses conseils et ses orientations éclairées.

Nos sincères remerciements s'adressent également à notre Co-promotrice, **Mme HIDOUB Yousra** pour leurs aides et ses conseilles accordées tout au long de ce travail.

Nous exprimons nos remerciements aussi aux membres de jury **Mme BEN AISSA Atika** et **Mme KHALLEF Sakina** maître de conférences A au Département des Sciences Biologiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université KASDI Merbah-Ouargla, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en jugeant notre travail.

L'occasion nous avons donné ici pour exprimer un grand merci spécial à **Dr. MAHAMMEDI Fouad**, chef service du Service d'Epidémiologique et de Médecine Préventive à Ouargla, pour son aide et sa sympathie.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent aussi aux **Mr. BOUZGAG Ismail, Mr. SEGNI Ladjel, Mr. BOURICHA M'hamed** et **Mr. AZIB Salim**, pour leurs aides.

Finalement, un grand merci du fond du cœur, plein d'amour et de tendresse aux membres de nos familles : **MESSAID, MALLEM, BEN SMIDA** et **GROUDA** qui nous avons beaucoup encouragées pour y'arriver, nous disons

« **Merci beaucoup**».

Dédicace

Je remercie Dieu de m'avoir guidée vers ce chemin et qui j'ai donné la force pour finir ce travail.

*«En vérité, le Chemin importe peu, la volonté d'arriver suffit à tout». **Albert Camus**.*

*J'exprime ma gratitude à **ma tendre mère Fairouz** qui m'a aidée et soutenue dans les pires moments de ma vie.*

*A **mon cher père Abd el hamid**, auquel je deviens force et réflexion, je vous exprime mon plus profond respect.*

*Et je n'oublie pas bien sur toute mes sœurs **Norhane, Rahaf et assinet** et mon frère **Mouhamed** et ma grande mère **Aicha**, mon grand père **Mouhamed** que Dieu les bénissent et surtout mes tantes **Fatima Grouda** et **Naziha Bayaarassou** ,son mari et ses enfants, , mon oncle **Loukman** avec son épouse que je remercie énormément et à qui je souhaite une longue vie pleine de bonheur et de prospérité et ses enfants et mes chères amis : **Hadil, Asma, Wissem, Rahil, Narimene** qui m'ont encouragé et soutenu de près ou de loin*

*J'exprime ma sincère reconnaissance à ma chère binôme **Messaid Sara** et pour sa compréhension, sa patience et sa coopération avec moi.*

A tous ceux qui m'aiment.

Roufayda

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*A la mémoire de mon très cher père **Larouci** qu'il repose en paix. Tu as laissé un vide immense que personne ne peut combler, je ne trouve pas les mots pour exprimer mon amour inconditionnel et ma profonde reconnaissance pour tout ce que tu m'as donné sans rien attendre en retour ainsi que pour tes innombrables sacrifices*

« Tu n'es plus où tu étais, mais tu es partout où je suis»

*A ma très chère mère **Souad***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu as enduré pour mon bien être et mon éducation et surtout pour ta présence à mes côtés dans les moments les plus difficiles. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance .J'espère que ta bénédiction m'accompagne toujours

*A mon mari **El Amin** pour son soutien sa tendresse et ses nombreux encouragements.*

*A la prunelle de mes yeux, **Iyad**, merci pour ta patience et pour tous les moments inoubliables*

*A Mes chers(e) frères et sœurs : **Djalel, Yahia, Youcef et Nouri : Hadjer, Saoussen, Meriem, Nafissa** et ma petite ange **Narjdes**, pour leur disponibilité, leur soutien moral et leurs encouragements incessants.*

*A tous les membres de ma belle famille, avec les quelles Dieu m'a dédommagé de mon éloignement à ma famille **Ami Ali, Yema, Saber, Abdou** et**Hanene***

*A ma très chère binôme **Roufaida**. merci pour tous les moments inoubliables*

*A la mémoire de **mes grands parents**.*

*Que Dieu ajoute le fruit de mes efforts à la mesure des bonnes actions de mon père « **Larouci** »*

Sara

A. Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Structure de l'isoprène	**05**
Figure 02	Structure de base d'un flavonoïde	**08**
Figure 03	Structure chimique des différents sous-groupes des flavonoïdes	**08**
Figure 04	Structure de tanins hydrolysables penta-O-galloyl-β-D-glucose	**10**
Figure 05	Structure de base des tanins condensés	**11**
Figure 06	Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant donneur H•	**26**
Figure 07	Principe de la méthode de diffusion sur disques	**27**
Figure 08	Teneurs en polyphénols totaux des décoctées aqueux des grains de trois provenances de *P. oleracea*	**32**
Figure 09	Teneurs en flavonoïdes des décoctées aqueux des grains de trois provenances de *P. oleracea*	**34**
Figure 10	Teneurs en tanins totaux des décoctées aqueux des grains de trois provenances de *P. oleracea*	**35**
Figure 11	Résultats d'évaluation de l'activité antioxydante des décoctés aqueux des graines de trois provenances de *P. oleracea*	**37**
Figure 12	Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des disques envers *Listeria monocytogenes*	**39**
Figure 13	Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des disques envers *Candida albicans*	**39**
Figure 14	Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des puits envers *Listeria monocytogens*	**40**
Figure 15	Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des puits envers *Candida albicans*	**40**

B. Liste des images

N°	Titre	Page
Image 01	Aspect de *Micrococcus luteus*	**19**
Image 02	Aspect de *Listeria monocytogene*	**20**

C. Liste des photos

N°	Titre	Page
Photo 01	Aspect botanique de *P.oleracea*	**13**
Photo 02	Graines de pourpier finement broyées	**18**
Photo 03	Aspect d'*Aspergillus carbonarius*	**21**
Photo 04	Aspect de *Candida albicans*	**22**
Photo 05	Création des puits	**30**

D. Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Systématique de l'espèce *P.oleracea*	**14**
Tableau 02	Origine et lieu d'acquisissions des trois provenances des graines de *P.oleracea*	**17**
Tableau 03	Souches microbiennes utilisées pour taster l'activité antimicrobienne	**19**
Tableau 04	Caractéristiques organoleptiques et rendements en extraits bruts des décoctés des graines de trois provenances de pourpier étudiées	**31**

E. Liste des schémas

N°	Titre	Page
Schéma 01	Protocole de préparation des extraits aqueux	**23**

Table des matières

A. Liste des figures

B. Liste des images

C. Liste des photos

D. Liste des tableaux

E. Liste des schémas

Introduction 1

I. Généralité sur les plantes médicinales et les principes actifs 3

I.1.Définition des plantes médicinales 3

I.1.1. Définition du principe actif 3

I.1.1.1. Alcaloïdes 4

I.1.1.2. Terpènoïdes et stéroïdes 5

I.1.1.3. Saponosides 5

I.1.1.4. Composés phénoliques 6

I.1.1.4.a. Intérêts des composés phénoliques 6

I.1.1.4.1. Flavonoïdes 7

I.1.1.4.1.a. Activités biologiques 9

I.1.1.4.2. Tanins 10

I.1.1.4.2.1. Tanins hydrolysables 10

I.1.1.4.2.2. Tanins condensés 11

I.1.1.4.2.a. Activités biologiques 11

I.2.Généralités sur l'espèce étudiée *Portulaca oleracea* L. 12

I.2.1. Description botanique de l'espèce *Portulaca oleracea* L. 12

I.2.2. Classification botanique 13

I.2.3. Distribution géographique 14

I.2.4. Utilisation traditionnelle 15

I.2.5. Composition chimique du *Portulaca oleracea* L. 16

I.2.6. Toxicité du *Portulaca oleracea* L. 16

II.1. Matériel biologique 17

II.11. Matériel végétal 17

II.1.2. Souches microbiennes 18

II.1.2.1. *Micrococcus luteus* 19

II.1.2.2. *Listeria monocytogene* 20

II.1.2.3. *Aspergillus carbonarius* 20

II.1.2.4. *Candida albicans* 21

II.2. Méthodologie de travail 22

II.2.1. Extraction des principes actifs (composés phénoliques) 22

II.2.2. Détermination de rendement d'extraction 23

II.2.3. Dosage des polyphénols totaux 24

II.2.4. Dosage des flavonoïdes 24

II.2.5. Dosage des tanins totaux 25

II.2.6. Evaluation de l'activité antioxydante par méthode d'ABTS 25

II.2.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne 27

II.2.7.1. Méthode de diffusion sur milieu gélose (méthode des disques) 28

II.2.7.1.1. Préparation de préculture 28

II.2.7.1.2. Préparation de l'inoculum 28

II.2.7.1.3. Ensemencement de la suspension microbienne sur les milieux gélosés 28

II.2.7.1.4. Incubation 28

II.2.7.2. Méthode de diffusion sur milieu gélose (méthode des puits) 29

II.2.7.3. Lecture des résultats.....30

III.1. Rendements en extraits bruts des graines de trois provenances de pourpier étudiées 31

III.2. Résultats d'analyse quantitative.....31

III.2.1. Dosage des polyphénols totaux 32

III.2.2. Dosage des flavonoïdes 34

III.2.3.Dosage des tanins totaux.....35

III.3. Résultats d'évaluation des activités biologiques 36

III.3.1. Activité antioxydante.....36

III.3.2. Activité antimicrobienne.....38

Conclusion et perspectives 44

Références bibliographiques 46

Annexes..... I

Résumés .....

« La plante que vous avez chez vous, l'avez-vous jamais regardée ! Avez-vous laissé cet être familier mais mystérieux, que nous appelons une plante, vous enseigner ses secrets ! Avez-vous remarqué sa paix profonde ! Son champ de calme ! Dés que vous prenez conscience de l'émanation calme et paisible d'une plante, celle-ci devient votre maitre. »

ECHHART Tolle cité in ***(VERBOIS, 2015)***

Introduction

Depuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition, à partir de leurs religions, expériences ou par hasard **(ISERIN, 2001).**

Dans nos jours, la phytothérapie couvre une grande place dans les intérêts quotidiens des hommes qui ont sur développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes **(ISERIN, 2001).**

Les travaux de recherches scientifiques confirment le bien fondé de cette notion populaire découlant d'un pur empirisme, et ainsi le remède de grand-mère devient un traitement sérieux, étayé par des résultats expérimentaux **(KADDEM, 1990). DUTERTRE** (**2011)**, trouve que l'utilisation des plantes médicinales revient à leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur.

Les plantes médicinales sont extrêmement nombreuses. Il existe environ 13000 espèces de plantes ayant été utilisées sur de très longues périodes comme remèdes traditionnels par diverses cultures dans le monde entier, et dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture car elles sont connues par leurs propriétés biologiques bénéfiques et intéressantes **(TYLER et VARROE, 1993).**

Il est donc indispensable d'étudier ces plantes et de donner une base scientifique pour leur utilisation. La connaissance des caractéristiques médicinales de ces plantes est un véritable héritage commun entre les générations. Les étapes qui précèdent l'utilisation des plantes c'est de chercher, identifier et classer ces plantes selon leurs utilisations nous ont permis de préserver un savoir traditionnel et même d'acquérir de nouvelles connaissances.

Le pourpier (*Portulaca oleracea* L.), plante alimentaire à caractère médicinal, membre de la famille de *Portulacaceae*, qui comprend plus de 100 espèces d'arbustes succulents. Elle est listée par l'OMS parmi les plantes médicinales les plus utilisées et lui a donné le terme

«Global Panacea » **(DEMIRHAN et ÖZBEK, 2010),**car elle exerce une large gamme d'effets pharmacologiques, antioxydant, antibactérien, anti-hypoxie, hypoglycémique, anti-inflammatoire,…**(WANG *et al.*, 2016).**Cette espèce 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 β carotène, les vitamines A, C et E **(SIMOPOLOUS *et al.*, 2005).**Par conséquent, l'étude des effets biologiques de *P. oleracea* et de ses substances en vue de leurs applications à la santé humaine demeure une tâche intéressante et très utile.

Ce travail est une contribution à l'exploitation et à la valorisation des ressources naturelles sahariennes et qui a pour objectif, la quantification des composés phénoliques dans des extraits aqueux issus des graines de trois provenances de pourpier ainsi que l'évaluation de leurs pouvoirs antioxydants et antimicrobiens.

Ce document est structuré en deux parties :

- la première, est une synthèse bibliographique, comporte des généralités sur la phytothérapie, les plantes médicinales et leurs principes actifs, ainsi que sur la plante modèle de l'étude *P. oleracea*;

- la deuxième partie expérimentale, englobe une description des techniques d'extraction des principes actifs issus des graines de trois provenances de pourpier (Ouargla, El Oued et Egypte), les protocoles d'analyse quantitative des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins totaux, les méthodes d'évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes et les résultats obtenus et leurs discussions ;

- enfin, le travail a été achevé par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus et les perspectives d'avenir.

Première partie
Synthèse bibliographique
Chapitre I
Généralités sur les plantes médicinales
et
les principes actifs

I. Généralité sur les plantes médicinales et les principes actifs

La médecine par les plantes est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil des siècles. Il apparaît que l'homme a compris très tôt tout ce que le monde végétal pouvait lui apporter, non seulement pour se nourrir et se vêtir mais encore pour se soigner ou se concilier les forces de la nature (**VERBOIS**, **2015).**

Xiaorui Zhanga, Coordonnateur en OMS a défini l'expression médecine traditionnelle par l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques basées sur les théories, croyances et expériences auxquelles différentes cultures ont recours pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales **(OMS, 2000).**

I.1. Définition des plantes médicinales

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses et que son usage est exclusivement médicinal **(CHABRIER, 2010).** Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents et qui sont capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies **(SANOGO, 2006).**

I.1.1. Définition du principe actif

Le principe actif est désigné par sa dénomination commune internationale comme une substance qui possède un effet thérapeutique connu pour prévenir ou guérir une maladie humaine ou animale **(WOUESSI, 2011).**

Les plantes produisent des composés chimiques qui se répartissent en différents groupes : les protides, les acides nucléiques, les glucides et les lipides ; qui sont les constituants du métabolisme primaire, communs à toutes les plantes et impliqués dans les processus métaboliques primaires de la construction et le maintien des cellules végétales **(BRUNETON,**

1999 ; DONALD, 2000) et des métabolites secondaires d'où ils appartiennent plus de 100 000 substances identifiées. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue : les alcaloïdes, les terpénoïdes et stéroïdes, les saponosides et les polyphénols **(BRUNETON, 1999 ; MERGHEM, 2009).**

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses études, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils ont été définis comme des produits chimiques n'avoir pas un rôle vital dans la construction des cellules végétales, mais récemment la recherche a montré différents rôles de ces métabolites en écophysiologie des plantes :

*défensif envers les herbivores, les attaques d'agents pathogènes et un rôle attractif vers les organismes symbiotes ;

* régulateurs de croissance des plantes ;

* modulateurs de gènes d'expression et en transduction de signal **(DONALD, 2000).**

Chez les végétaux, les métabolites secondaires sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable **(MUANDA, 2010).** Parallèlement, ces composés ont des effets bénéfiques chez l'homme en tant qu'antimicrobiens, antidépresseurs, sédatifs, relaxants musculaires ou anesthésiques…etc. Donc, il est intéressant de connaître la composition des plantes en métabolites secondaires pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme.

I.1.1.1. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées possèdent presque tous une molécule d'azote qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Ce sont des principes amers, apéritifs, et qui ont une action directe sur le système nerveux **(BRUNETON, 2003 ; VERBOIS, 2015).**Chez l'homme ces métabolites azotés provoquent diverses réponses physiologiques parce qu'ils sont interférents avec les neurotransmetteurs. Les alcaloïdes ou des extraits qui en renferment ont été utilisés comme médicaments, relaxants musculaire, analgésiques, tranquillisants et psychotropes (**PRIESTLEY, 2003 ; VERBOIS, 2015**). Aussi

les alcaloïdes possèdent des propriétés antibiotiques, ce qui suggère qu'ils constituent un moyen de défense contre les infections microbiennes (**PRIESTLEY, 2003**).

I.1.1.2. Terpènoïdes et stéroïdes

Les terpènes et les stéroïdes ont une structure de base non aromatique, ils ont aussi un point commun qu'ils sont formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyle butadiène, les isoprènes (Figure 01) (**BRUNETON, 2003**).

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue, les monoterpènes C10 qui sont les molécules les plus représentatives, constituant 90 % des huiles essentielles et permettent une grande variété de structures **(BELKHIRI et BAGHIANI, 2017)**, les sesquiterpènes C15, les diterpènes C20, les triterpènes C30, les tétraterpènes C40 et polyterpènes (environ 400) (**BRUNETON, 1999**).

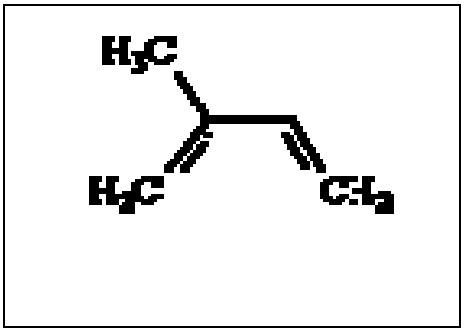


Figure 01 : Structure de l'isoprène (**RICHTER, 1993**).

I.1.1.3. Saponosides

Les saponosides, aussi appelés saponines, viennent du latin, «sapo» signifie savon et «oside » signifie sucre, donc sont des substances glucosidiques végétales, ils se dissolvent

dans l'eau en formant des solutions moussantes et ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives.

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux, ils ont une propriété hémolytique ; mais aussi assurent la défense des végétaux contre l'attaque microbienne ou fongique **(MERAD et MAHIOUT, 2019).**

I.1.1.4. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures connues **(HASLAM, 1993).** La structure de base qui les caractérise est la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques auquel sont directement liés à un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction (éther, ester) **(HARBORNE, 1994).**

I.1.1.4.a. Intérêts des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de plantes (lignification, régulation de la croissance,...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les insectes, résistance aux UV) (**MUANDA, 2010).**

Les polyphénols sont des substances phytochimiques avec des propriétés, antidiabétique, anticancéreuse, anti-inflammatoire, cardio-protecteur, antivirale, antiasthmatique, antiseptique, hépato-protecteur, antifongique, antibactérienne,… etc. **(ISERIN *et al.*, 2001 ; MISSAOUI, 2018).**Le rôle des composés phénoliques dans la protection contre certaines maladies est largement montré en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes **(ISERIN *et al.*, 2001 ; MUANDA, 2010; MISSAOUI, 2018).**

Sachant que les antioxydants réagissent avec divers mécanismes d’action, incluant :

* le captage de l'oxygène singulier ;

* la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente ;

* la chélation des métaux de transition **(FAVIER, 2003).**

Les composés phénoliques possèdent une structure chimique idéale pour piégeage des radicaux libres, parce qu'ils possèdent des groupes phénoliques hydroxyles qui sont susceptibles de donner un atome d'hydrogène ou un électron aux radicaux libres et un système aromatique stabilisé par la résonance **(DAI et MUMPER, 2010)**.

Les polyphénols sont doués d'activité antibactérienne importante, dû probablement à leurs diversités structurales, les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité **(COWAN, 1999)**, plus les composés phénoliques sont oxydés plus ils sont inhibiteurs des microorganismes **(SCALBERT, 1991)**.Les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins sont caractérisés par leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols **(DAGLIA, 2011).**

Ces composés jouent un rôle inhibiteur, ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt par un mécanisme interne, ils sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique **(ULANOWSKA *et al*., 2008)**.Ils possèdent une capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilmes, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**DAGLIA, 2011)**.

I.1.1.4.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une large gamme de substances naturelles appartenant à la famille des polyphénols **(BRUNETON, 1999).** Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux dérivés de la benzopyrone (cycle A et C) (Figure 02), caractérisés par la présence de deux cycles benzoïques A et B et d'un hétérocycle oxygéné. Ils diffèrent les

uns des autres par le degré d'instauration, le mode d'hydroxylation ou de méthylation et par le type du sucre attaché, ils peuvent être sous forme aglycone ou hétéroside (Figure 03).

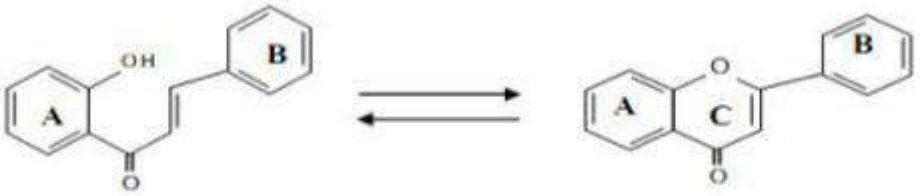


Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes **(MERAD et MAHIOUT, 2019).**

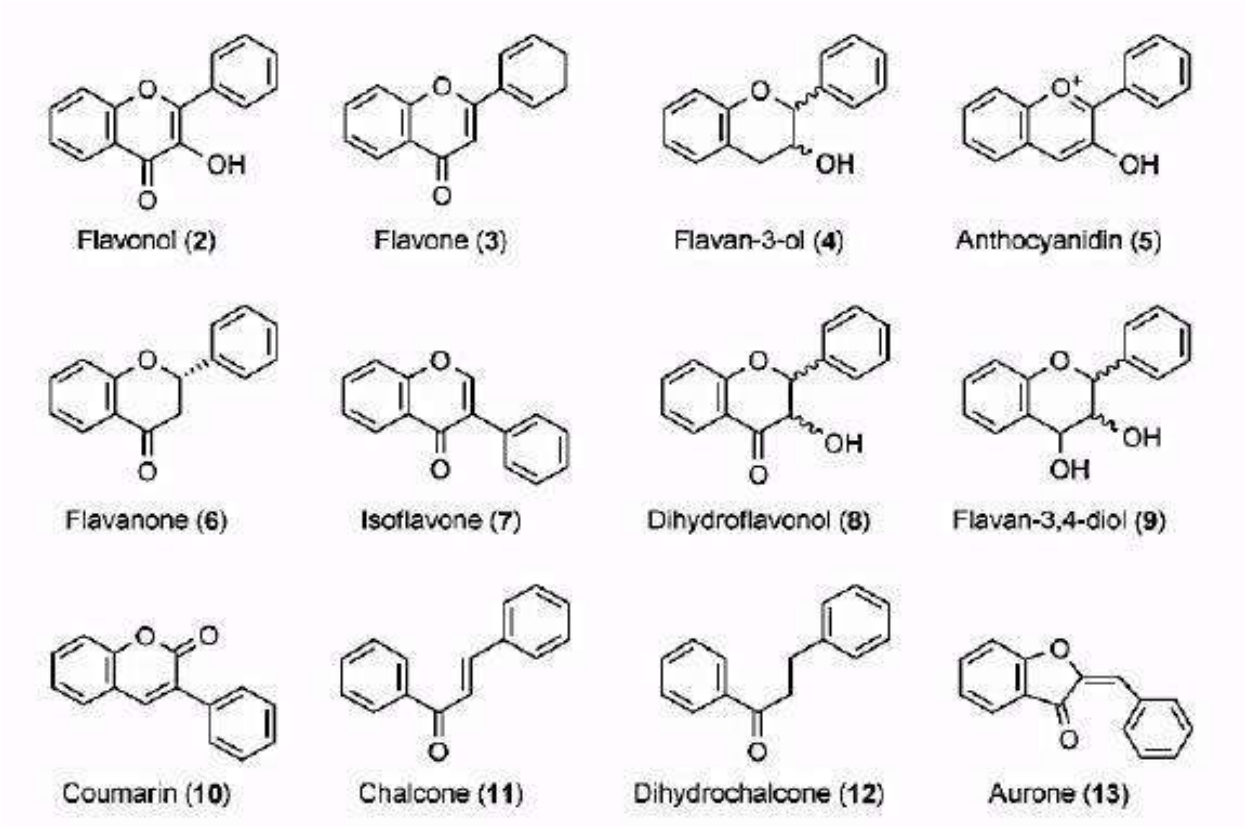


Figure 03: Structures chimiques des différents sous-groupes des flavonoïdes **(MISSAOUI, 2018).**

I.1.1.4.1.a. Activités biologiques

Les flavonoïdes exercent des effets pharmacologiques multiples sur les cellules et les tissus des mammifères, leur principale activité est une propriété vitaminique, aussi ils sont capables de modifier les équilibres enzymatiques **(BELKHIRI et BAGHIANI, 2017).**

D'autres activités biologiques ont été attribuées aux flavonoïdes, citons à titre d'exemple les activités anti-inflammatoires, antiallergiques, antihypertensives, antivirales, antifongiques, antibactériennes, anticancéreuses et antiulcéreuses. Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels **(BELKHIRI et BAGHIANI, 2017).**

À cause de leur capacité étendue d'inhiber la germination des spores pathogènes des plantes, les flavonoïdes ont été proposés aussi pour être utilisées contre les pathologies fongiques de l'homme **(HARBORNE et WILLIAMS, 2000).**Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes **(ULANOWSKA *et al.*, 2006).**

L'activité antibactérienne des flavonoïdes a été signalée dans plusieurs études, le retrochalconelicochalcone C (4,4'-dihydroxy-2'-methoxy-3'-prenyl) est actif contre *Staphylococcus aureus* avec une concentration inhibitrice minimale (CMI) de 6.25µg / ml **(HARAGUCHI *et al.*, 1998).** Aussi, le constituant 5,7-dihydroxy-3,8-dimethoxy flavone a une CMI de 50 µg/ ml contre *Staphylococcus epidermis* **(INIESTA-SANMARTIN *et al.*, 1990).**La substance 5,7,2',6'-tetrahydroxy-6-prenyl-8-lavandulyl-4'-methoxy-flavanone inhibe complètement la croissance de *S. aureus* à des concentrations situées entre 1.56 et 6.25 µg / ml **(IINUMA *et al.*, 1994).** Le susdit flavanone est particulièrement actif contre la souche *S. aureus* résistante aux antibiotiques et pourrait avoir la valeur de traiter des patients, qui prennent involontairement cette infection pendant l'hospitalisation **(HARBORNE et WILLIAMS, 2000).**

I.1.1.4.2. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques non azotés, hydrosolubles de poids moléculaire compris entre 500 et 3000Da. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes…, La présence de tanins dans une plante nous apporte l'indication qu'elle a une propriété astringente, c'est-à-dire qu'elle possède la capacité de resserrer les tissus **(OBAME, 2009 ; VERBOIS, 2015).**

Les tanins sont répartis en deux classes différentes ; les tanins condensés (proanthocyanidols) et les tanins hydrosolubles (tanins galliques et ellagiques) qui diffèrent par leur structure chimique et l'origine biogénétique (**BELKHIRI et BAGHIANI, 2017; MERAD et MAHIOUT, 2019).**

I.1.1.4.2.1. Tanins hydrolysables

Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude **(MUANDA, 2010).** Les tanins hydrolysables proviennent principalement des acides phénoliques, tels que l'acide gallique ou l'acide ellagique d'où leur subdivision en gallotanins ou tanins galliques et ellagitanins ou tanins ellagiques, associé au D-glucose (figure 04) **(BRILLOUET *et al.*, 2013).**Ils précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés **(JARRIGE *et al.*,1995)**.

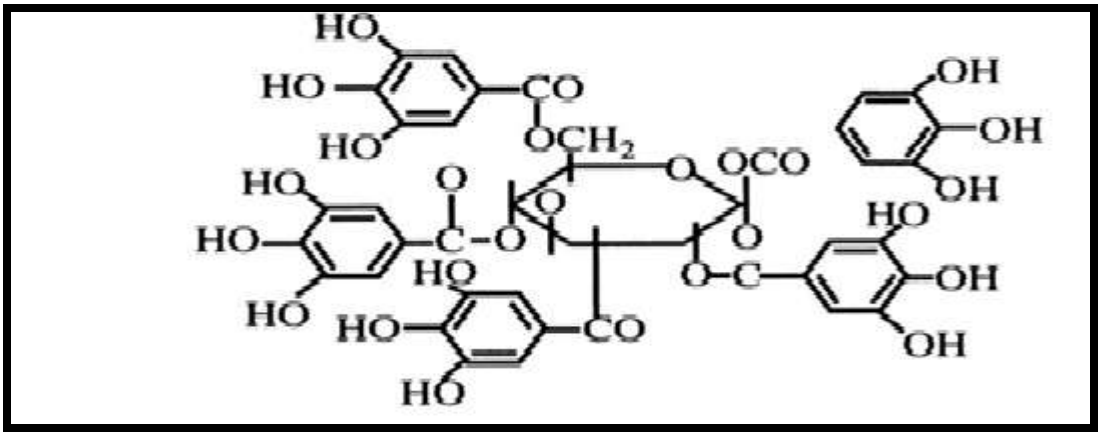


Figure 04: Structure de tanins hydrolysables penta-O-galloyl-β-D-glucose **(COWAN, 1999).**

I.1.1.4.2.2. Tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes **(MUANDA, 2010).**

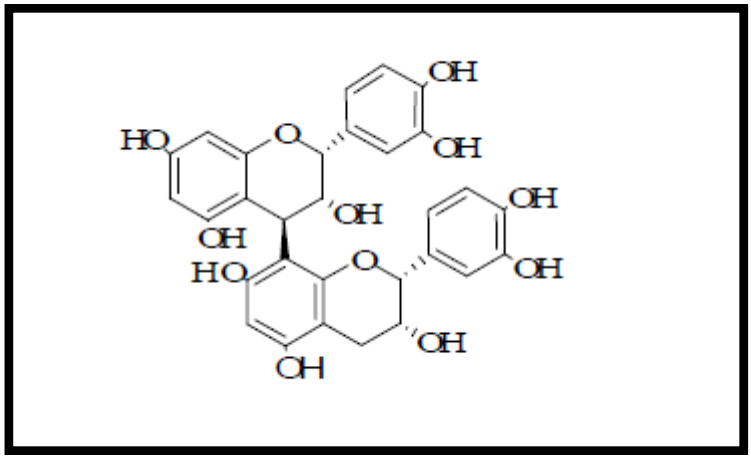


Figure 05 : Structure de base des tanins condensés **(SIKORA, 1990).**

I.1.1.4.2.a. Activités biologiques

Les tanins ont un grand intérêt pour la nutrition et la médecine à cause de leur effet protecteur possible sur la santé humaine, ils présentent plusieurs propriétés ; antioxydante due à leurs noyaux phénol, antiseptique, anti diarrhéique, antimicrobienne, antifongique, antivirale,…etc. **(BRUNETON, 1999)**.

La plupart des propriétés biologiques des tannins sont liées au pouvoir qu'ils ont la capacité de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines (**BELKHIRI et BAGHIANI, 2017).**Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes elles ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte en fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlures **(OBAME, 2009 ; MERAD et MAHIOUT, 2019).**

Bien que les tanins permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections, (**DIALLO, 2005**). Les tanins galliques raffinent et tonifient la peau, ils possèdent aussi des activités bactéricides et virucides. Les tanins catéchiques sont bactéricides et toniques veineux, sert contre les hémorroïdes, les varices, et le trouble circulatoire en général **(OBAME, 2009).**

Les polyphénols notamment les tannins et les flavonoïdes 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 carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire **(COWAN, 1999).**

I.2.Généralités sur l'espèce étudiée *Portulaca oleracea* L.

I.2.1. Description botanique de l'espèce *Portulaca oleracea* L.

Portulaca oleracea L. plante annuelle de la famille de Portulacaceae et du genre *Portulaca*, l'un des 25 genres de plantes succulentes et arbustes de cette famille.

Elle tient son nom du latin, *Portula* qui signifie «petite porte», à cause de la forme de l'ouverture de sa capsule, elle est communément appelée pourpier et 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 une plante alimentaire aux tiges rampantes, pluricaules de longueur de 10 à 30 cm **(BEL HADJ SALAH et CHEML, 2004)**, à feuilles opposées, rondes, épaisses et de racine pivotante, épaisse, mesurant entre 2 à 11 cm **(REAUME, 2009)** et des nouvelles racines peuvent se développer à partir des rameaux **(BOURGEOIS et MERLIER, 1995).** La plante produit des fleurs jaunes, solitaires, 5 pétales libres avec 6-12 étamines **(BELOUED, 2009)**. Les graines sont ovales, très petites et généralement de couleur noire **(MIYANISHI et CAVERS, 1980)**.

Photo 01 : Aspect botanique de *P. oleracea* (**BEN SMIDA et MESSAID, 2021)**

I.2.2. Classification botanique

Le pourpier appartient à la famille de Portulacaceae qui comprend 20 genres et 500 espèces **(JONES et LUCHSINGER, 1987)**. Le genre *Portulaca* comprend plus de 100 espèces de plantes herbacées annuelles, charnues ou sarmenteuses **(BAILEY et BAILEY, 1976)**.

La classification botanique du *P. oleracea* établi par **JULVE(2014**) est donnée dans le tableau I**.**

Tableau 1: Systématique de l'espèce *P. oleracea* **(JULVE, 2014)**

Règne :	Plantea
Sous-règne :	Tracheobionta
Divison:	Magnoliophyta
Classe:	Magnolipsida
Sous classe:	Caryophyllidae
Ordre:	Caryophyllales
Famille:	Portulacaceae
Genre:	*Portulaca*
Espèce	*Portulaca oleracea* L. **(JULVE, 2014).**
Nom vernaculaire arabe :	Regila - Blabicha - Brabra - Bou el kazit
Nom targui ou berbère :	Arrhilem - Bouguel - Benderaech –Tafrita **(BELOUED, 2009)**.

I.2.3. Distribution géographique

P. oleracea s'épanouit dans de nombreuses situations biogéographiques du monde, elle est adaptable aux conditions défavorables comme la sécheresse, la salinité et la carence en éléments nutritifs **(KAMALUDDIN *et al.*, 2014)**. *P. oleracea* est l'une des plantes horticoles les plus répandues dans le monde. Elle se trouve dans l'Eurasie, l'Europe du sud, l'Asie occidentale, la Chine, l'Inde et dans le Sahara de l'Afrique du Nord **(TUTIN, 1993; HERNANDEZ et LEON, 1994; SCHOCH *et al.*, 1998)**.

En Algérie, elle se trouve dans les champs cultivés, les jardins, les cultures et décombres. Communs dans le tell, les hauts plateaux, les Aurès et dans les Oasis du Sud **(BELOUED, 2005)**.

I.2.4. Utilisation traditionnelle

P. oleracea est listé dans l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des plantes médicinales les plus utilisées et il a été donné le terme «Global panacea», car elle exerce une large gamme d'effets pharmacologiques **(LIM et QUAH, 2006)**.

Le pourpier a été utilisé comme médicament traditionnel pour soulager un large éventail de maladies, notamment les maladies gastro-intestinales, les problèmes respiratoires, les maladies rénales, les ulcères de la vessie, les fièvres, l'insomnie, les inflammations sévères, les maux de tête,… etc. **(RAZI, 1968 ; IBN SINA, 1987)**. Elle fut aussi utilisée pour traiter les mictions douloureuses, l'entérite et la mammite **(LEUNG et FOSTER, 1996)**.

Certains tradipraticiens emploient les tiges et les feuilles fraîches du pourpier comme cataplasme, ou pour leur jus comme antidote aux piqûres de guêpes et aux morsures de serpent ou pour soulager la toux sèche **(BOWN, 1995; LEUNG et FOSTER, 1996)**.

P. oleracea est riche en vitamine A, un antioxydant naturel qui peut jouer un rôle dans la protection contre le cancer du poumon et de la cavité buccale. Elle a un effet anti-inflammatoire **(CHAN *et al.*, 2000)**, antidiabétique **(GONG *et al.*, 2009)**. Elle est riche également en sels minéraux et ayant une teneur élevée en eau (90%) et du mucilage, elle a des propriétés émollientes et calmantes pour l'irritation des muqueuses. D'autres auteurs ont mentionné ses effets anaphrodisiaques **(BEL HADJ SALAH et CHEMLI, 2004)**.

Elle est aussi utilisée traditionnellement pour le traitement de la dysenterie avec des selles sanglantes, à l'extérieur pour les furoncles et les plaies, l'eczéma, l'érysipèle et les piqûres d'insectes et de serpents **(HONGBIN *et al.*, 2010).** Elle est décrite comme un «aliment énergétique» de l'avenir en raison de ses propriétés nutritives et antioxydantes élevées **(RAFFAELLA *et al.*, 2010)**.

Les graines de pourpier sont appliquées à l'extérieur contre l'aphte, l'anosmie et l'enrouement, et sont réputées pour être adoucissantes, diurétiques et vermifuges **(ULLAH *et al.*, 2013)**.

I.2.5. Composition chimique du *Portulaca oleracea* L.

Les chercheurs et les nutritionnistes ont prouvé cette plante comme une récolte végétale potentielle pour la consommation humaine en raison de son importance nutritionnelle et pharmaceutique **(AMIRUL *et al*., 2015)**.Plusieurs recherches scientifiques ont montré la richesse de l'extrait de *P. oleracea* par les flavonoïdes, les coumarines, les glycosides monoterpènes et les alcaloïdes **(DIANYU *et al*., 2011; AN SOOK *et al*., 2012)**.

Le pourpier est signalé être riche en acide gras, en particulier l'acide alpha linoléique (oméga-3), lui confère un potentiel thérapeutique aux maladies du système nerveux centrales, la prévention des crises cardiaques et le renforcement du système immunitaire **(BOUTENKO *et al.*, 2008 ; BOSI *et al.*, 2009)**. Aussi il abaisse les niveaux de cholestérol et de triglycérides et augmente la lipoprotéine de haute densité bénéfique (HDL) **(LIU *et al.*, 2000)**. Elle est riche aussi en polysaccharide, l'amidon, tanins, glycoside, d'anthraquinone, l'acide glutamique et l'α-tocophérol **(ABDALLAH, 2010)** et triterpénoïde **(MALLIK *et al.*, 2013).**

P. oleracea contient plusieurs types de vitamines ; Vit B (B1et B2), Vit C et les minéraux tels que ; le magnésium, le manganèse, le calcium, le potassium **(AMIRUL *et al.*, 2014)**, le fer, le phosphore, le zinc **(KAMAL UDDIN *et al.*, 2014)**. Elle contient de grandes quantités de L-noradrénaline (0,25% en herbes fraîches), une neurohormone qui a vasopresseur et activité anti-hypotensive et réduit l'hémorragie au niveau tissulaire **(ANTHONY et DWECK, 2001)**.

I.2.6. Toxicité du *Portulaca oleracea* L.

Plusieurs études ont évalué le degré de toxicité du pourpier. **LALROMAWII *et al.* (2014)**, ont révélé que l'extrait aqueux de *P. oleracea* à la dose de 3000 mg/kg pois corporelle, ne présentait pas d'effet létal, chez le rat Wistar**.** Auparavant**, KISHORE *et al.* (2013),** ont observé que l'extrait éthanolique de *P. oleracea* administré au rat Wistar, à la dose de 2000 mg/kg pois corporelle, n'était pas toxique, pour le rat Wistar **(MALLIKARJUAN *et al.*, 2012 ; REDDY et SOMASUNDARAM, 2013).**

Deuxième partie

partie expérimentale

chapitre II
matériels et méthodes

Ce travail a été effectué au laboratoire pédagogique de l'Université KASDI Merbeh-Ouargla, qui a pour objectif l'évaluation des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des principes actifs issus des graines de trois provenances de pourpier (*Portulaca oleracea* L.), dont deux sont cultivées dans le Sahara septentrional Sud Est-Algérien, dans les régions d'El Oued et Ouargla et la troisième est importée d'Egypte.

II.1. Matériel biologique

II.11. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des graines de trois provenances de pourpier achetées dans des marchés algériens en 2020-2021, dont les données sont répertoriées dans le tableau ci-dessous.

Tableau02 : Origine et lieu d'acquisitions des trois provenances des graines de *P. oleracea*

Provenance	Marchés	Herboriste vendeur
Ouargla	Soug Lahdjer	Mr. Baba ami vendeur des graines locales de la région d'El ksar Ouargla
El Oued	Région de Guemar	Jardinier
Egypte	Région de Said Outba	Mr. Babziz Vendeur des graines introduites et sélectionnées

Les graines sélectionnées sont finement broyées à l'aide d'un broyeur électrique de type Culatti Typ MFC.CZ.13 (Photo 01, Annexe 01) en utilisant un tamis de 0.8 mm de diamètre. Les poudres obtenues (Photo 02) sont conservées dans des flacons sombres en

verre, hermétiquement fermés et placés à l'abri de l'humidité et à température ambiante jusqu'à leur utilisation.

Photo 02 : Graines de pourpier finement broyées

II.1.2. Souches microbiennes

Quatre souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) ont été testées pour rechercher l'activité antimicrobienne de nos extraits.

Ces microorganismes sont classés comme pathogènes et des contaminants proviennent du laboratoire de biologie de l'Ecole Normale Supérieure de Koubba (ENS) à Alger.

La taxonomie et les caractéristiques de chaque souche sont rapportées sous dessous.

Tableau 03 : Souches microbiennes utilisées pour tester l'activité antimicrobienne.

Groupes de germes	Espèces	Codes de référence
Bactérie Gram positif	*Micrococcus luteus*	ATCC 9314
	Listeria monocytogenes	ATCC 13932
Moisissure	*Aspergillus carbonarius*	
Levure	*Candida albicans*	ATCC 10237 M3

II.1.2.1. *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus est une bactérie Gram positif, sphérique, saprophyte faisant partie d'Actinobacteridae, ordre des Actinomycétales et de la famille des Micrococcaceae. Aérobie obligatoire, *M. luteus* est une bactérie du sol, des poussières, de l'eau et de l'air et fait partie de la flore naturelle de la peau des mammifères. La bactérie peut aussi coloniser la bouche et des voies respiratoires supérieures humaines **(GREENBLAT *et al.*, 2004)**. Bien que *M. luteus* ne soit pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergeant engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés **(GREENBLAT *et al.*, 2004).**

Image 01 : Aspect des *Micrococcus luteus* **(Site 01)**

II.1.2.2. *Listeria monocytogene*

Petit bacille à Gram positif, mobile, non sporulé. Aérobie-anaérobie facultatif, fermente de nombreux glucides sans gaz, faisant partie de Bacilli, ordre des Bacillales, famille des Listeriaceae. Ne produit pas d'urée et d'indole.

Le comportement de *L. monocytogene* est assez variable selon les souches, quelque soit le facteur étudié (T°C, pH, aw) et le type de matrice alimentaire. Elle a une température de croissance située entre - 2 et + 45 °C sachant que leur température optimale est située entre + 30 et + 39° C. Leur pH de croissance est de 4,6 à 9,6, pH optimal 7,1. C'est une espèce micro-aérophile mais également peut cultiver en aérobiose et en anaérobiose. Peut cultiver en présence de 30% de CO_2. L'aw minimale 0,90 si le glycérol est utilisé pour ajuster à l'aw 0,92 à 0,93 si le NaCl (=11,5% NaCl), le saccharose ou l'extrait de viande sont utilisés.

Les infections à *L. monocytogene* sont sérieuses mais heureusement « rares». La bactérie pouvant contaminer un certain nombre d'aliments, de nombreuses personnes ingèrent assez fréquemment de petites quantités de *L. monocytogene* sans qu'aucun symptôme n'apparaisse **(CATTEAU, 2006).**

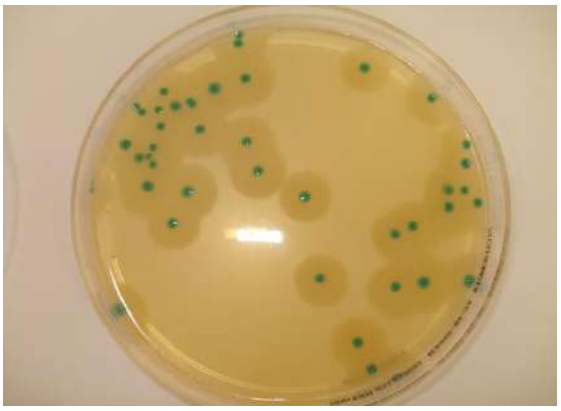


Image 02 : Aspect de *Listeria monocytogene* **(Site 02)**

II.1.2.3. *Aspergillus carbonarius*

Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, polyphages, parfois pathogènes pour l'homme, les animaux et les végétaux et susceptibles de produire des métabolites toxiques comme des malformines, naftoquinones (**BOTTON *et al.*, 1990**).

A. carbonarius est un champignon de type moisissure filamenteux saprophyte qui fait partie des Deuteromycetes (champignons imparfaits, reproduction asexuelle), ordre des Hyphomycetes, famille des Moniliaceae. Il possède un thalle à mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, non ramifiés, terminés en vésicule. Les conidies sont de couleur noire et présentent une forme verruqueuse de diamètre 7-9 µm. *A.carbonarius* présente de sclérotes de couleur jaune grisâtre. Il appartient à la section *Nigri* **(GAMS *et al.*, 1985).** Cette section est considérée très importante d'un point de vue ochratoxigénicité (**ABARCA *et al.*, 1994 ; ONO *et al.*, 1995).**

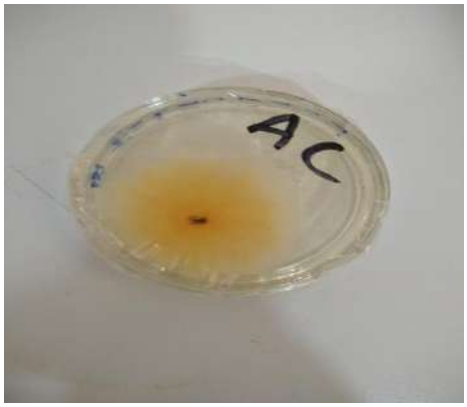


Photo 03 : Aspect d'*Aspergillus carbonarius* **(BEN SMIDA et MESSAID, 2021)**

A. carbonarius est un contaminant majeur de certaines denrées tropicales et subtropicales tels que le raisin et ses dérivés **(ZIMMERLI et DICK, 1996)**. Quelques espèces d'*Aspergillus* noir sont décrites comme étant capables de produire de l'OTA (mycotoxine), notamment l'agrégat *A. niger* et *A. carbonarius* **(ABARCA *et al.*, 1994).**

II.1.2.4. *Candida albicans*

Le genre *Candida* comprend 81 espèces de champignons levuriformes, fait partie de classe Saccharomycetes, ordre Saccharomycetales et de la famille Saccharomycetaceae. Le *Candida albicans* est de forme ovale, bourgeonnante, produit des pseudo-mycéliums en culture, et 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- vaginale (ou de la bouche). Cette espèce est responsable de plus de 80 % des infections comme les

infections superficielles cutanées, infections superficielles muco-cutanées (candidoses cutanéo-muqueuses) **(DELORME et ROBERT, 1997).**

C.albicans provoque aussi des septicémies ou des lésions viscérales profondes dans un contexte d'immunosuppression ou chez les patients en aplasie médullaire (**VENEREOL, 2005**).

Photo 04 : Aspect de *Candida albicans* **(BEN SMIDA et MESSAID, 2021)**

II.2. Méthodologie de travail

II.2.1. Extraction des principes actifs (composés phénoliques)

L'extraction veut dire la séparation des métabolites de tissus végétaux ou animaux à l'aide des solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales **(HANDA, 2008).**

Dans notre travail, l'extraction des principes actifs (polyphénols) est effectuée par la méthode de décoction selon le protocole décrit par **KONKON *et al*. (2006)**. Le processus consiste à réaliser une ébullition de la poudre des graines dans l'eau distillée à raison de 5% (P/V) pendant 30 min et dans un bain Marie bouillant à 95°C (Photo 02, Annexe 01).Puis après filtration à l'aide d'un papier filtre Wattman N° 01(Photo 03, Annexe 01), le solvant est éliminé du filtrat à l'aide d'une étuve à 40 °C.

Les extraits secs obtenus sont conservés dans des flacons sombres en verre hermétiquement fermé jusqu'à leur utilisation.

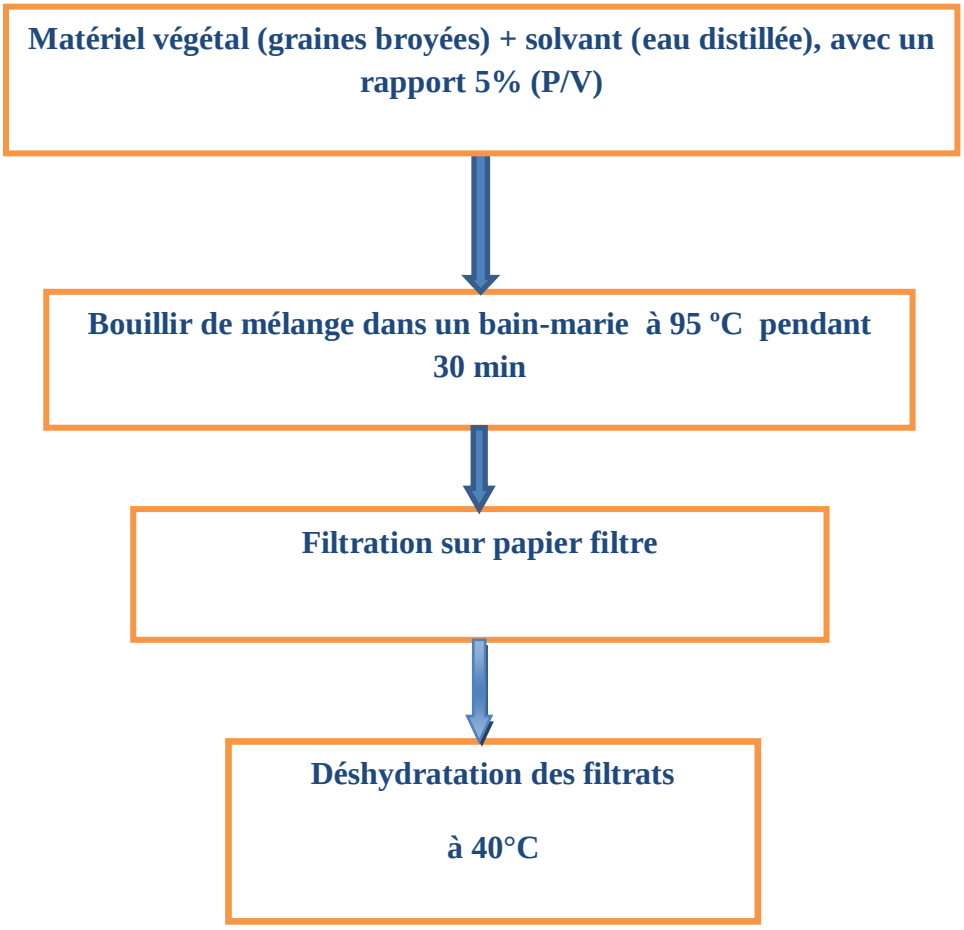


Schéma 01: Protocole de préparation des extraits aqueux**.**

II.2.2. Détermination de rendement d'extraction

Le poids des extraits secs obtenus est déterminé par la différence entre le poids de la boîte de Pétri plein (après évaporation) et leur vide (avant évaporation). Le rendement en extrait brut est calculé selon la formule suivante:

Rendement d'extraction (%)= [(P1-P2) / PV] × 100

Rd : Rendement d'extraction.

P1: Poids de l'extrait après évaporation.

P2: Verre de montre vide.

PV: Poids de la poudre du matériel végétal utilisé pour l'extraction.

II.2.3. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des extraits est réalisé par la méthode de **SINGLETON *et al.* (1999)** 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.

Un volume de 300 µl d'extraits est mélangé avec 1,5 ml du réactif Folin-Ciocalteu diluée 10 fois. Laisser en repos pendant 04 min, ajouter ensuite 1,2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 7.5%, le tout est bien agité. Le mélange réactionnel est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 01 heure. Enfin, la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm. Un courbe étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations (Figure 01, Annexe 02).Tous les essais sont répétés trois fois.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg eq AG/g de MS).

II.2.4. Dosage des flavonoïdes

Les contenus en flavonoïdes des extraits ont été déterminés selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium décrite par **KOSALEC *et al.* (2004)**.

Le milieu réactionnel se compose de 02 ml d'extraits ou standard (préparées dans le méthanol à 80%) additionné à 02 ml de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 2% fraichement préparé dans le méthanol. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 430 nm et les teneurs en flavonoïdes sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage réalisée par la quercétine à différentes concentrations (Figure 02, Annexe02).Tous les essais sont répétés trois fois.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg eq QR/g de MS).

II.2.5. Dosage des tanins totaux

La détermination des tanins totaux de nos extraits est réalisée par la même méthode de Folin-Ciocalteu après précipitation des tanins par la gélatine selon la procédure décrite par **ADEWUSI *et al*. (2011).**

3000 µl de chaque extrait sont homogénéisés avec 250 mg de gélatine dans 3000 µl d'eau distillée. Après homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange tanins- gélatine est incubé à 4°C pendant 15 min, ensuite il est filtré par un papier filtre. Après centrifugation à 4000 rpm pendant 15 min ; les composés phénoliques non adsorbés (constituant le surnageant) sont dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu comme précédemment décrite. Tous les essais sont répétés trois fois.

Les valeurs obtenues sont soustraites de la teneur en polyphénols totaux et les teneurs en tanins totaux et sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg eq AG/g de MS).

II.2.6. Evaluation de l'activité antioxydante par méthode d'ABTS

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical cation ABTS•+ (Acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Ce dernier est réduit à la forme ABTS en acceptant un atome d'hydrogène (H•) (Figure 06). La capacité des extraits aqueux des graines de *P. oleracea à* piéger l'$ABTS^{\bullet+}$ est mesurée par la procédure décrite par **RE *et al*. (1999).**

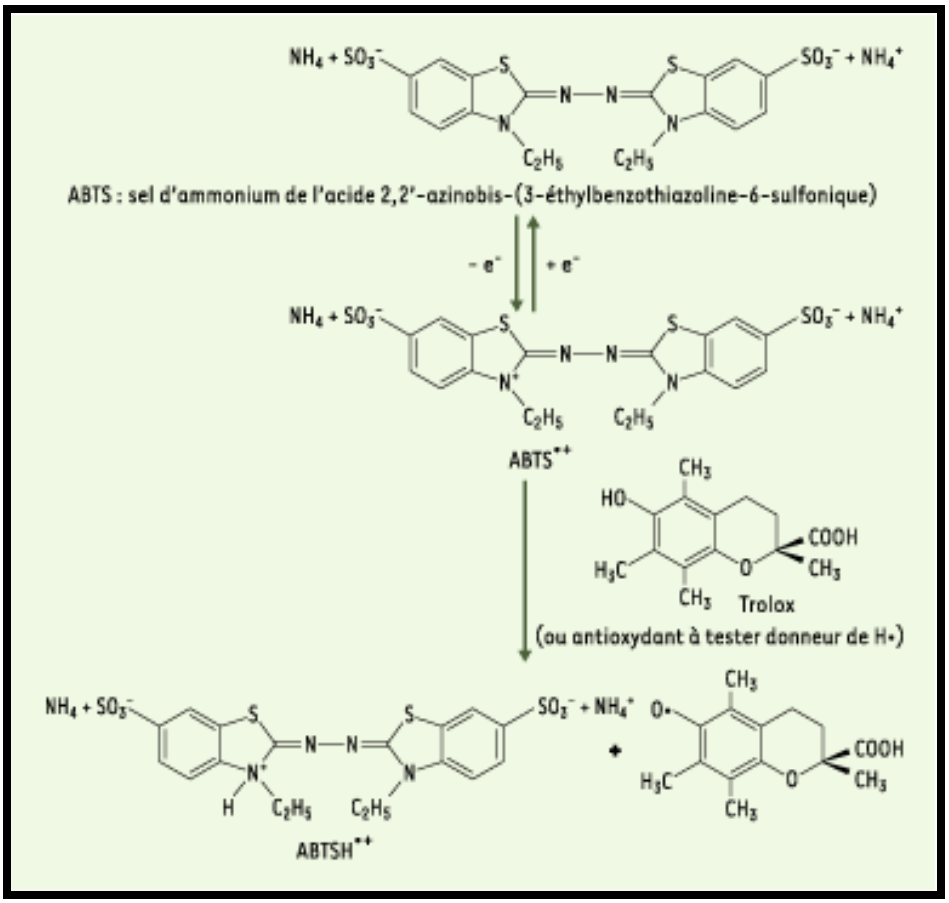


Figure 06 : Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant donneur de H•

(LIEN *et al.*, 1999)

Le cation ABTS•+ est obtenu par la réaction de la solution mère d'ABTS (5 ml) avec 88 µl de la solution du persulfate de potassium (2.45 mM). Le mélange est incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 12-16 h avant l'utilisation.

La solution ABTS•+ est diluée avec de l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,700 à 734 nm. Ensuite, 2.9 ml de cette solution est ajouté à 100 µl d'extraits ou d'acide ascorbique à différentes concentrations. Bien que tous les essais sont répétés trois fois et après 05 min d'incubation, l'absorbance est lue à 734 nm et le pourcentage d'inhibition est calculé pour chaque concentration comme suit:

Pourcentage d'inhibition (%) = [(Abs Blanc– Abs Echantillon)/ Abs blanc]X 100.

Les résultats sont exprimés en IC50 % qui est la concentration qui a piégé 50% du radical ABTS•+

II.2.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne

La méthode de diffusion sur milieu gélose décrite par **BENJELALI *et al.* (1986)** a été utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits aqueux des graines de *P. oleracea*.

Cette méthode a exactement le même principe que celui de l'antibiogramme, repose sur la diffusion de l'agent antimicrobien en milieu gélosé et se fait par l'utilisation des puits ou l'application des disques imprégnés par des principes actifs sur la surface des milieux de cultures préalablement ensemencés par les germes testés dont la concentration est de 10^6 à 10^8 germes/ ml (figure 07).

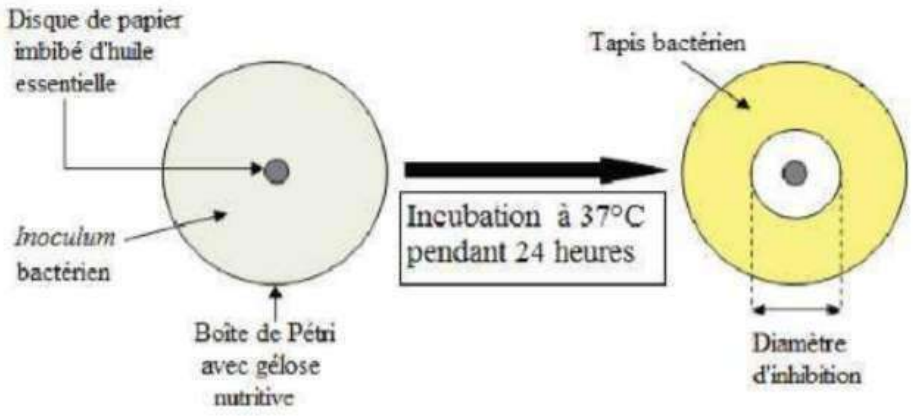


Figure 07: Principe de la méthode de diffusion sur disques **(GANOU, 1993)**

II.2.7.1. Méthode de diffusion sur milieu gélose (méthode des disques)

II.2.7.1.1. Préparation de préculture

Pour assurer la revivification des souches microbiennes conservées, les souches sont ensemencées à partir de la culture mère sur des boîtes de pétri contenant une gélose Muller Hinton ou Saboureaud, puis incubées pendant 24 h à 37°C ou pendant 48 h à 28°C, respectivement pour les bactéries et les champignons ou levures.

II.2.7.1.2. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune (âgée de 16-24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les champignons ou les levures), on a choisi 2 à 3 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube contenant 10 ml de l'eau physiologique stérile (Photo 04, Annexe 03). Après homogénéisation à l'aide d'un vortex, la densité bactérienne de la suspension a été ajustée à 0,5 Mc Ferland (10^6à 10^8 UFC/ ml), équivalente à une densité optique de 0.08 à 0.1 lue à 600 nm.

II.2.7.1.3. Ensemencement de la suspension microbienne sur les milieux gélosés

L'ensemencement se fait par inondation de façon à recouvrir entièrement la surface gélosée, l'excès est aspiré. Les boîtes ainsi ensemencées sont mises à sécher 15 min à 37ºC.

II.2.7.1.4. Incubation

Des disques stériles de papier Wattman N°03 de 6 mm de diamètre ainsi imprégnés chacun avec 10 µl des solutions des extraits à tester avec différentes concentrations de 20, 10, 5, 2.5, 1.25 mg/ml dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à 50% **(NGAMENI *et al.*, 2009)**. Ces disques chargés des principes actifs (Photo 05, Annexe 03) sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieu gélosé. Ils doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface du milieu.

Afin de faciliter la diffusion des extraits des graines ; les boîtes sont déposées pour 25 minutes à 4ºC.

Les boîtes sont incubées 24 heures à 37 ºC concernant les bactéries et 48 heures à 28°C concernant les champignons et les levures. Après 24/48 heures d'incubation.

Des témoins négatifs (disques imprégnées par le DMSO à 50% et eau distillée stérile) sont utilisés. Tous les essais sont répétés trois fois **(CHOI *et al.*, 2006; COHEN, 2013).**

II.2.7.2. Méthode de diffusion sur milieu gélose (méthode des puits)

Pour réaliser ce test on utilise le milieu gélosé Muller-Hinton pour les souches bactériennes examinées, et Saboureaud pour les espèces fongiques. Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, puis les boîtes sont séchées à 37°C pendant 30 min avant l'utilisation.

La surface gélosée est ensemencée aseptiquement par une suspension de 10^6 à 10^8 germes/ ml qui provient d'une culture microbienne jeune, et l'excès est éliminé par aspiration à l'aide d'un écouvillon stérile.

Après le séchage des boîtes, la surface gélose est perforée à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur on provoque six puits (sous forme d'un trou de 6 à 8 mm de diamètre) (photo 05). Chaque puits reçoit environ 40 µl d'extraits aqueux des graines de *P. oleracea* à différentes concentrations de 20, 10, 5, 2.5 et 1.25 mg/ml dissout dans l'eau distillée stérile. Les puits témoins recevant de l'eau distillée stérile**.** Tous les essais sont répétés trois fois.

Les boîtes sont mises à incuber dans une étuve à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 28°C pendant 48h pour les champignons et les levures **(BELKHIRI et BAGHIANI, 2017; ADIMI, 2018)**.

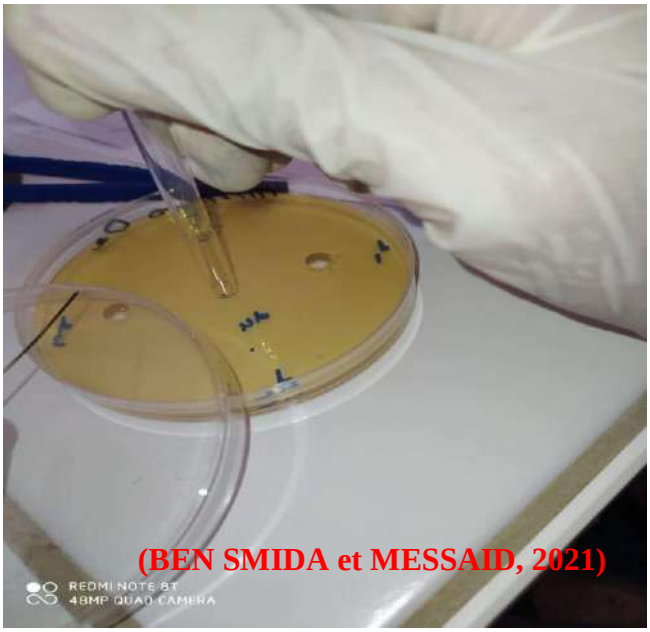


Photo 05: Création des puits **(BEN SMIDA et MESSAID, 2021)**

II.2.7.3. Lecture des résultats

Après incubation, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque ou par la formation d'une auréole autour des puits, dont les diamètres d'inhibition sont mesurés en mm à l'aide d'une règle.

Les résultats expérimentaux sont exprimés par le moyen± écart type.

Chapitre III

Résultats et discussions

III.1. Rendements en extraits bruts des graines de trois provenances de pourpier étudiées

Après la préparation des extraits et leur filtration, les filtrats obtenus sont concentrés à 40°C jusqu'à la dessiccation totale en vue de déterminer les rendements d'extraction ainsi que les aspects physiques des extraits obtenus. Les résultats enregistrés sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau 04: Caractéristiques organoleptiques et rendements en extraits bruts des décoctés des graines de trois provenances de pourpier étudiées

Provenance	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Ouargla	Visqueux	Marron claire	21
El- Oued	Visqueux-huileux	Marron foncé	20
Egypte	Visqueux	Marron claire	16

Il ressort à travers l'analyse des données regroupées dans le tableau 02, que les rendements d'extractions calculés à partir du poids sec de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche, ils sont identiques chez les deux provenances locales, de Ouargla (21%) et d'El oued (20%) et qu'ils sont faibles chez celles introduites d'Egypte (16%), soit des taux de réduction estimés à 20 et 25% comparant respectivement à ceux exprimés des graines d'El oued et de Ouargla.

III.2. Résultats d'analyse quantitative

La raison principale d'étudier les composés phénoliques réside dans le fait que la majorité des propriétés biologiques des plantes (antioxydante, antimicrobienne,…etc.) sont attribuées.

Les contenus en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins totaux de nos échantillons sont déterminées à partir de l'équation de régression linéaire des courbes d'étalonnage de l'acide

gallique pour les polyphénols totaux et les tanins totaux et de la quercétine concernant les flavonoïdes.

III.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des extraits des graines de trois provenances de *P. oleracea* ont été déterminées en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu selon la méthode de **SINGLETON *et al.* (1999)** et les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessous.

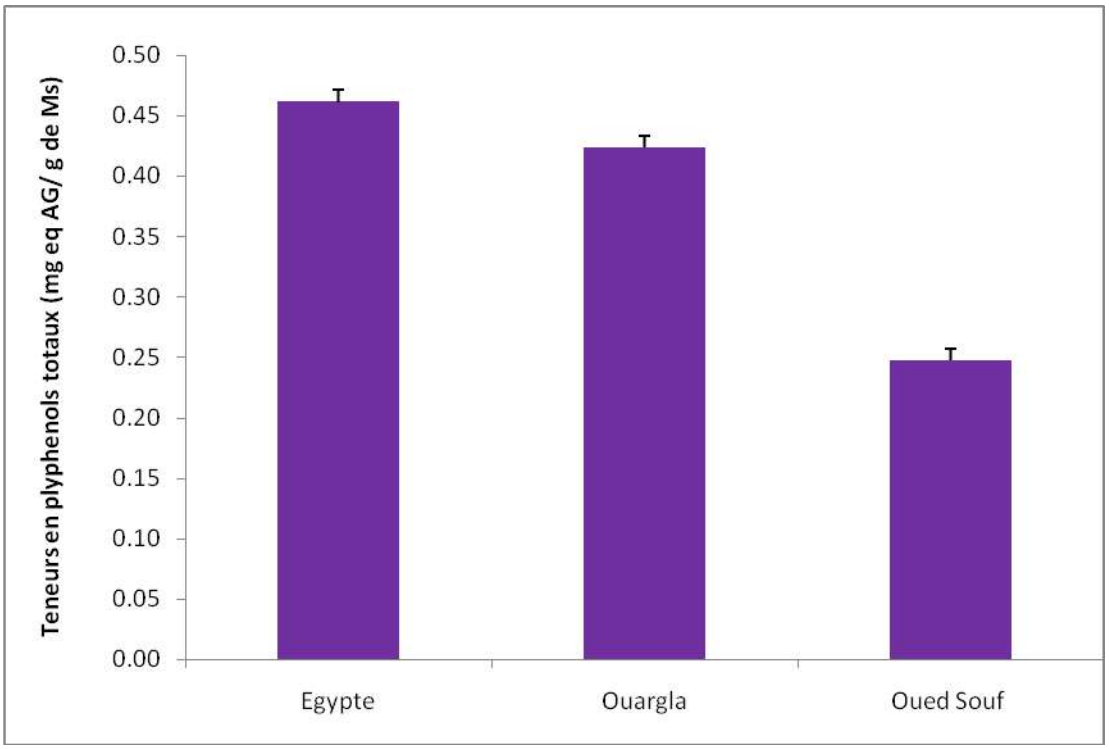


Figure 08 : Teneurs en polyphénols totaux des décoctés aqueux des graines de trois provenances de *P. oleracea*.

Les résultats obtenus révèlent une variabilité considérable dans les contenus en polyphénols totaux en fonction de la provenance des graines. En effet, les décoctés des graines de pourpier originaire d'Egypte sont les plus riches en ces composés phénoliques avec des teneurs égales à 46.13± 3.50 mg eq AG/g de MS, suivie par ceux préparés à partir des graines récoltées dans la région de Ouargla (42.37±0.46 mg eq AG/g de MS). Les extraits aqueux des graines proviennent d'El Oued sont les moins dotés en polyphénols totaux, ses

teneurs sont presque deux fois moins faibles (24.75 ±0.33 mg eq AG/g de MS) comparant à celles enregistrées chez les graines introduites d'Egypte et locales (de Ouargla).

Cette différence dans les teneurs en polyphénols totaux des extraits aqueux des graines de trois provenances de *P. oleracea* étudiées peut être expliquée par l'influence des facteurs génétiques **(SANTIAGO-SAENZ *et al.*, 2018)** et des facteurs édapho-climatiques (localisation géographique, utilisation des engrais,….etc.), sachant que, ces molécules exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement **(PODSEDEK, 2007; FALLEH *et al*., 2008; KABERA, 2014)**.

DIXONET *et al.* (1995) et **NACZK *et al.* (2004),** ils ont trouvé que les contenus en polyphénols des plantes sont influencés de façon générale par la réponse au stress biotique et abiotique, tels que la salinité qui stimule la production des composés phénoliques **(NAVARO *et al.*, 2006)** et les rayons ultraviolets (**WINKEL-SHIRLEY, 2002).**

Ceci a été confirmé par les travaux de **LEFKIH et BENALI (2020),** qu'elles sont trouvé que les teneurs en polyphénols des extraits méthanoliques obtenus par macération des graines de *P. oleracea* récoltées dans trois différentes stations de la Wilaya d'El Oued, les valeurs enregistrées se diffèrent selon la hauteur de la station au niveau de la mer soit, (16.350 mg eq AG/g de MS) en Tegdidine, qui est élevé par 38 m au niveau de la mer, (20.990 mg eq AG/g de MS) en Aïn choucha avec 64 m au niveau de la mer et (26.914 mg eq AG/g de MS) en El Morrara avec 105 m au niveau de la mer. Ces valeurs sont proches à nos résultats concernant les extraits aqueux issus des graines d'El Oued (24 ±0.007 mg eq AG/g de MS). **UDDIN *et al.* (2012 a)**, ont trouvé que l'extrait aqueux des feuilles de *P.oleracea* originaire du Malaysia un taux de phénols totaux de l'ordre de 1,428 µg eq AG/ g d'extrait, qu'il est nettement inférieur à ceux notés dans nos extraits.

L'extraction par macération à l'eau et au méthanolique des graines de *Nigella sativa* L. (*Renonculaceae*) a donnée des teneurs en phénols totaux égaux à 163,33±3,05 µg eq AG/mg d'extrait et 163,33±10,26 µg eq AG/mg d'extrait, respectivement **(TALBI *et al.*, 2015).** Ces teneurs sont supérieures à celles obtenus par décoction à l'eau de notre matériel végétal testé.

III.2.2. Dosage des flavonoïdes

L'évaluation des contenus en flavonoïdes des extraits aqueux des graines de trois provenances de *P. oleracea* ont été réalisée suivant la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium. Les données enregistrées sont illustrées dans les histogrammes de la figure 09.

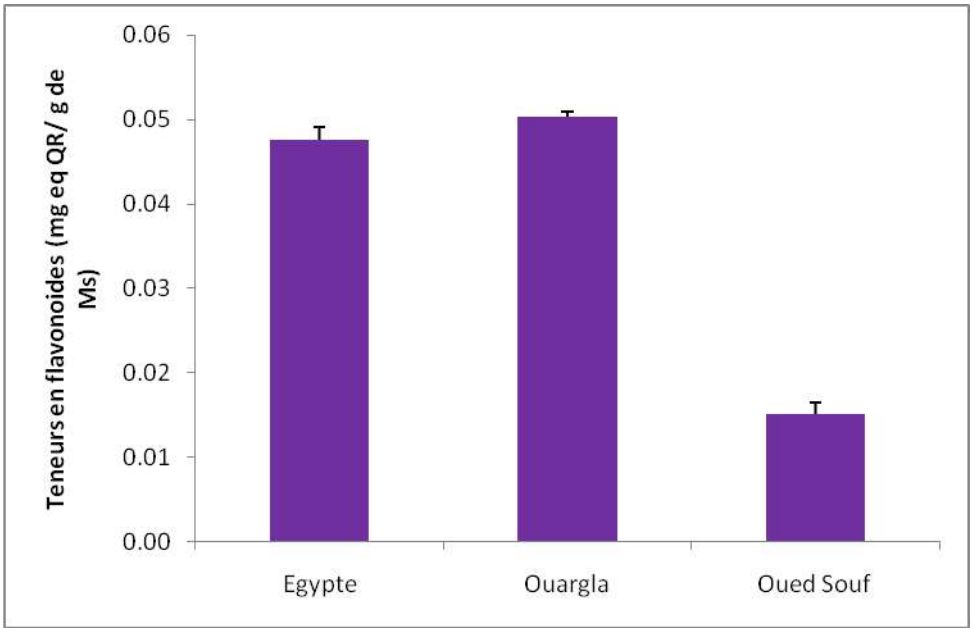


Figure 09: Teneurs en flavonoïdes des décoctés aqueux des graines de trois provenances de *P. oleracea*.

Au vu des histogrammes de la figure ci-dessus, il apparaît que les flavonoïdes sont présents dans tous les extraits avec des concentrations variantes. En effet, les extraits aqueux obtenus par décoction des graines de pourpier provenant de la région de Ouargla et introduites d'Egypte enregistrent une abondance remarquable de contenu en flavonoïdes avec (05.03± 0.06 et 4.75± 0.16 mg eq QR/g de MS, respectivement) comparant à ceux issus des graines de pourpier collectées dans la région d'El Oued avec des teneurs estimées à 1.51± 0.13 mg eq QR/g de MS.

RAHAL et RAHAL (2019), rapportent des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de 0,28±0,001 mg eq QR/g d'extraits obtenus par macération aqueuse des feuilles de *P. oleracea* récoltée dans la région d'El Oued. Aussi, **GUENZAT (2012),** note des teneurs en flavonoïdes de 0,14 mg eq QR/g d'extraits aqueux lyophilisés des feuilles de *P. oleracea* collectée dans la région de Touggourt. Ces teneurs sont inférieures à celles exprimées dans nos extraits.

III.2.3.Dosage des tanins totaux

Les taux en tanins totaux ont été estimés par la méthode de Folin-Ciocalteu après précipitation par la gélatine. Les données enregistrées sont représentées dans la figure 10.

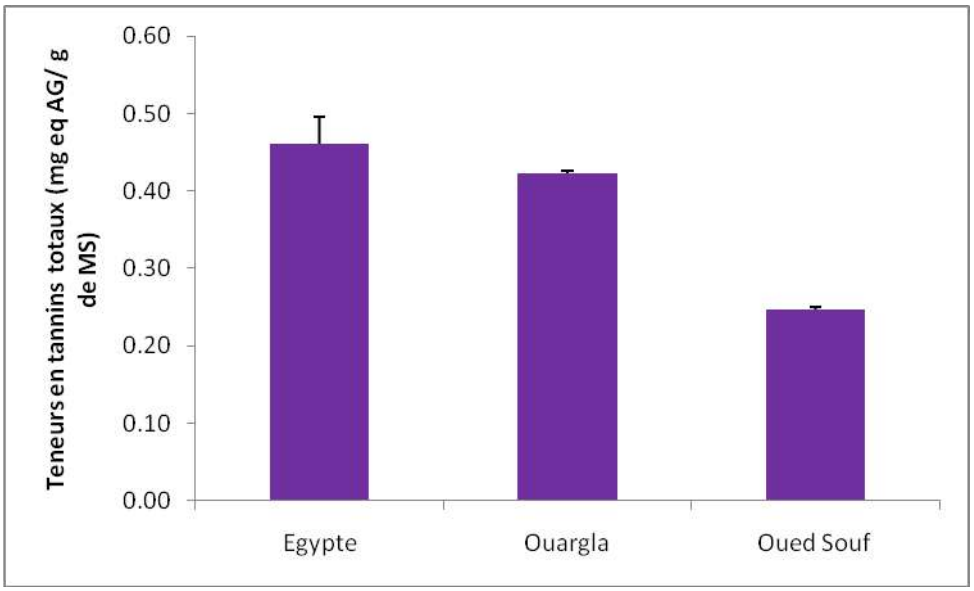


Figure 10 : Teneurs en tanins totaux des décoctés aqueux des graines de trois provenances de *P. oleracea*.

L'analyse quantitative des tanins totaux avait renseigné également sur la richesse des extraits aqueux des graines d'Egypte en ces métabolites (46.09 ±3.50 mg eq AG/g de MS), suivi par ceux des graines de Ouargla 42.22±0.46 mg eq AG/g de MS et enfin vient le décocté des graines d'El Oued 24.67±0.32 mg eq AG/g de MS (figures10).

Il est important de signaler que les tanins totaux représentent la fraction majoritaire des composés phénoliques par rapport aux flavonoïdes dans nos extraits.

GUENZAT (2012), dans ses travaux sur les extraits aqueux lyophilisés des feuilles de *P. oleracea* L. a enregistré des taux faibles (0,88±0.02 mg eq AG/g d'extrait) en tanins totaux après leur précipitation à l'albumine de sérum bovin. **DABBOU** et ses collaborateurs **(2020),** notent que les extraits aqueux des feuilles et des tiges de *P.oleracea* originaire de Tunisie,

contiennent des taux en tanins condensés de l'ordre de 7.72± 0.17et 6.52 ±0.17 en mg eq C/g de MS, respectivement.

Ces résultats révèlent une variabilité considérable dans les contenus en tanins en fonction du type de tanins totaux ou condensés, lieu de récolte, l'organe ciblé et le type de précipitant utilisé. Selon **SKADHAUGE *et al.* (1997),** le stade de développement végétatif d'une plante joue un rôle remarquable dans la répartition des tanins dans une plante. Leur concentration varie considérablement entre les différentes espèces végétales et au sein de la même espèce où elle dépend du degré de maturité et de la saison de récolte **(SKADHAUGE *et al.*, 1997).**

III.3. Résultats d'évaluation des activités biologiques

III.3.1. Activité antioxydante

De nombreuses études indiquent que les effets protecteurs de *P. oleracea* contre les insectes pathogènes pourraient être dus à son activité antioxydante. Bien que les antioxydants neutralisent ou éliminent les radicaux libres avant qu'ils n'attaquent les cellules et autres composants biologiques. Ils sont donc essentiels au bien-être et à la protection d'une santé optimale **(PERCIVAL, 1998).**

Le test ABTS (Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) a été utilisé pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de nos extraits étudiés. Les résultats obtenus sont exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50), ils sont présentés dans les histogrammes de la figure11.

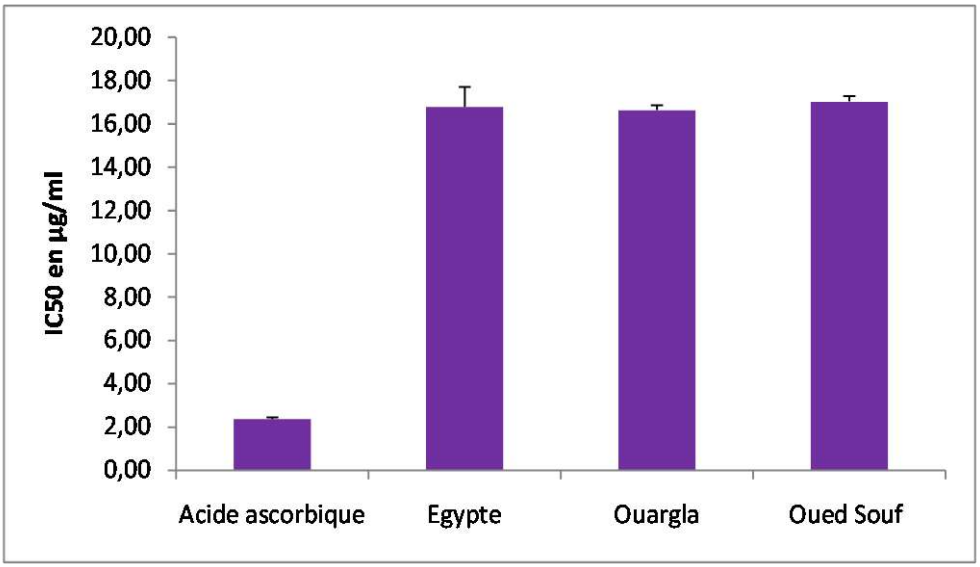


Figure 11 : Résultats d'évaluation de l'activité antioxydante des décoctés aqueux des graines de trois provenances de *P. oleracea.*

D'après les histogrammes de la figure 11, les résultats d'activité antioxydante des décoctés aqueux des graines de Ouargla et d'Egypte sont les plus aptes à réduire le radical cation $ABTS^{\circ+}$**,** avec des concentrations effectrices de 50% presque similaires, soit 16.63±0.22 et 16.78±0.93µg/ml, respectivement. Les extraits aqueux des graines d'El Oued exprimés une IC50 estimé à 17.02±0.25 µg/ml.

En comparaison avec l'antioxydant standard (acide ascorbique) utilisé comme contrôle positif et qui présente une IC50 égale à 2.37±0.22, nos extraits restent moins actifs.

L'efficacité antioxydante de pourpier est estimée par plusieurs auteurs. En Tunisie, **DABBOU et ses collaborateurs (2020),** indiquent que les extraits aqueux des feuilles et des tiges de *P. oleracea* ont exhibé une meilleure potentialité à piéger le radical $ABTS^{\circ+}$ avec des IC50 de 6.03 ± 0.01 et 5.08 ±0.06 mg/ml, successivement. **AMEZIANE (2016)**, a trouvé que l'extrait hydro-méthanolique obtenu par l'infusion des feuilles et tiges de *P.oleracea* récoltée dans la région de Meghnia à Tlemcen est plus efficace dans la réduction du radical DPPH° que celui préparé par la décoction et la macération avec des IC50 de, 68.65 µg /ml contre 99.93 µg /ml et 148 µg /ml, respectivement.

Nos résultats d'évaluation de l'activité antioxydante sont en corrélations avec ceux de l'examen quantitatif des composées phénoliques, dont on a enregistré que les extraits aqueux des graines provenant de Ouargla et d'Egypte sont les plus riches en polyphénols totaux et en tanins totaux, parallèlement, ils sont les plus efficace dans le piégeage du radical $ABTS^{\circ+}$.

Les polyphénols sont des supports majeurs de l'activité antioxydante. Cette activité est directement liée à la structure phénolique qui confère à la molécule la capacité de générer des radicaux libres stabilisés par résonance (**YORDI, 2012**). Ces métabolites possèdent des groupes hydroxyles phénoliques (Ar-OH) qui peuvent donc fournir des hydrogènes pour neutraliser et stabiliser les radicaux libres. Le composé phénolique « radicalaire » résultant, est stabilisé par la délocalisation des électrons sur le cycle benzénique (**LÜ *et al.*, 2010**).

III.3.2. Activité antimicrobienne

Pour évaluer une éventuelle activité antibactérienne des décoctés des graines de trois provenances de pourpier étudiée, nous avons les tester sur deux souches bactériennes (*Listeria monocytogene* et *Micrococcus Luteus*), une levure (*Candida albicans)* et un champignon (*Aspergillus carbonarius*) par deux techniques de diffusions sur disques et des puits, qui sont basées sur la mesure des zones d'inhibition apparents autour des disques ou des puits chargés des extraits. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 12 et 13.

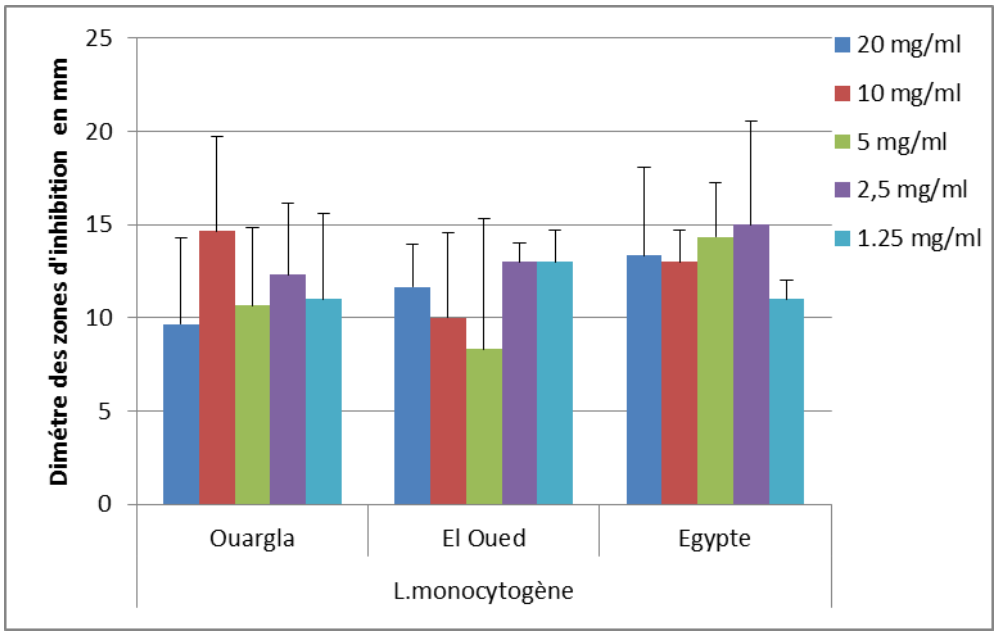


Figure 12 : Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des disques envers *Listeria monocytogenes*

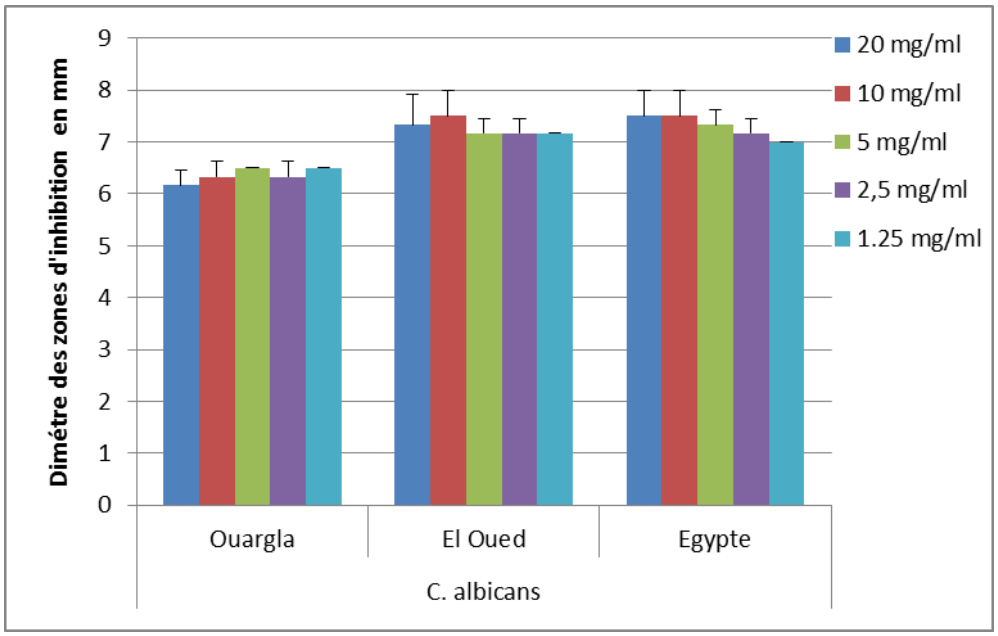


Figure 13 : Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des disques envers *Candida albicans*

Les extraits testés présentent un léger pouvoir inhibiteur envers *Listeria monocytogene* et *Candida albicans* (Photo 06 et 07, Annexe 04). Les décoctés issus des graines d'Egypte ont un effet inhibiteur moyennement élevée comparant à ceux obtenus des graines locales (El Oued et Ouargla) envers *Listeria monocytogene*, avec des diamètres d'inhibition allant de (11±1 à 15±5.57 mm) contre (8.33±7.02 à 13±1.73 mm) et (9.67±4.62 à 14.67±5.03 mm),

respectivement pour la méthode de diffusion sur disques (figure 12). Concernant la méthode de diffusion sur des puits, les diamètres des zones d'inhibition se situent entre 6.67±0.58 à 10.33±1.53 mm contre (07±01 à 8.67±2.08 mm) et (07±01 à 9.33±0.58 mm) (figure 13).

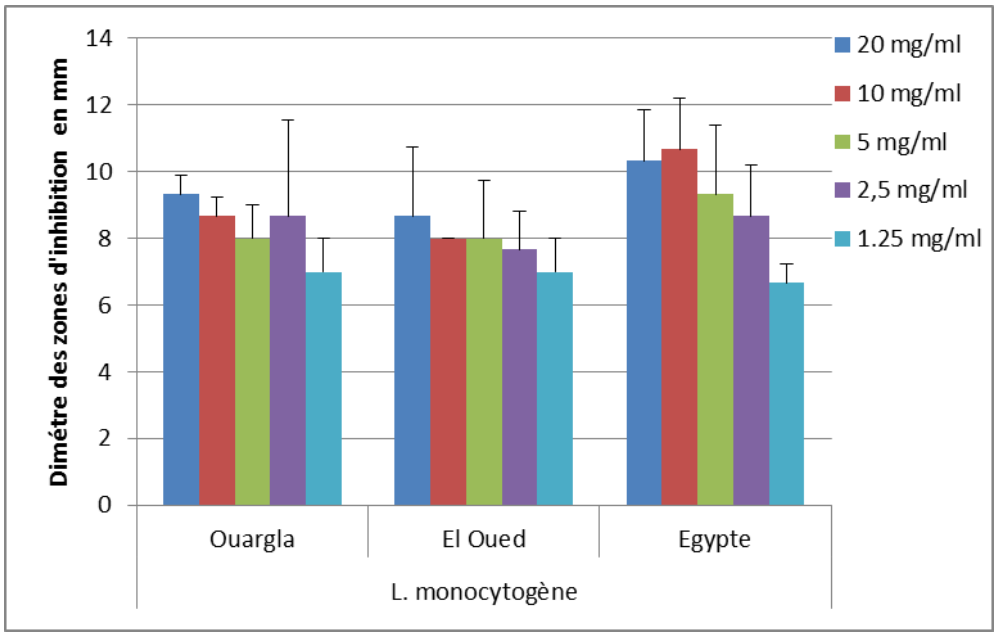


Figure 14 : Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des puits envers *Listeria monocytogens*.

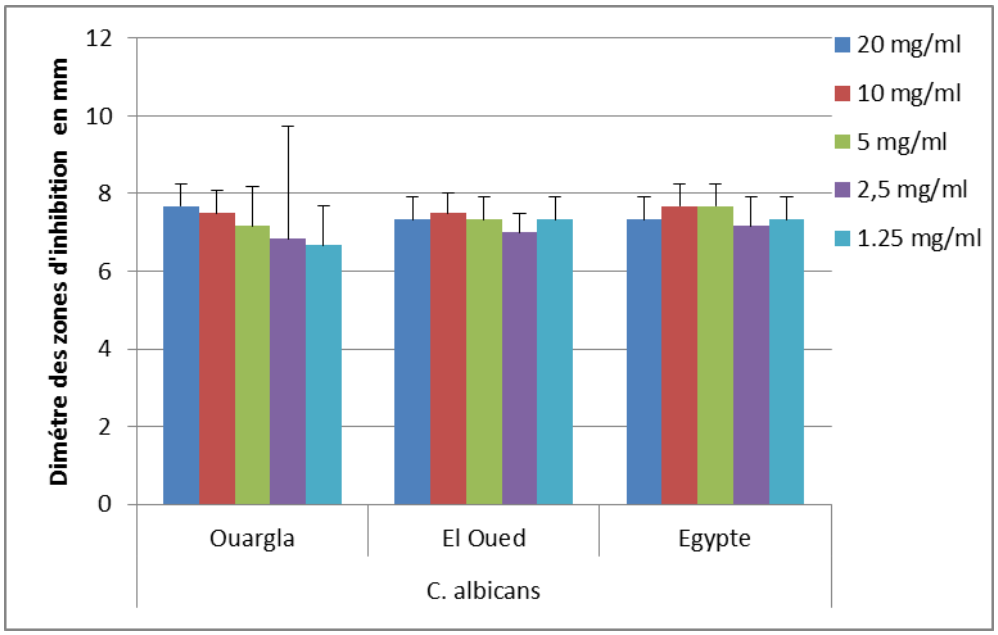


Figure 15 : Résultats d'évolution de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion sur des puits envers *Candida albicans*.

Tous les extraits ont presque des mêmes diamètres d'inhibition envers *Candida albicans*.

Il a noté que les extraits aqueux testés n'ont montré aucun effet inhibiteur contre *Aspergillus carbonarius* et *Micrococcus luteus.*

RAMESH et HAMUMANTAPPA (2011), avaient signalé un effet inhibiteur des extraits chloroformique et éthanolique de la partie aérienne de *P. oleracea* contre trois bactéries (*Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* et *Klebisilla pneumonia*) et deux champignons (*Aspergillus niger* et *Nerospora crassa*). En revanche, l'extrait brut éthanolique a montré un effet maximal sur *Staphylocoque doré, Klebisilla pneumonia* et *Neurospora crassa*, tandis que l'extrait chloroformique sa montré un effet modéré sur *Klebisilla pneumonia, Aspergillus niger* et *Nerospora crassa.* Aussi, **ERCISLI *et al.*(2008),** ont mentionné que les extraits méthanoliques des feuilles de *P. oleracea* ont montré des activités antibactériennes contre *Bacillus subtilis, Pseudomonas syringaepv. Tomate, Vibrio cholerae* et *Yersinia pseudo tuberculosis*. Au contraire les extraits aqueux n'ont aucune action inhibitrice contre ces micro-organismes.

L'effet inhibiteur des décoctes des graines de *P. oleracea* envers *Candida albicans* et *Listeria monocytogene* peut être expliqué par les résultats de l'analyse phytochimique, qui révèle la richesse de nos échantillons en composés phénoliques. **DHAOUADI *et al*. (2010),** ont rapporté que l'action inhibitrice de ces composés peut être due à l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques **(MILANE, 2004).**

Toutefois, la différence dans les activités antimicrobiennes entre les extraits aqueux de ces trois provenances de pourpier étudiée est probablement tributaire à la nature des molécules contenues dans chacune d'elles ou à la capacité de ces molécules de diffuser uniformément dans le milieu gélosé. En effet, l'efficacité optimale d'un extrait peut être due à une synergie entre différents composés (action combinée) ou au constituant actif majoritaire **(ESSAWI et SROUR, 2000 ; GERTSCH, 2011).**

La méthode des disques est basée sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à tester. Dans le cas des solutions avec une basse activité, une grande concentration ou volume est nécessaire; néanmoins la capacité des disques est limitée. C'est pourquoi certains extraits exhibent des zones d'inhibition incomplètes qui peuvent être attribuées à une résistance par déficience de dose d'extrait **(GÜLÇIN *et al.*, 2004).**

Sachant que les mécanismes d'action des produits antimicrobiens autres que les antibiotiques restent encore généralement peu et mal connus. Les agents chimiques antimicrobiens se classent en deux catégories selon leur effet. Le premier est létal (bactéricide, virucide, fongicide). Le second correspond à une inhibition de croissance en présence du produit actif (bactériostatique, fongistatique).L'effet antimicrobien des polyphénols peut être dû à l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation des métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien **(MILANE, 2004)**, dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, se qui cause une fuite des composants cellulaires, l'influence de la synthèse de l'ADN et l'ARN **(ZHANG *et al.*, 2009),** des protéines, des lipides et la fonction mitochondriale **(BALENTINE *et al.*, 2006)**, ainsi que la formation des complexes avec la paroi **(GANGOUE PIEBOJI, 2007)**.

A titre d'exemple, les tanins ont la capacité d'empêcher le développement des colonies bactériennes par la destruction de leurs parois cellulaires **(VILJOEN *et al.*, 2003; ERASTO *et al.*, 2004).** Chung **(2001),** a trouvé que l'acide tannique a inhibé la croissance des bactéries des aliments comme ; *Alealigenes faecalis, Enterobacter aerogenes ,Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae , Proteus vulgaris , Pseudo fluorescens ,Salmonella enteritidis, Salmonella paratyphi ,Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Streptococcus pyogenes* et *Yersinia enterocolitica*. Les bactéries intestinales humaines comme ; *Bacteroides fragilis, Clostridium clostridiiforme, Clostridium perfringens, Clostridium paraputrficum, Enterobacter cloacae, Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* sont aussi inhibées par l'acide tannique **(CHUNG, 2001).**

Plusieurs recherches ont signalé la présence régulière d'activité antibactérienne chez les flavonoïdes. Ainsi, le retrochalconelicochalcone C (4,4'-dihydroxy-2'-methoxy-3'-prenyl) est actif contre *Staphylococcus aureus* avec une concentration inhibitrice minimale de

croissance (CMI) de 6.25 µg/ ml **(HARAGUCHI *et al.*, 1998).** Aussi, le constituant 5,7-dihydroxy-3,8-dimethoxy flavone a une CMI de 50µg/ ml contre *Staphylococcus epidermis* **(INIESTA-SANMARTIN *et al.*, 1990).** La 5, 7,2',6'-tetrahydroxy-6-prenyl-8-lavandulyl-4'-methoxy-flavanone inhibe complètement la croissance de *Staphylococcus aureus* à des concentrations entre 1.56 et 6.25 µg/ ml **(IINUMA *et al.*, 1994).**

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les ressources naturelles du règne végétal restent la source fiable et capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. Le présent travail vise à rechercher l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits aqueux obtenus à partir des graines de trois provenances de *P. Oleracea* (Portulacaceae).

L'investigation phytochimique des décoctés des graines de trois provenances de *P. oleracea* dont deux sont locaux récoltées dans les régions de Ouargla et d'El Oued et une est importé d'Egypte, qui est concernée le dosage des phénols totaux, flavonoïdes et tanins totaux, a révélé la richesse de cette espèce en ces métabolites bioactifs.

Les décoctés issus des graines de pourpier introduit d'Egypte sont les plus riches en polyphénols et en tanins totaux avec des teneurs de l'ordre de 46.13± 3.50 et 46.09 ±3.50 mg eq AG/g de MS, successivement. Ceux préparés à partir des graines de pourpier provenant de la région de Ouargla sont les plus pourvues en flavonoïdes avec (05.03± 0.06 mg eq QR/g de MS).

Les graines les moins dotées en ces métabolites étant celles récoltées dans la région d'EL Oued.

L'étude de l'activité anti-radicalaire de nos extraits *vis-à-vis* le radical ABTS°+ a montré que les décoctes des graines de Ouargla et d'Egypte sont les plus efficaces pour réduire l'ABTS$^{\circ+}$**,** avec des IC50 respectives de 16.63±0.22 et 16.78±0.93 µg/ml. Toutefois, ces capacités anti-radicalaires restent faibles par rapport à celle exprimée par l'acide ascorbique (IC50=2.37 µg/ml).

La recherche de l'activité antimicrobienne suivant la méthode d'antibiogramme sur disques et des puits a révélé que les décoctés des graines d'Egypte ont un effet inhibiteur relativement important que ceux obtenus des graines locales (El Oued et Ouargla) envers *Listeria monocytogene*, avec des diamètres d'inhibition allant respectivement de (11±1 à 15±5.57 mm) contre (8.33±7.02 à 13±1.73) et (9.67±4.62 à 14.67±5.03 mm), pour la méthode de diffusion sur disques et de (6.67±0.58 à 10.33±1.53 mm) contre (7±1 à 8.67±2.08 mm) et

(7±1 à 9.33±0.58 mm), pour la méthode de diffusion sur des puits. Alors que, ces extraits ont presque des mêmes actions inhibitrices *vis-à-vis Candida albicans*. En revanche, tous les extraits ont montré inactif contre *Aspergillus carbonarius* et *Micrococcus luteus.*

Cette espèce alimentaire à caractère médicinal peut constituer une source naturelle de composés bioactifs à intérêts thérapeutiques intéressants.

Notre objectif était pratiquement atteint mais il est loin d'être terminé. Les résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape dans la recherche des substances d'origine naturelle biologiquement active. De nombreuses perspectives de la continuité ont été envisagées, à savoir :

- réaliser autres méthodes d'extraction (infusion, macération,…) avec des solvants de polarités différentes ;
- élargir les recherches sur d'autres molécules que les phénols, telles que les alcaloïdes, les huiles essentielles et les terpènes ;
- entendre l'étude à plusieurs espèces du genre *Portulaca* ;
- réaliser d'autres activités biologiques, telles que l'activité anti-inflammatoire et antidiabétique, anticancéreuse ou autres.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

-**ABARCA M. L. B., CASTELLA M.R., CABANES F.J., 1994**- Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger*v ar. *niger*. Appl. Environ. Microbiol., 2650-2652.

-**ABDALLA H., 2010**- Purslane extract effects on obesity-induced diabetic rats fed a high-fat diet, mal j nutr.

-**ADEWUSI E.A., MOODLEY N., STEENKAMP V., 2011**- Antioxidant and acetyl cholinesterase inhibitory activity of selected southern African medicinal plants. South African Journal of Botany 77: 638-644.

-**ADIMI L.Z., 2018-**Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la Mélisse (*Melissa officinalis).*

-**AMEZIANE A., 2016-**Recherche d'effet hémolytique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Portulaca oleracea (L.)*.Université de Tlemcen.56p.

-**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.

-**AMIRUL A., JURAIMI A., RAFII M., HAMID A., ASLANI F., ALAM M., 2015-** Effects of salinity and salinity-induced augmented bioactive compounds in purslane (*Portulaca oleracea L.*) for possible economical use. Food Chemistry, 169(1), 439-447.

-**AN SOOK L., YUN JUNG L., SO MIN L., JUNG JOO Y., JIN SOOK K., DAE GILL K., HO SU., 2012-** *Portulaca oleracea* Ameliorates Diabetic Vascular Inflammation and endothelial dysfunction in db/db Mice. *E*vid*Based Complement Alternat Medicine*; 10-1155.

-**ANTHONY C., DWECK F., 2001**- Purslane (*Portulaca oleracea*) - the global panacea personal care magazine.

-AYGUN O., PEHLIVANLAR S., 2006-*Listeria spp.* in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. Food Control. 17, 676-679.

B

-BAILEY LH., BAILEY EZ., 1976-Hortus third: a concise dictionary of plants cultivated in the United States and Canada. 1 ed., Mac Millan, New York, 1290p.

-BALENTINE C.W., CRANDALL P.G., O'BRYAN C.A., DUONG D.Q., POHLMAN F.W. 2006-The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science.* 73: 413-421.

-BEL HADJ SALAH K., CHEMLI R., 2004- Variabilité phénotypique de quelques populations de Pourpier (*Portulaca oleracea L.)* en Tunisie. *Acta Botanica Gallica* : Botany Letters.

-BELKHIRI F., BAGHIANI A.R., 2017-Plantes médicinales activités antioxydantes et antibactériennes. Editions Universitaires Européennes, 149 p.

-BELOUED A., 2005 -Plantes médicinales d'Algérie. Éd. Office des publications universitaires, Alger, 284p.

-BELOUED A., 2009- Plante mèdicinales d'algèrie. Ed. Elsevier Masson, Alger. 174p.

-BENJELALI B., TANTAOUI E.A., ESMAILI-ALAOUI M., 1986-Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie, 155-167.

-BOSI G., GUARRERA M P., RINALDI R., BANDINI M., 2009-Ethnobotany of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in Italy and morphobiometric analyses of seeds from archaeological sites in the Emilia Romagna Region (Northern Italy). STAMPA, 3, pp .129-139.

-BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GAUTHIER S., GUY PH., LARPENT J.P., REYMOND P., SANGLIER J.J., VAYSSIER Y., VEAU P., 1990-Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.2 eme édition. PARIS.512p.

-**BOURGEOIS T., MERLIER H., 1995-**Adventrop: Les adventices d'Afrique soudano-sahélienne. 1 éd., Montpellier, France, 640p.

-**BOUTEBKO S., BOUTENKO V., SORIA C. 2008-** Fresh: The Ultimate Live-Food Cookbook. Kindle Edition, North Atlantic Books, 256p.

-**BOWN D., 1995-**Encyclopedia of herbs and their uses.Éd illustrée, DorlingKindersley, London, 424p.

-**BRUNETON J., 2003**- Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3ème édition Tec et Doc, Paris:1120 p.

C

-CATTEAU M., 2006-Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Listeria monocytogenes.* Agence Française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA).4p.

-CHAN K., ISLAM MW., KAMIL M., RADHAKRISHNAN R., ZAKARIA MN., HABIBULLAH M., ATTAS A., 2000-The analgesic and anti-inflammatoryeffects of *Portulacaoleracea* L. subsp. Sativa (Haw.).Celak J Ethnopharmacol; 73: 445-451.

-CHIEJ R., 1982- Les plantes médicinales. Ed SOLAR.

-CHOI Y.M., NOH D.O., CHO S.Y., SUH H.J., KIM K.M., AND KIM J.M., 2006- Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea.LWT. 39:756-761.

-CHOI Y.M., NOH D.O., CHO S.Y., SUH H.J., KIM K.M., KIM J.M. 2006-Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. LWT. 39:756-761.

-CHUN W. CH., 2001-Environmental scanning as information seeking and organizational learning.Vol.7.Université de Toronto.Canada.37p.

-**COHEN M., 2013 -** Laboratoire d'analyse médicale. Maloine.3. Paris.

-COWAN, M. M., 1999-Plant Products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4), 564 – 582.

D

-DABBOU S., LAHBIB K., PANDINO G., DABBOU S., LOMBARDO S., 2020- Evaluation of pigments, phenolic and volatile compounds, and antioxidant activity of a spontaneous population of *Portulaca oleracea L*. grown in Tunisia, 14p.

-DEMIRHAN E., ÖZBEK B., 2010-Drying kinetics and effective moisture diffusivity of purslane undergoing microwave heat treatment. Korean Journal of Chemical Engineering, 27(5), pp.1377-1383.

-DHAOUADI K., RABOUDI F., ESTEVAN C., BARRAJON E., VILANOVA E., HAMDAOUI M., FATTOUCH S., 2010- Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts.Journal of Agricultural and Food Chemistry, (59): 402-406.

-DIALLO A.M., 2005- Etude des plantes médicinales de Niafunke. Région de Tombouctou, Phytochimie et pharmacologie de *Maeruacrassifolia Forsk*.(Capparidacée). Thèse de Doctorat en Pharmacie, Univ. Bamako. Mali: 140 p.

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

Disponible sur: https://www.jstor.org/stable/44742315

-DOHOU N, YAMNI K, TAHROUCH S, IDRISSIHASSANI LM, BADOC A., GMIRA N., 2003-Screening phytochimique d'une endemique Ibéro-Marocaine, Thymelae alythroides. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux ; 142 : 61-78.

-DUSANT J., 2005-Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies 6eme ed ; Dunod, Paris, 542 p.

E

-ERASTO P., BOJASE M., MAJINDA RRT. 2004-Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the roots wood of *Bolusathus spesiosus.* Phytochemistry 65: 875–80.

-ESSAWI T., SROUR M., 2000- Screening of some Palestinian medicinal plants foranti bacterial activity. Journal Ethnopharmacol, 70(3):343-9.

F

-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. Comptes Rendus Biologies, 331 : 372- 379.

-FERDJIOUI S., 2020- Activités biologiques de deux plantes médicinales *Mentha rotundifolia* L. et *Lamiumam plexicaule* L. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Sétif.

G

-GAMS A., 1985-Integration of Modern Taxonomic Methods For *Penicillium* and *Aspergillus*. 65-66p.

-GANGOUE PIEBOJI, J. 2007-caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat. Liège.

-GANOU L., 1993- Contribution à l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles.

-GERTSCH J., 2011- Botanical drugs, synergy, and network pharmacology: forth and back to intelligent mixtures, *Planta Medica*, 77: 1086-1098.

-GONG F., LI F., ZHANG L., LI J., ZHANG Z., WANG G., 2009- Hypoglycemic effects of crude polysaccharide from purslane. Int J MolSci; 10: 880-888.

-GREENBLAT C. L., J. BAUM, *et al*., 2004- "*Micrococcus luteus* – Survival in Amber." Microbial Ecology: 120-127.

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

-GULCIN I., 2012- Antioxidant activity of food constituents: an overview. Archives of Toxicology, 86(3) : 345-391.

H

-**HANDA S.S., 2008-**An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: HANDA S.S., KHANUJA S.P.S., LONGO G., RAKESH D.D. (Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology,Trieste. Italy. p 21-54.

-HARBONE JB., 1998-Phytochimical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis, 3ème Ed Chapman et Hall Thomson Science (U K): 203-234.

-**HERNÁNDEZ BERMEJO JE., LEÓN J., 1994-** Neglected crops: 1492 from a different perspective. Food and Agriculture Organization (FAO), Rome, Italy, 341p.

-HONGBIN Z., YUZHI W., HAO L., QINGMEI C., PENG Z., JIA T., 2010- Identification of *Portulaca oleracea* L. from different sources using GC–MS and FT-IR spectroscopy. Talanta, 81(1), 129-135. doi:10.1016/j.talanta.2009.11.047.

-HOOPER D. C., 2005- Quinolones. In**: MANDELL G.L., BENNETT J.E., DOLIN** R., eds. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Elsevier Churchill Living stone : 451-73.

I

-**IBN SINA H., 1987-** A. Al-Qanun fi'l-Tibb (Canon of Medicine). I.H.M.M.R. Printing Press, New Delhi, 1400p.

-IINUMA, M., TSUCHIYA, H., SATO, M., YOKOYAMA, J., OHYAMA, M., OHKAWA, Y., TANAKA, T., FUJIWARA,S., FUJII, T., 1994- Flavanones withe antibacterial activity against Staphylococcus aureus. Journal of pharmacy and pharmacologiy. 46: 892-895.

-INIESTA-SNMARTIN, E., BARBERAN, F. A. A., GUIRADO, A., LORENTS, T., 1990- Antibacterial fllavonoids from helichrysum picardii and H. italicum. Planta medica. 56: 648-649.

-ISERIN., 2001-L'encyclopédie des plantes médicinales.6-11.

J

-JARRIGE R., RUCKEBUSCH Y., DEMARQUILLY C., FARCE M. H., JOURNET M., 1995-Nutrition des ruminants domestique: ingestion et digestion. Edition *Inra*,57p.

-JONES B.S., LUCHSINGER E.A., 1987- Plant Systematics. New York: McGraw-Hill Book Company, 512p.

K

-KABERA J., TUYSENGE R., UGIRINSHUTI V., NYIRABAGENI A., MUNYABUHORA S., 2014- Preliminary investigation on anthelmintic activity and phytochemical screening of leaf crude extracts of Tithoniadiversifolia and Tephrosiavogelii. African Journal of Microbiology Research, 8(25), 2449 – 2457.

-KAMAL UDDIN M.D., JURAIMI A.S., SABIR HOSSAIN M.D, ALTAF UN NAHAR M., EAQUB ALI M.D., RAHMAN M.M., 2014- Purslane Weed (*Portulacaoleracea*): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and Antioxidant Attributes. The Scientific World Journal.

-KISHORE D., MOOSAVI F., VARMA R., 2013-Effet of ethanolicextrat of *Portulaca oleracea* linn, on ethylene glycol and ammonium chloride induced urolithiasis, int j pharm pharmsci 5(2): 134-140.

-KONKON N.G., SIMAGA D., ADJOUNGOVA A. L., NGUESSAN K.E., ZIRIHI C.N., KONE B. D., 2006 –etude phytochimique de *Mirtagynainermis*(willd.) o.ktze(Rubiaceae), plante a feuille antidiabétique, XIV,pp. 73–80.

-KOSALEC I., BAKMAZ M., PEPELJNJAK S., VLADIMIR-KNEZEVIC S., 2004- Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolisn from northern Croatia. Acta.Pharm. 54: 65 72.

-KUMAR U, KUMAR B, BHANDARI A ET KUMAR Y., 2010- Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of clove and cardamom. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research;1.138-147.

L

-LALROMAWII., DEVI A., MEETEI U., DEVI R., 2014- Evaluation of *Portulaca oleracea* ameliorates diabetic vascular inflammation and endothelial dysfunction in db/db mice. Evidence-based complemaltern med.

-LEUNG A.Y., FOSTER S., 1996- Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in food, drugs and cosmetics. Hoboken, John Wiley, 688p.

-LIEN E.J., REN S., BUI H.H., WANG R., 1999- Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. Free Radical Biology and Medicine, 26 (3-4): 285-294.

-LIM Y.Y., QUAH E., 2006- Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. Food Chemistry.

-LIU L., HOWE P., ZHOU YF., XU Z-Q., HOCART C., ZHANG R., 2000- Fatty acids and β-carotene in Australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties. Journal of Chromatography A. 893(1), 207-213p.

-LIU XF., ZHENG CG., SHI HG., TANG GS., WANG WY., ZHOU J., DONG LW.,2015-Ethanol extract from *Portulaca oleracea* L. attenuated acetaminophen-induced mice liver injury. *Am J Translat Res* 2015;7(2): 309-18.

-LÜ J.M., LIN P. H., YAO Q., CHEN C., 2010- Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. J. Cell. Mol.Med. 14(4): 840–860.

M

-MALLIKARJUNA RAO B., NASEERUDDIN S.D., JAGAN RAO N., 2013- In–vitro anthelmintic activity of pet- ether extract of *Portulaca oleracea* (linn.) against pheritimaposthuma. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology.

-MALLIKARJUNA RAO B., RACHINENI K., SUBASH K., BINOY VERGHESE C., RAO N, 2012- Evaluation of anti arthritic activity of pet-ether extract of *Portulaca oleracea* (linn). Ijabpt. 3(3): 144-148.

-MERAD F., MAHIOUT T., 2019-Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Mouloud MAAMERI-Tizi Ouzou.

-MILANE H., 2004-La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, thèse de doctorat, Strasbourg.

-MIYANISHI K., CAVERS P.B., 1980- The biology of Canadian weeds. *Portulaca oleracea* L. Canadian Journal of Plant Science, 60, pp.953-963.

N

-NACZK M., SHAHIDI F., 2004- Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A., 1054 (1-2) : 95- 111.

-NGAMENI B., KUETE V., SIMO I.K., MBAVENG A.T., AWOUSSONG P.K., PATNAM R., ROY R., NGADJUI B.T., 2009- Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorsteniaturbinata*(Moraceae). South African JBotany.75:256-261.

O

-ONO H., KATAOKA A., KOAKUTSU M., TANAKA K., KAWASUGI S., WAKAZAWA M., UENO Y., MANABE M., 1995- Ochratoxin A productibility by strains of *Aspergillus niger* group stored in IFO culture collection. Mycotoxins. 41, 47-51.

P

-PERNI S., JORDAN S.J., ANDREW P.W., SHAMA G., 2005- Biofilm development by *Listeria innocua* in turbulent flow regimes. Food Control (in press).

-PODSEDEK A. 2007- Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: LWT-Food Sci. Technol., 40 (2007), 1-11 p.

-PRIESTLEY J., 2003- Molécules et métabolisme. In : HOPKINS W.S., Physiologie végétale. 2éme édition. De Boeck, Bruscelles: 267-283.

-PRIETO P., PINEDA M., AGUILAR M., 1999- Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. Analytical Biochemistry, 269: 337- 341.

-PRIETO P., PINEDA M., AGUILAR M., 1999-Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. Analytical Biochemistry, 269: 337- 341.

R

-RAFFAELLA R., MARIA L., GIANCARLO C., 2010- Effect of temperature and exogenous ethylene on the physiological and quality traits of purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves during storage. Postharvest Biology and Technology, 58(1), 147-156.

-RAHAL S., RAHAL L., 2019-Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits végétaux(cas de *Portulaca oleracea* L.).Université Mohamed Khider de Biskra.40p.

-RAZI MZ., 1968- Al-Hawifi'l-Tibb (Comprehensive Book of Medicine). Osmania Oriental Publications Bureau, Hyderabad, Johannes Hamman, Venice, Italy, 525p.

-RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICEEVANS C., 1999- Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. Free Radical Biology and Medicine, 26 (9-10): 1231- 1237.

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

-REDDY S., SOMASUNDRAM G., 2013- Acute toxicological evaluation of pet-ether extract of *Portulaca oleracea* (Linn). On rodents. Int j medreshealthsci. 2: 130-136.

-RICHTER G., 1993- Métabolisme des Végétaux. France: 317-337.

S

-**SCHOCH W.H., PAWLIK B., SCHAVEIGRUBER F.H., 1988-**Botanische Makroreste. Berne, Paul Haupt, 653p.

-SIKORA F.J., MCBRIDE M.B., 1990- Aluminium complexation by protocatechuic and caffeic acids as determined by UV spectrophotometry. Journal of Soil Science Society of America; (États Unis). 54: 78-86.

-SIMOPOULOS A.P., TAN D.X., MANCHESTER L.C., REITER R.J., 2005- Purslane: a plant source of omega-3 fatty acids and melatonin. Journal of Pineal Research, 39, pp.331-332.

-SINGLETON V.L., ORTHOFER R., AND LAMUELA- RAVENTOS R.M., 1999- Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Method.Enzymol, 152-178.

T

-TALBI H., BOUMAZA A., EL-MOSTAFA K., TALBI J., HILALI A., 2014-Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa*L. Mater. Environ. Sci. 6 (4).ISSN : 2028-2508.1111-1117.

-TREASE GE., EVANS WC., 1989-A textbook of Pharmacognosy.13ème Ed Bacilluere Tinal Ltd. London.

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

-TYLER VARRO E., 1993- The honest herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies. Pharmaceutical Products Press (Haworth Press), 3 éd., Binghamton, New York, 375p.

U

-UDDIN MK., JURAIMI AS., ALI ME., ISMAI MRL., 2012 a-"Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of *Portulaca oleracea* (L.) at different growth stages,". International Journal Molecule Science; 13:10257–10267.

-ULLAH M., KHAN MU., MAHMOOD A., MALIK RN., HUSSAIN M., WAZIR SM., DAUD M., SHINWARI ZK., 2013-An ethnobotanical survey of indigenous medicinal plants

in wana district south waziristan agency, Pakistan. Journal of Ethnopharmacology, 150(3), pp.918-924. DOI: 10.1016/j.jep.2013.09.032.

V

-VENEREOL A. D., 2005-Infections cutanéo-muqueuses bactériennes et mycosiques : *Candida albicans*. (sans lieu) : 44p.

-VILJOEN A., VAN VUUREN S., ERNEST E., 2003-Osmitopsis asteriscoides (Asteraceae) — the antimicrobial and essential oil composition of cape — Dutchremedy. J Ethnopharmacol 88: 137–43.

-VOLACK J., 1983- Les plantes médicinales. Ed Guinde, 283.

W

-WANG P., HONG-XIANG S., CE-JIA L., MING-HONG H., XIU-QUAN H., SU Y., ZEZHAO J.,& LAN, X., 2016-*Racemic oleracein* E increases the survival rate and attenuates memory impairment in D-galactose/NaNO2-induced senescent mice. Phytomedicine , 23(1),460-467.

Y

-YANG M., SHEN Q., LI L., HUANG Y., CHEUNG H., 2015-Phytochemical profiles, antioxidant activities of functional herb Abruscantoniensis and Abrusmollis .Food Chemistry. 177: 304–312.

-YORDI E. G., PÉREZ E. M., MATOS M. J. VILLARES E. U., 2012-Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity. Relationship Evidence. Nutrition, Well-Being and Health, pp: 2-48.

Z

-ZHANG, H., KONG, B., XIONG, Y .L., SUN, X. 2009-Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. Meat Science.81: 686-692.

-ZIMMERLI B., DICK R., 1996-Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. Food Addit. Contam. 13, 655-668.112

Les sites web

-Site 01: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Micrococcus_luteus_Standard_I_13-Strich_47.jpg

-Site 02: https://www.vigilab.com/documentation/fiches-microbiologie/listeria-sp-et-l monocytogenes.

Annexes

Annexe 01

Photo 01 : Broyeur électrique de type Culatti Typ MFC.CZ.13

Photo 02 : Décoction des graines de trois provenances de pourpier étudiée

Photo 03 : Filtration des décoctés des graines de trois provenances de pourpier étudiée **(BEN SMIDA et MESSAID, 2021)**

Annexe 02

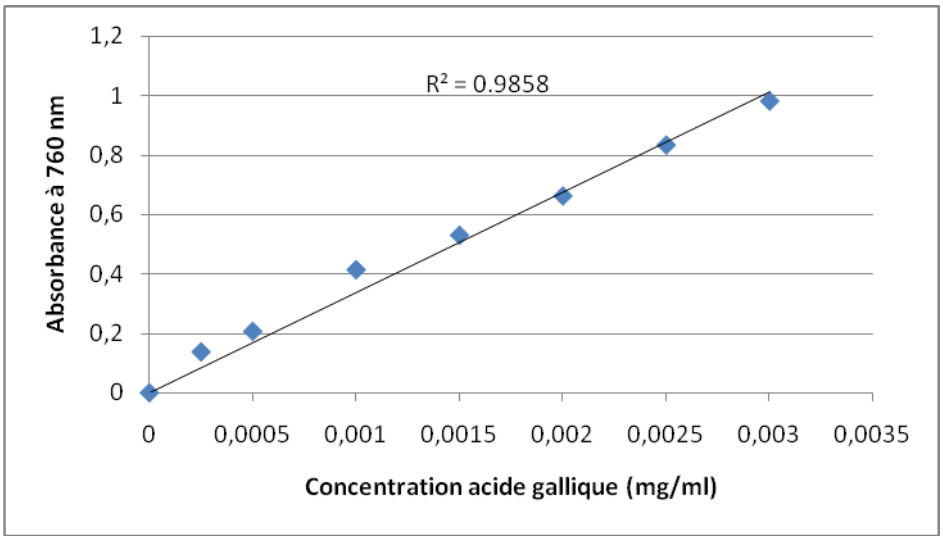


Figure 01 : Droite d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux et tanins totaux.

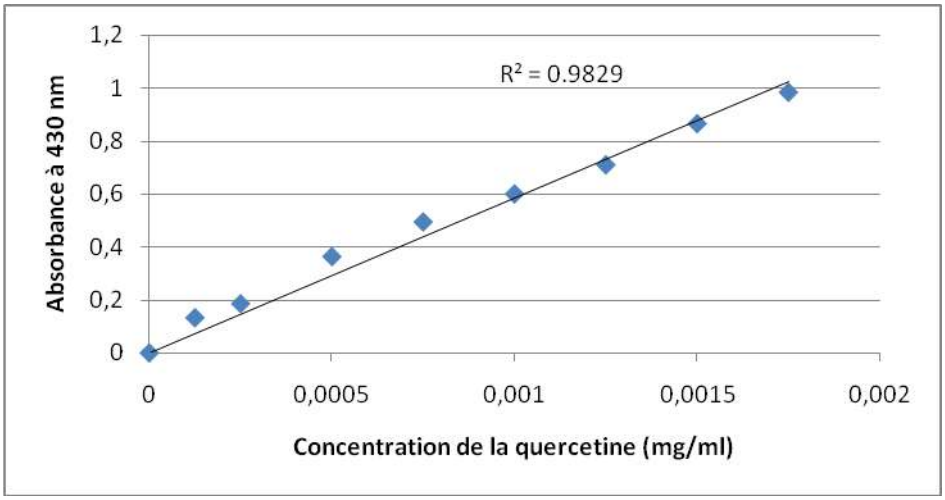


Figure 02 : Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

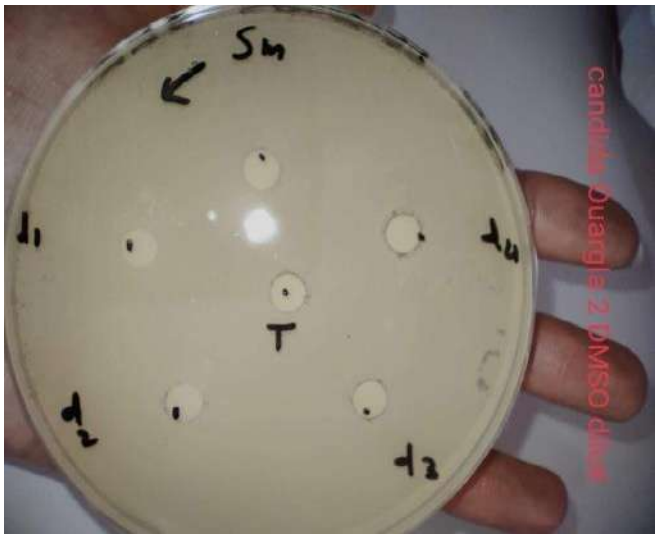
Annexe 03

Photo 04 : Coulage de milieu de culture MH et préparation de l'inoculum

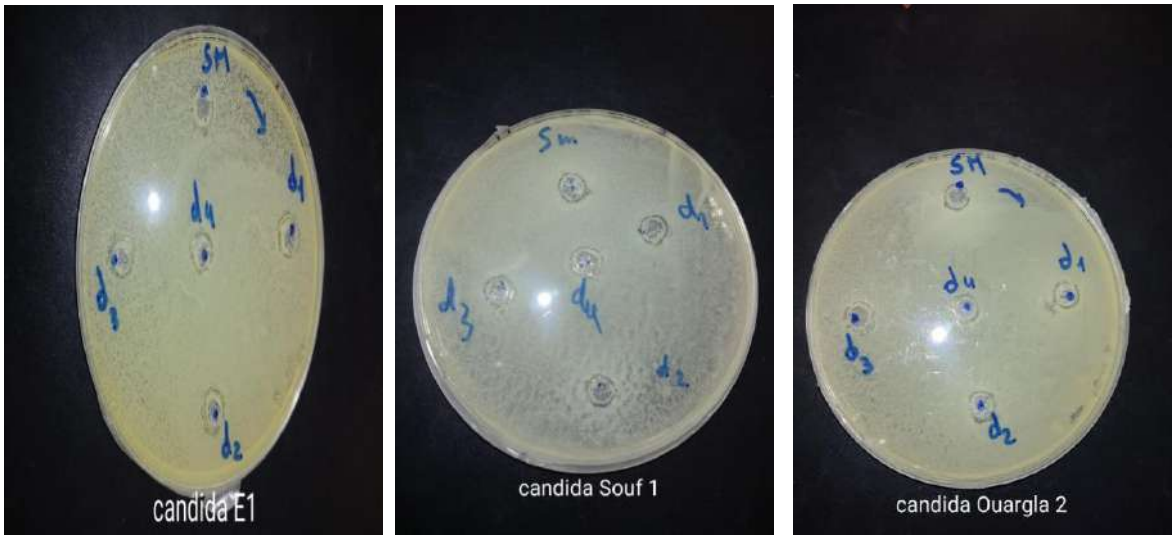
(BEN SMIDA et MESSAID, 2021)

Photo 05 : Méthode des disques **(BEN SMIDA et MESSAID, 2021)**

Annexe 04



Photos 06 : Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *P.oleracea* selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Disques) **(BEN SMIDA et MESSAID, 2021).**



Photos 07: Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *P.oleracea* selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Puits) **(BEN SMIDA et MESSAID, 2021).**

Glossaire

Lexique des termes médicaux :

Adoucissant : a un effet apaisant qui combat l'inflammation.

Amer : stimule l'appétit et active la digestion.

Analgésique : combat la douleur.

Antiallergique : soigne les manifestations d'allergie.

Antidiabétique : fait baisser le taux de sucre dans le sang.

Anti inflammatoire : diminue l'inflammation.

Antiseptique : désinfecte et tue les germes microbiens.

Antispasmodique : diminue les spasmes musculaire.

Asthme : maladie respiratoire avec spasme des bronches souvent d'origine allergique.

Astringent : resserre les muqueuses et diminue les secrétions.

Bronchite : inflammation de la muqueuse.

Calmante : atténue la douleur et la nervosité**.**

Cardiotonique : qui augmente l'efficacité des mouvements cardiaques.

Céphalée : mal de tête continue.

Colite : inflammation du colon.

Diabète : état pathologique caractérisé par une augmentation du volume d'urine avec fuite urinaire, d'une substance chimique généralement le sucre.

Diurétique : substance qui augmente l'excrétion d'urine.

Eczéma : maladie de la peau, avec des plaques rouges et une vive démangeaison.

Fébrifuge : calme la fièvre.

Fibrose pulmonaire : altération chronique et progressive du tissu pulmonaire dont les alvéoles sont enserrées.

Hypertension : pression artérielle anormalement élevée.

Malformine : est un médicament antidiabétique oral.

Naphtoquinone : élément d'une famille de quinones à laquelle appartient la vitamine K.

Purgatif : qui facilite le transit intestinal et l'évacuation des selles.

Sédatif : calment qui permet de réduire l'anxiété, d'atténuer la douleur ou de lutter contre l'insomnie

Stomachique : stimule et améliore la fonction gastrique.

Toux : expiration brutale et bruyante de l'air contenu dans les poumons, généralement involontaire et due à une irritation des voies respiratoires.

Ulcère : correspond à une perte de substance plus ou moins étendue de la paroi digestive.

Varices : sont des dilatations permanentes des veines, le plus souvent sur un membre inférieur.

Mis en valeur des potentiels antimicrobiens et antioxydants des graines de trois provenances de pourpier (*Portulaca oleracea* L.)

Résumé

Le pourpier (*Portulaca oleracea* L.) est une plante alimentaire largement utilisée à travers le monde pour ses propriétés culinaire et médicinales. Le présent travail vise l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des décoctés aqueux issus des graines de trois provenances de pourpier (Ouargla, El Oued et Egypte). Le dosage des phénols totaux, flavonoïdes et tanins totaux des décoctés aqueux a été effectué par des méthodes colorimétriques spectrophotométrie, les teneurs en ces métabolites sont variables, de24.75±0.33 à 46.13±3.50 mg eq AG/g de MS, de1.51±0.13 à 5.03±0.06 mg eq QR/g de MS et de24.67±0.32à46.09±3.50 mg eq AG/g de MS, respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée par le test d'ABTS, qui montré que les décoctés des graines de Ouargla et d'Egypte sont les plus efficace pour réduire l'ABTS$^{\circ+}$**,** avec des IC50 respectives de 16.63±0.22 et 16.78±0.93 µg/ml. En plus, la recherche de l'activité antimicrobienne par la méthode d'antibiogramme sur disques set des puits sa montré que les décoctés des graines d'Egypte ont un effet inhibiteur relativement important que ceux obtenus des graines locales (El Oued et Ouargla) envers *Listeria monocytogene*, avec des diamètres d'inhibition allant respectivement de (11±1 à 15±5.57 mm) contre (8.33±7.02 à 13±1.73) et (9.67±4.62 à 14.67±5.03 mm),pour la méthode de diffusion sur disques et de(6.67±0.58 à 10.33±1.53 mm)contre (7±1 à8.67±2.08 mm) et (7±1 à9.33±0.58 mm), pour la méthode de diffusion sur des puits. Alors que, ces extraits ont presque des mêmes actions inhibitrices *vis-à-vis Candida albicans*. En revanche, tous les extraits ont montré inactif contre *Aspergillus carbonarius* et *Micrococcus letus.* Ces résultats pourraient justifier le bien-fondé de certaines vertus thérapeutiques accordées à cette plante en médecine traditionnelle.

Mots clés : *Portulaca oleracea* L., graines, décoctes, polyphénols, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

تثمين القدرات ضد الميكروبات ومضادات الأكسدة للبذور من ثلاث أصناف من البندراق(*Portulaca oleracea* L.)

الملخـــــــــــــــــص

البندراق (*Portulaca oleracea* L.) هو نبات غذائي يستخدم على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم لخصائصه الغذائية والطبية .الغرض من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات للمستخلصات المائية من بذورالبندراق من ثلاثة أصول (ورقلة ، الوادي ومصر).وقد تم تحديد مجموع الفينولات والفلافونويدات ومجموع التانين من المستخلص المائي بطرق قياس الألوان ، ومحتويات هذه الأيضات متغيرة ، من 24.75±0.33 إلى 46.13±3.50 mg eq AG/g de MS و 1.51±0.13إلى 5.03±0.06و 24.75± 0.33 mg eq QR/g de MS على التوالي. قد أجري تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار ABTS ، الذي أظهر أن مستخلصات البذور من ورقلة ومصر هي الأكثر فعالية لانخفاض IC50 ، حيث تبلغ 0.22 ±16.63 و16.78±0.93 µg/ml على التوالي. وبالإضافة إلى ذلك ، أظهرت الأبحاث التي أجريت على نشاط مضادات الميكروبات بواسطة المضادات الحيوية على الأقراص والثقوب أن مستخلصات بذور مصر له تأثير مثبط هام نسبيا مقارنة بتلك التي يتم الحصول عليها من البذور المحلية(الوادي وورقلة)في حالة *Listeria monocytogene* ، مع قطر تثبيط من (±11 1 إلى5.57 ± 15 ملم) مقابل 7.02 ± 8.33 إلى 13±1.73) و (4.62 ±9.67 إلى 14.67±5.03 mm) على التوالي، فيما يتعلق بطريقة نشر القرص. (0,58 ±6,67 إلى1.53 ± 10,33mm) ضد (1±7 إلى2,08 ±8,67 mm) و(1±7 إلى 0,58±9,33)mm،لطريقة الانتشار على الثقوب .في حين أن هذه المستخلصات لها تقريبا نفس العمل المثبط تجاه *Candida albicans*وعلى النقيض من ذلك، كانت جميع المستخلصات غير نشطة ضد *Aspergillus carbonarius*و *Micrococcus luteus*. ويمكن أن تبرر هذه النتائج صحة بعض الفضائل العلاجية الممنوحة لهذا النبات في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية : البندراق(*Portulaca oleracea* L.), بذور, مستخلص, متعدد الفينول, النشاط المضاد للأكسدة, النشاط المضاد للمكروب

Enhanced the antimicrobial and antioxidant potentials of seeds from three provenances of purslane (*Portulaca oleracea* L.)

Abstract

The purslane (*Portulaca oleracea* L.) is a food plant widely used throughout the world for its culinary and medicinal properties. The purpose of this work is to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of aqueous decocts from the seeds of three purslane origins (Ouargla, El Oued and Egypt). The determination of total phenols, flavonoids and total tannins of aqueous decocts was carried out by spectrophotometric colorimetric methods, the contents of these metabolites are variable, from 24.75± 0.33 to 46.13± 3.50 mg eq AG/g of MS, 1.51± 0.13 to 5.03± 0.06 mg QR eq/g DM and 24.67± 0.32 to 46.09± 3.50 mg AG eq/g DM, respectively. The assessment of the antioxidant activity was carried out by the ABTS test, which showed that the decocts of seeds from Ouargla and Egypt are the most effective to reduce ABTS°+, with IC50 of 16.63± 0.22 and 16.78± 0.93 µg/ml respectively. In addition, the research of antimicrobial activity by the method of antibiogramme on discs and wells showed that the decocts of seeds of Egypt have a relatively important inhibitor effect than those obtained from local seeds (El Oued and Ouargla) towards *Listeria monocytogene*, with inhibition diameters of (11± 1 to 15±5.57 mm) against (8.33± 7.02 to 13 ±1.73) and (9.67± 4.62 to 14.67±5.03 mm), respectively, for the disc diffusion method and (6.67± 0.58 to 10.33± 1.53 mm) against (7± 1 to 8.67± 2.08 mm) and (7± 1 to 9.33± 0.58 mm), for the well diffusion method. While, these extracts have almost the same inhibitory actions vis-à-vis *Candida albicans*. In contrast, all extracts were inactive against *Aspergillus carbonarius* and *Micrococcus letus*. These results could justify the validity of certain therapeutic virtues granted to this plant in traditional medicine.

Key words: *Portulaca oleracea* L., seeds, decocts, polyphenols, antioxidant activity, antimicrobial activity.