

N° d'ordre :

N° de série :

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Kasdi Merbah-Ouargla
Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière
Département de Chimie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de :

Master Académique

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie appliquée

Thème :

المساهمة في معرفة طبيعة مكونات الطور البيوتكنولوجي لبنية القطف

Présenté par :

DJAMILA MOGDAD ET ASMA KHARCHOUCHE

Soutenu publiquement le 26 Mai 2015

Devant le jury composé de :

HADEF DERRADJI	M. A. A.	Président	UKMO
OUGHLISSI-DEHAK KARIMA	M. C. A.	Examineur	UKMO
SMARA OUANISSA	M. C. B.	Rapporteur	UKMO

Année universitaire 2014-2015



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mon époux cher **Djamel**, que je ne serai jamais comment je dois le remercier

Je te remercie pour ton soutien moral.

Que dieu leur procure Bonne santé et longue vie.

Que dieu le garde pour moi.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel,

Mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours

Sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi

Mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ;

Maman qui je l'aime

A Mes belles sœurs : **Dija et Nora et yamina**,

A mon frère **Abd el hamide**, Aussi ma belle mère et tout la famille de mon mari : tante et messeuda et zeineb

A Mes professeurs de chimie et toute ma famille.

A tous mes amis et mes Camarades : A (kawther et Sara) et Zeneb, Sabrina, Fouzia , Halima , Kamilia, Ratiba, Khadra, Afafe, asya , Rabab, Naima, Akila et Saida, Ibtisam et Amira....

Djamila mogdad



Je dédie ce travail

A mes très chers parents et mes beaux parents

Pour leurs sacrifices et leurs efforts consentis

A la mémoire de ma Mère

A ma très cher Père

A Mon Marie Salim

A mes sœurs Khedidja et Amani

A mon frère seif - el dine

A mon enfant M^{ed} Amir

A ma famille et ma belle famille

A tous mes amis

Merci à tous.....

Asma...

Remerciements

Ce travail ne serait pas riche, la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire, qui n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de notre encadreur Melle SMARA Ouanissa M. C. B. à l'université Kasdi Merbah Ouargla. Nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous voudrions également exprimer toute nos reconnaissances à l'ensemble des membres du jury pour le temps qu'ils ont consacré à l'évaluation de ce travail.

- Nous remercions vivement Monsieur HADEF DERRADJI M. A. A. à l'université Kasdi Merbah Ouargla d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.**
- Nous remercions vivement madame OUGHLISSI-DEHAK Karima M. C. A. à l'université Kasdi Merbah Ouargla d'avoir accepté d'examiner notre travail.**

Nos remerciement vont aussi aux :

- Le chef département de chimie Monsieur ATIA Salem M.A.A. à l'université Kasdi Merbah Ouargla pour son aide et ses encouragements. Nous le remercions vivement.**
- Le doyen de la faculté des mathématiques et sciences de la matière Monsieur LOUNAS Ali.**

Notre remerciement pour nos enseignants et spécialement Madame BENZAHY Khadidja pour son aide et ses encouragements. Monsieur DENDOUGUI Hocine, DAKMOUCH Messaouda.

Nos remerciements aussi pour les membres du laboratoire de chimie : Monsieur KHADRAOUI Abasse, ANISSA, ASMA, HANENE

On remercie vivement le directeur de l'hôpital Sliman Amirat Touggourt et tous les membres du service bactériologie en général.

Résumé

Cette étude porte sur la valorisation d'une plante des zones arides et semi-arides appartient à la famille chénopodiacées. *L'Atriplex halimus L.* est une espèce utile, en médecine populaire.

Une investigation phytochimique est appliquée sur la majorité des extraits des feuilles et tiges de l'espèce étudiée. Une étude chromatographiques a été réalisée sur l'espèce. Il s'agit de la chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant plusieurs révélateurs chimiques, la chromatographie préparative sur feuilles d'aluminium. Cette étude est suivie par un étude microbiologique par un test d'activité antibactérien en utilisant différents bactéries.

Mots clé : *Atriplex halimus L.*, chromatographie, test d'activité antibactériens.

الملخص

هذه الدراسة تـتمن نبتة من المناطق الجافة وشبه الجافة والتي تنتمي الى العائلة الرمرامية *L'Atriplex halimus L.* الذي له أهمية بالغة في الطب الشعبي.

طبقت دراسة فيتوكيميائية على غالبية مستخلصات الأوراق والسيقان للنبات المدروس . وأجريت دراسة كروماتوغرافية على الجنس . خصوصا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) باستخدام العديد من الكواشف الكيميائية, الكروماتوغرافيا التحضيرية على رقائق الالمنيوم . هذه الدراسة اتبعت بدراسة ميكروبيولوجية وذلك بإجراء اختبارات النشاط ضد البكتيريا باستخدام انواع مختلفة من البكتيريا .

الكلمات المفتاحية : القطف الملحي, الكروماتوغرافية, اختبارات النشاط ضد البكتيريا

Tables des matières

Sommaire

	Remerciement	
	Résumé	
	Abréviation	
	Sommaire	
	Liste des figures	
	Liste des tableaux	
	Introduction générale	
Chapitre 1 : Etude bibliographique		
I	Les Chénopodiacées	2
I-1	Intérêts des chénopodiacées	3
I-2	Présentation du genre <i>Atriplex</i>	4
I-3	Présentation de l'espèce étudiée <i>Atriplex halimus L. (Gtaf)</i>	4
I-4	Distribution de l'<i>atriplex halimus L</i>.....	5
I-2-1	Présentation systématique et botanique de l'<i>Atriplex halimus .L...</i>	6
1-2-2	Les travaux antérieurs d'<i>Atriplex halimus L</i>.....	6
II	Les composés phénoliques.....	7

II-1	Classification des composés phénoliques.....	8
II-1-2	Définition des flavonoïdes	9
II-1-3	Les sous classe des flavonoïdes.....	10
II-2	utilisation des flavonoïdes	12
II-2-1	rôle des flavonoïdes chez l’homme et la plante	12
II-2-2	Les fonctions responsables du rôle des flavonoïdes	13
II-2-3	Bio synthèse des flavonoïdes.....	13
II-2-4	Propriété des flavonoïdes anti bactrien et Antioxydant.....	15
III	Les terpènes	16
III-1	Classification des Terpénoïdes.....	16
IV	Les coumarines	18
IV-1	Classification des coumarines.....	18
V	Etude microbiologique.....	20
V-1	Définition la bactérie.....	20
V-2	Structure d’un bactérie.....	20
V-3	Calcification de bactéries.....	21
V-4	les souches bactériennes utilisées.....	21
V-4-1	<i>Enterobacter.aerogenes</i>.....	21
V-4-2	<i>Levinea malonatica</i>	22
V-4-3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
V-4-4	<i>Esherichia-coli</i>	23

Chapitre 02 : Etude expérimentale		
I	Etude phytochimique de l'espèce <i>Atriplex halimus</i> L.....	25
I-1	Récolte du matériel végétal.....	25
I-2	Extraction de la poudre des feuilles et tiges.....	25
I-3	Etude chromatographique.....	28
I-3-1	chromatographique sur couche mince	28
I-3-2	Chromatographie sur plaque préparative	30
II	Etude microbiologique	30
II-1	Collection de souches bactériennes utilisées	30
II-2	Préparation des extraits végétaux	30
II-3	Repiquage des espèces bactériennes.....	31
II-4	Préparation de l'inoculum	31
II-5	Préparation des disques.....	31
II-6	Préparation des milieux de culture.....	31
II-7	Ensemencement.....	32
Chapitre 03 : résultats et discussions		
I	Extractions.....	34
II	La chromatographie sur couche mince CCM	34
II-1	L'extrait chloroformique	34
II-2	L'extrait d'acétate d'éthyle.....	37

II-3	L'extrait boutanolique.....	38
III	la Chromatographie sur plaque préparative.....	40
III-1	la Chromatographie sur plaque préparative de l'extrait boutanolique des tiges	40
III-2	la Chromatographie sur plaque préparative de l'extrait boutanolique des feuilles...	42
IV	Les Teste d'activité antioxydant.....	44
V	Les teste d'activité antibactérien.....	44
V-1	La lecture de résultat.....	44
V-1I	Discussions	53
Conclusions générale		
Référence bibliographique.....		

Liste des abréviations

A : Atriplex

F : feuilles

T : tiges

ml : Millilitre

mn: Minute

h: Heure

g: Gramme

°C : Degré Celsius

% : Pourcentage

µm : micromètre

DMSO : Dimethylsulfoxide

MH : milieu de Mueller Hinton

ADN : Acide désoxyribonucléique

CCM: Chromatographie sur couche mince.

R_f: rapport frontal (CCM)

V/V: rapport volume / volume

R% : Pourcentage ou rendement d'extraction.

mm : Millimètre

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

UV-Vis : Ultraviolet/Visible

E.c: *Esherichia-coli*

K : *Klebsiella*

E.a: *Enterobacter. aerogenes*

ARN: acide ribonucléique

CHCl₃ : chloroforme

MeOH : Methanol

AcOEt : acétate d'éthyle

Ac : acide

H₂O : eau

Liste des tableaux

numéro du Tableau	Titre du tableau	Page
(01)	Les classes principales des composés phénoliques	08
(02)	Les classes principales des terpénoïdes	16
(03)	Exemple des dérivés coumariniques	19
(04)	Résultats des extractions	34
(05)	les rapports de front des extraits chloroformique des tiges et feuille du système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (v/v:10/1)	36
(06)	les rapports de front des extraits chloroformique des tiges et feuilles du système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (15:1)	37
(07)	les rapports de front des extraits AcOEt des tige et des feuilles	38
(08)	les rapports de front des extraits butanolique des tige et des feuilles	39
(09)	les rapports des front des produit isolés de l'extrait butanolique des tige	42
(10)	Les résultats d'activité anti bactériennes des extraits des feuilles	45
(11)	Les résultats d'activité anti bactériennes des extraits des tiges	49
(12)	Les résultats d'activité anti bactériennes des extraits des tiges et feuilles	52

Liste des figures

Numéro du Figure	Nom de figure	page
01	carte géographique montre la distribution de la famille <i>chénopodiacée</i>	03
02	photo <i>Atriplex halimus</i>	04
03	(a, b, c, d, e) : photos dès l'arbuste et fruits et les feuilles et les tiges ,tige, fleurs, fruits d' <i>Atriplex halimus</i> L.	05
04	Structure des flavonoïdes (enchaînement C6-C3-C6)	09
05	les différents structure des sous classe des flavonoïde	12
06	Structure des flavonoïdes	13
07	La biosynthèse des Flavonoïdes.	14
08	Quelques exemples des terpènes.	17
09	a- Benzopyrone	18
10	structure d'une cellule bactérienne	20
11	photos de la bactérie <i>E.aerogenes</i> (Observation microscopique)	21
12	photos de bactérie levinea (Observation au microscopique)	22
13	Photos de la bactérie <i>Klebsiella</i> (observation microscopique)	23
14	Photo de la bactérie <i>Esherichia -coli</i> (Observation microscopique)	23
15	Protocole d'extraction des tiges	26
16	Protocole d'extraction des feuilles	27
17	Photo d'extraction liquide-liquide par Acétate d'éthyle	28
18	photos d'extraction liquide-liquide par n- Butanol	28
19	les boîtes pétries contiennent le milieu de culture (M.H.)	31
20	piéd à coulisse	32
21	Four pasteur	32
22	(a,b,c,d,e,f) photos CCM de l'extrait chloroformique	35
23	photos de CCM du meilleur solvant de migration de l'extrait CHCl ₃	36
24	(a,b,c,d,e,f) photos CCM de l'extrait Acétate d'éthyle	38
25	Chromatogramme des extraits butanolique des feuilles et les tiges	39
26	photos la plaque préparative	40
27	(a,b,c,) photos CCM les produits isolé le l'extrait butanolique des tiges	41
28	Photo de la plaque préparative après migration de phase butanolique des feuilles .	42
29	(a,b)photos CCM produits isolés de l'extrait butanolique des feuilles de la phase n-butanol/AcoET /H ₂ O (6/1.5/2.5)	43
30	(a,b) photos CCM produits isolés de l'extrait butanolique des feuilles de la phase n-Butanol/Ac.Acétique /H ₂ O (6/2/2)	43

Introduction

Introduction générale

La connaissance rationnelle des plantes médicinales date de l'Antiquité. C'est Hippocrate qui différencie l'usage interne et l'usage externe et qui définit la notion de dose qui permet de distinguer l'effet thérapeutique de l'effet toxique [1]. Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées [2]. Ce savoir traditionnel ancestral se transmet de génération en génération et est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuses pour les chercheurs d'industrie pharmaceutique [3]

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) la reconnaissance de leur valeur clinique, pharmaceutique et économique des plantes médicinales continuent de croître, bien que cela varie fortement selon les pays à cause de son importance pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs.

Les plantes qui ont des propriétés thérapeutiques on les appelle plantes médicinales. Des études récentes ont montré que ces plantes sont utilisés dans le traitement de nombreuses maladies courantes comme le diabète, la tension artérielle,...etc, certaines plantes ont la capacité de capturer les radicaux (les composés phénoliques). Parmi les composés, on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique.

Parmi les métabolites secondaires polaires, les flavonoïdes constituent un large groupe de polyphénols, très répandue dans le règne végétal, généralement hydrosolubles, et sont responsables des couleurs que l'on observe dans les pétales des fleurs [4]

Compte tenu de la variation climatique en Algérie nous a donné une richesse énorme en plantes médicinales et aromatiques. Elles sont dispersées dans les différents milieux climatiques tels que les zones côtières et désertiques.[5]

Nous avons choisi une espèce de la famille chénopodiacées afin de faire une extraction des flavonoïdes et étudier les extraits par voie chimique et microbiologique.

Le travail du mémoire englobe trois chapitres comme suit :

Chapitre 1: Une étude bibliographique sur la famille Chénopodiacées, le genre et l'espèce étudiée ainsi que l'utilisation de : la famille des chénopodiacées, le genre et l'espèce étudiée, suivie par une étude approfondie sur les flavonoïdes, la distribution, la présence, la biosynthèse de ce dernier et son importance, une étude sur les terpènes, les coumarines et nous terminant ce chapitre par une étude microbiologique.

Chapitre 2: Une étude expérimentale qui présente tous le matériel et méthodes utilisés dans le présent travail.

Chapitre3: Ce chapitre englobe les résultats obtenus et la discussion de ces résultats.

Chapitre I
Etude bibliographique

I - Les Chénopodiacées :

Les Chénopodiacées sont une grande famille de plantes herbacées vivaces, plus rarement annuelles ou d'arbres et d'arbustes, qui sont généralement halophytes. Cette famille euphorbiacées comprend environ 102 genres et 1400 espèces. Elle est largement distribuée dans les milieux salins tempérés et subtropicaux du monde entier, particulièrement autour de la Méditerranée, la mer caspienne, la mer rouge, les steppes arides de l'Asie, aux marges du désert du Sahara, aux Etats-Unis, en Afrique, en Australie et en Argentine. Certaines espèces sont également devenues des plantes adventices qui poussent dans les sols alcalins autour des habitations surtout les sols riches en eau [6].

Les membres de la famille ont des racines profondes et pénétrantes, destinées à absorber la plus grande quantité d'eau possible, généralement fibreuses ou pivotantes, parfois tubéreuses et charnues. Les rameaux souvent succulents sont parfois articulés, épineux ou glanduleux.

Les feuilles sont généralement très petites, simples, alternes ou plus rarement opposées, souvent charnues ou réduites ou recouvertes de poils à de minuscules écailles. Le limbe, linéaire à triangulaire, possède un aspect farineux ou pubescent. Elles sont dépourvues de stipules[7].

Les fleurs, actinomorphes, exceptionnellement à symétrie bilatérale, sont bisexuées ou unisexuées.

Les fruits sont généralement entourés par les calices persistants

La distribution de cette famille comme suit :



Figure 1: carte géographique montre la distribution de la famille chénopodiacées

Les chénopodiacées sont donc des plantes adaptées à la sécheresse, que celle-ci soit due au climat ou qu'elle résulte de la salinité du sol. En effet, dans ce dernier cas, la richesse du sol en sels minéraux fait que la pression osmotique des terrains est très élevée, autrement dit que l'eau est prisonnière de ces sels. La plante est obligée de se créer un milieu interne dont la pression osmotique sera supérieure à celle du sol, d'où la richesse de ces plantes en ions alcalins [8].

I-1. Intérêts des chénopodiacées:

De nombreuses espèces sont des sources de pâture importante pour les régions désertiques ou steppiques et d'une manière générale, la famille fournit un certain nombre d'espèces qui sont les composants majeurs de nombres d'environnements arides ou rudéraux. Certain espèces utilisés dans l'alimentation de l'homme (La betterave *Beta vulgaris*) et bétail (La betterave fourragère) [8].

I-2. Présentation du genre *Atriplex*

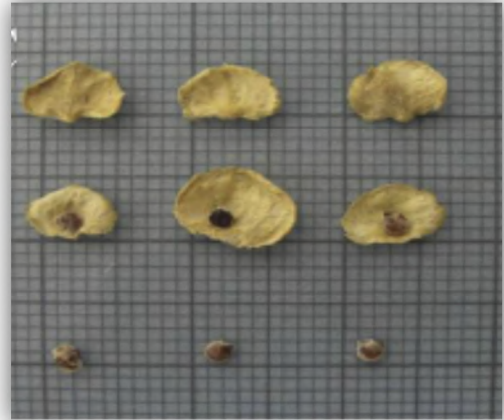
L'*Atriplex* est le plus grand genre de la famille des chénopodiacées, il comprend plus de 400 espèces, dont 48 en méditerranée et le reste est distribué dans les régions tempérées et subtropicales. On trouve des genres typiques d'*Atriplex* dans les régions polaires, peu de ce nombre (les genres typiques) se trouvent généralement dans les sols salins ou alcalins [9].

I-3. Présentation de l'espèce étudiée *Atriplex halimus* L. (Gtaf)

L'espèce étudiée est un arbuste vertical à une longue durée de vie, il atteint 3 m de hauteur [10]. Les feuilles sont assez grandes de 2 à 5 cm de longueur et de 0,5 à 1 cm de largeur (2 fois plus longues que largeur), elles sont ovales peu sinuées, dentées. Elles sont alternes, pétiolées, un peu épaisses plus au moins charnues et couvertes de poils vésiculeux blanchâtre ou globuleux appelés trichomes [11]. Les fleurs petites morues jaunes apparaissent en août et septembre [12]. Elles sont monoïques formées d'épis denses et courtes nus groupés. Les fruits généralement les feuilles se réduisent à une graine entourant la tige et terminé par un limbe réduit. Les oreilles ovales comme un plat rigide [13]. Les tiges sont blanchâtres dressées et ligneuses avec des buissons très ramifiées [14] figures (2 et 3).



Figure2 : Photos *Atriplex halimus* L.

a- *Atriplex halimus* L.

b-Fruits (graines)



c-Les feuilles de la plante



d-les Tiges .



e-Tige,Fleurs,Fruits

Figure 3 (a, b, c, d, e) : photos dès l'arbuste et fruits et les feuilles et les tiges ,tige, fleurs, fruits d'*Atriplex halimus* L.

I-4. Distribution de l'*atriplex halimus* L.

L'*Atriplex halimus* L. arbuste se trouve dans les milieux arides et semi-arides, adapté aux terres arides et altéré par le sel, très commun dans le Sahara septentrional et du Sahara central se développe tout au long de la mer méditerranée, il est très répandue en Algérie. Il se trouve aussi à Hoggar et Tibesti [15 -16].

I-2-1. Présentation systématique et botanique de *Atriplex halimus* .L

La position systématique de cet espèce selon (Quezel et Santa, 1963) et (Dupont et Guignard, 2007) est suivante[17 -18] :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytesou Phanérogames
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Centrospermales
Famille	Chénopodiacées
Genre	<i>Atriplex</i>
Espèce	<i>Atriplex halimus</i> L.
Nom commun	Pourpier de mer Arroche halime
Nom arabe	Gtaf القطف

NB: la famille Chénopodiacées et la famille Amaranthacées sont très proche l'une de l'autre.

1-2-2. Les travaux antérieurs d'*Atriplex halimus* L.

Plusieurs travaux sont réalisés sur l'*Atriplex halimus* L. la majorité de c'est étude sur la résistance de cette plante à la salinité du sol (Bidai, 2007 ; Ben hassine, 2010 ;Bouchenak,2012) et sur la polygamie chez les *Atriplex halimus* L.et la germination (Talamali, 2001 ;Sadder,2013) l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits alcooliques (chikhi, 2014 ; Benhamou, 2009), la capturement des métaux lourd par cette plante et la recherche des ions (Nedjimi, 2009 et 2010).

II-Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants libre ou engagé dans une autre fonction.

Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins (les métabolites secondaires) [18] .

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols.....etc. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

Les composés phénoliques favoriseraient la santé cardiovasculaire en maintenant l'intégrité des tissus vasculaires (artères, vaisseaux, capillaires). Il a été démontré qu'ils contribuent à garder les artères détendues (vasodilatation) et empêchent les plaquettes de s'agglutiner pour former un caillot. Ils ont aussi un effet anti-inflammatoire et empêchent la prolifération des cellules musculaires qui entourent les artères, ce qui prévient l'apparition et la progression de l'athérosclérose.

Les composés phénoliques constituent des groupes importants chez les végétaux, selon les voies aromagenèse ; shikimates ou acide shikimique et par la voie acétate-malonate et peuvent être divisés en diverses classes .Sur la base de structure moléculaire plus de 8000 composés différents ont été décrits. Les plus abondants sont les acides phénols, les flavonoïdes, les stilbènes et le lignanes, dont les flavonoïdes et les acides phénols comptent 60% et 30%, respectivement, de polyphénols diététiques. Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées[19] .

II-1- Classification des composés phénoliques :**Tableau 01: Les classes principales des composés phénoliques [20]**

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6 - C1	Acides Hydroxy benzoïques	<i>p</i>-Hydroxy benzoïque	Epices, fraise
C6 - C3	Acides Hydroxy cinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C6 –C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6 –C2 –C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C6 –C3 –C6	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C6 –C3)2	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C6 –C3) n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C15) n	Tannins		Raisin rouge, Kaki

II-1-2- Définition des flavonoïdes:

Le terme flavonoïdes désigne une large gamme de composés naturels qui appartiennent à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce sont des molécules aromatiques poly substituées ayant un rôle des métabolites secondaires, très répandue dans le règne végétal, généralement hydrosolubles, et sont responsables des couleurs que l'on observe dans les pétales des fleurs. Ils assurent la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultra-violet.

Plus de 4000 des flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et possède la même base regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique (la structure de Benzo- γ -pyrone). Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc [21] .

Les Flavonoïdes généralement ont une structure de carbone $C_6-C_3-C_6$, ou plus précisément un squelette de diphenyl propane, décrit par une nomenclature spécifique. Les deux cycles benzéniques sont nommés cycle A et cycle B. Le chaînon propyle C_3 peut être complété par une fonction éther formant ainsi un cycle central, appelé cycle C[20] figure 4.

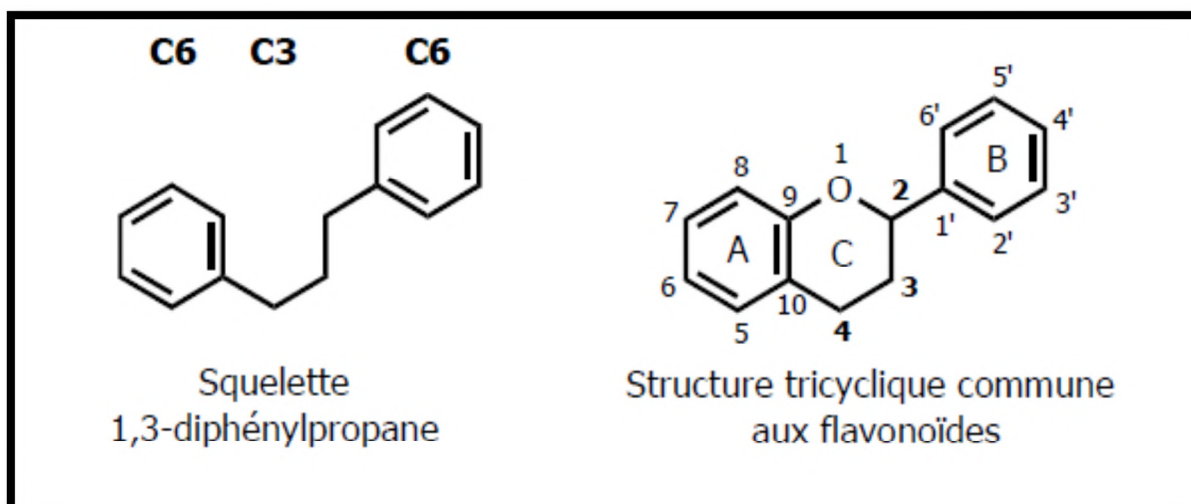
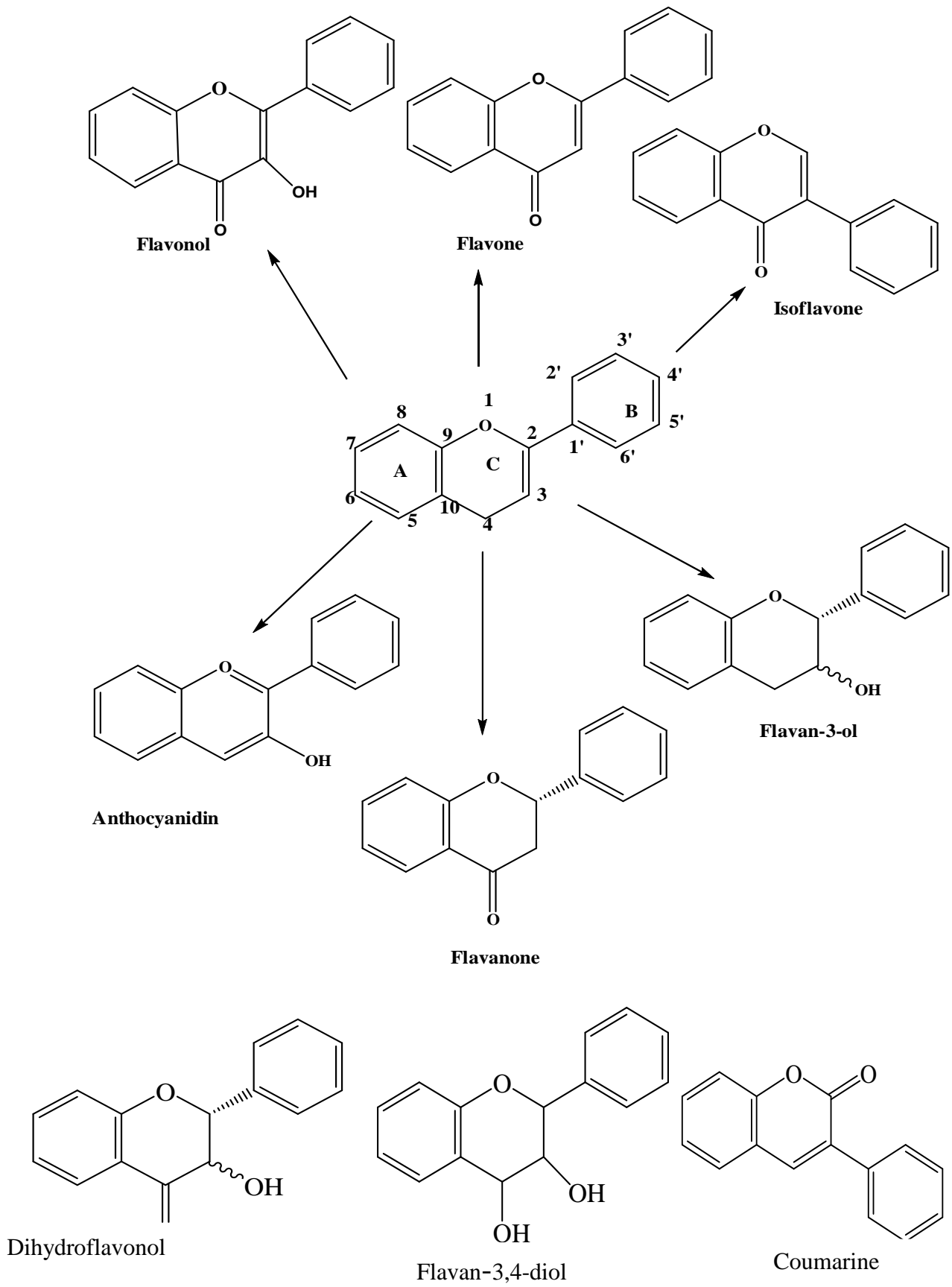


Figure 4 : Structures des flavonoïdes (enchaînement C6-C3-C6)

II-1-3-Les sous classe des flavonoïdes :

Les flavonoïdes se trouvent dans les légumes, les fruits, les graines, les tiges, les fleurs, le thé, ...etc. ils se trouvent dans notre régime quotidien. On estime que la consommation diététique des flavonoïdes est entre 1-2 g/jours.

On peut résumer que les flavonoïdes se divisent en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité fonctionnelle au niveau des positions 2, 3 et 4 du cycle C nous les présentons comme suit : flavonols, flavones, flavane, flavanone, chalcone, aurones, les flavanones et les dihydroflavonols...etc[21]. La structure de la majorité des sous classes sont données à la figure 5.



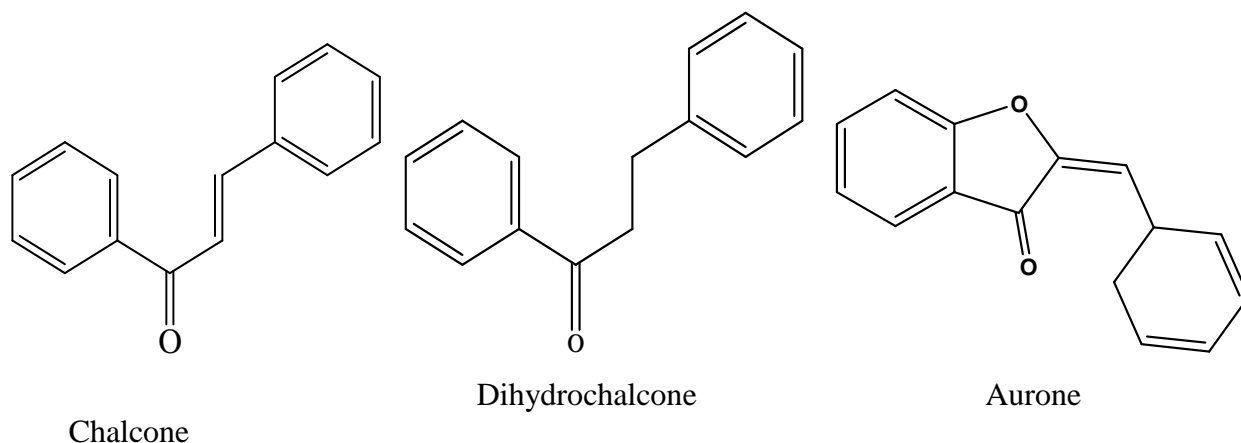


Figure 5 :Les différents structure des sous classe des flavonoïdes

II-2-Utilisation des flavonoïdes :

Depuis quelque décennies, les composés polyphénoliques ont suscité un grand intérêt scientifique, à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et aussi de leurs rôles dans la pigmentation parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes. Elles sont utilisés en cosmétique et alimentaire, pharmacie, en biologie et en médecine .Les flavonoïdes sont des antioxydants pour piéger les radicaux libres[22].

II-2-1-Rôle des flavonoïdes chez l'homme et la plante :

Flavonoïdes ont un rôle important dans le métabolisme car des études récentes ont montré que consommation des fruits et les légumes réduit le risque de maladies cardiovasculaires et le cancer. La présence de composés phénoliques, surtout les flavonoïdes se trouvent dans les toutes les parties de la plante : feuilles, fleurs, tiges et graines. Ils sont responsables des couleurs des légumes, les fruits comme les oranges, citron, raisin.

Donc la principale source des flavonoïdes sont les végétaux[4].

II-2-2-Les fonctions responsables du rôle des flavonoïdes

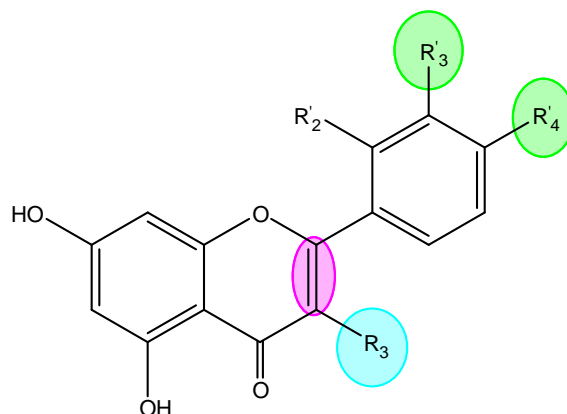


Figure 6. Structure des flavonoïdes

- fonctionnant comme des troubles découlant du manque de circulation sanguine
- antivirus [23-24] .

II-2-3. Biosynthèse des flavonoïdes :

Comme ça a été précisé auparavant, les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone. Ce dernier est constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3, on parle alors de chalcones. Ces dernières représentent le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes. La chalcone est métabolisée sous l'action de la chalcone isomérase en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)- flavanone- 3-hydroxylase pour donner les flavones : apigénine, dihydroflavonol et (2R-3R)- dihydrokaempférol respectivement. Les deux enzymes citées fonctionnent différemment : la première introduit la double liaison entre les carbones 2 et 3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du C3. Le dihydroflavonol en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4- reductase, se métabolise en flavonol, kaempférol ou en flavan-3,4-diol et leucoanthocyanidol respectivement[10] .

Toutes les voies métaboliques intervenant dans la biosynthèse des flavonoïdes peuvent être simplifiées comme c'est schématisé dans la figure (7) [24].

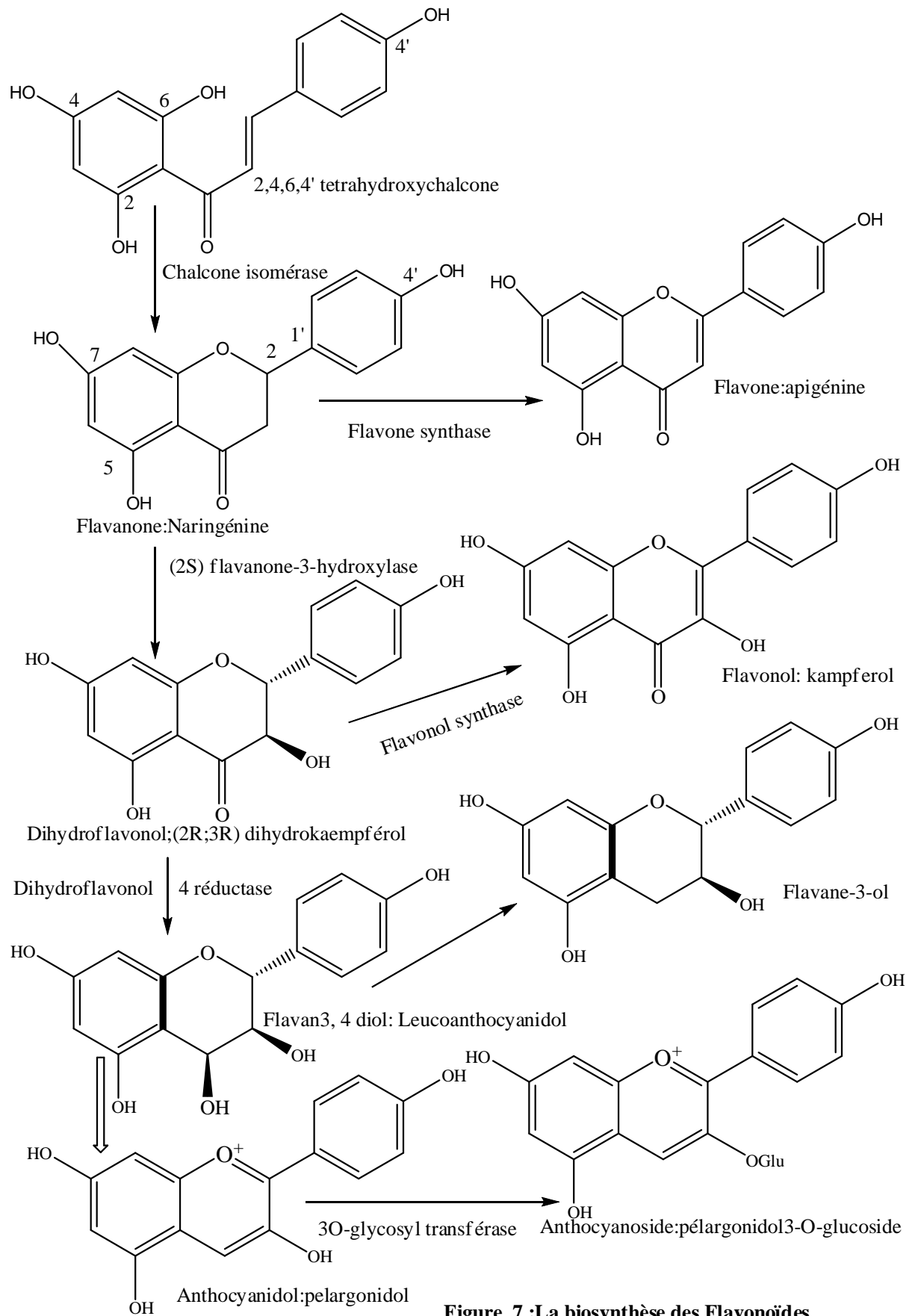


Figure 7 :La biosynthèse des Flavonoïdes

II-2-4 Propriétés des flavonoïdes :

❖ Propriétés antibactériennes :

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des Antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la Découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999)[25].

❖ Propriétés antioxydante :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, impliqués dans de nombreuses facettes de leurs systèmes biologiques : pigmentation, mécanismes de croissance et de reproduction, protection contre les prédateurs, ils peuvent intervenir et maintenir certains aspects de la physiologie de la plante. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales. On le retrouve particulièrement dans les végétaux (fruits, légumes, céréales, etc.) et dans les produits qui en dérivent (thé, jus de fruits, etc.). Ils sont caractérisés par un cycle benzénique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils constituent un groupe de molécules très varié en fonction de leur structure et de leur degré de polymérisation, ce qui leur confère des activités biologiques différentes. À l'heure actuelle plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 appartient à la classe des flavonoïdes[26].

III -Les terpènes

Parmi les métabolites secondaires on trouve en générale les terpènes. La majorité de ces derniers d'origine végétal et peu d'entre eux sont obtenus par d'autres sources. Le terme terpène donné au composé isolé du terpentine, c'est un liquide volatil isolés des pins. Ce terme " terpène "

a été utilisé pour décrire un mélange d'hydrocarbures isomères de formule moléculaire $C_{10}H_{16}$. Mais il ya une tendance à utiliser plus générale terme «terpénoïdes» qui englobent les hydrocarbures et leurs dérivés oxygénés. Toutefois, le terpène terme est utilisé de nos jours par certains auteurs pour représenter les terpènes (Sameena, 2007; bruneton, 2009) [27-28].

La définition moderne : Les " Terpénoïdes sont des hydrocarbures d'origine végétale de formule générale $(C_5H_8)_n$ ainsi que leur composés oxygénés, hydrogénés et dérivés déshydrogénés". Les mono et sesquiterpènes simple sont principalement les constituant des huiles essentielles obtenus à partir des plantes, par contre les di et triterpènes ne sont pas volatiles.

III-1-Classification des Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont classés sur la base de la valeur de nombre d'atomes de carbone présents dans la structure tableau suivant :

Tableau (2): Les classe principale des terpénoïdes

Nombre d'atome de carbone	La valeur n	Classe
10	2	Monoterpenoides($C_{10}H_{16}$)
15	3	Sesquiterpenoides($C_{15}H_{24}$)
20	4	Diterpenoids($C_{20}H_{32}$)
25	5	Sesterpenoids($C_{25}H_{40}$)
30	6	Troterpenoids($C_{30}H_{48}$)
40	8	Tetraterpenoids($C_{40}H_{64}$)
>40	>8	Polyterpenoids(C_5H_8)_n

Chaque classe peut être subdivisée en sous-classes en fonction du nombre de cycles présents dans la structure

- i) Terpénoides Acycliques: Ils contiennent structure ouverte (aliphatiques).
- ii) Terpénoides Monocycliques : Ils contiennent un cycle dans la structure.
- iii) Terpénoides Bicycliques: Ils contiennent deux cycles dans la structure.
- iv) Terpénoides Tricycliques: Ils contiennent trois cycles dans la structure.
- v) Terpénoides Tétracycliques: Ils contiennent quatre cycles dans la structure.

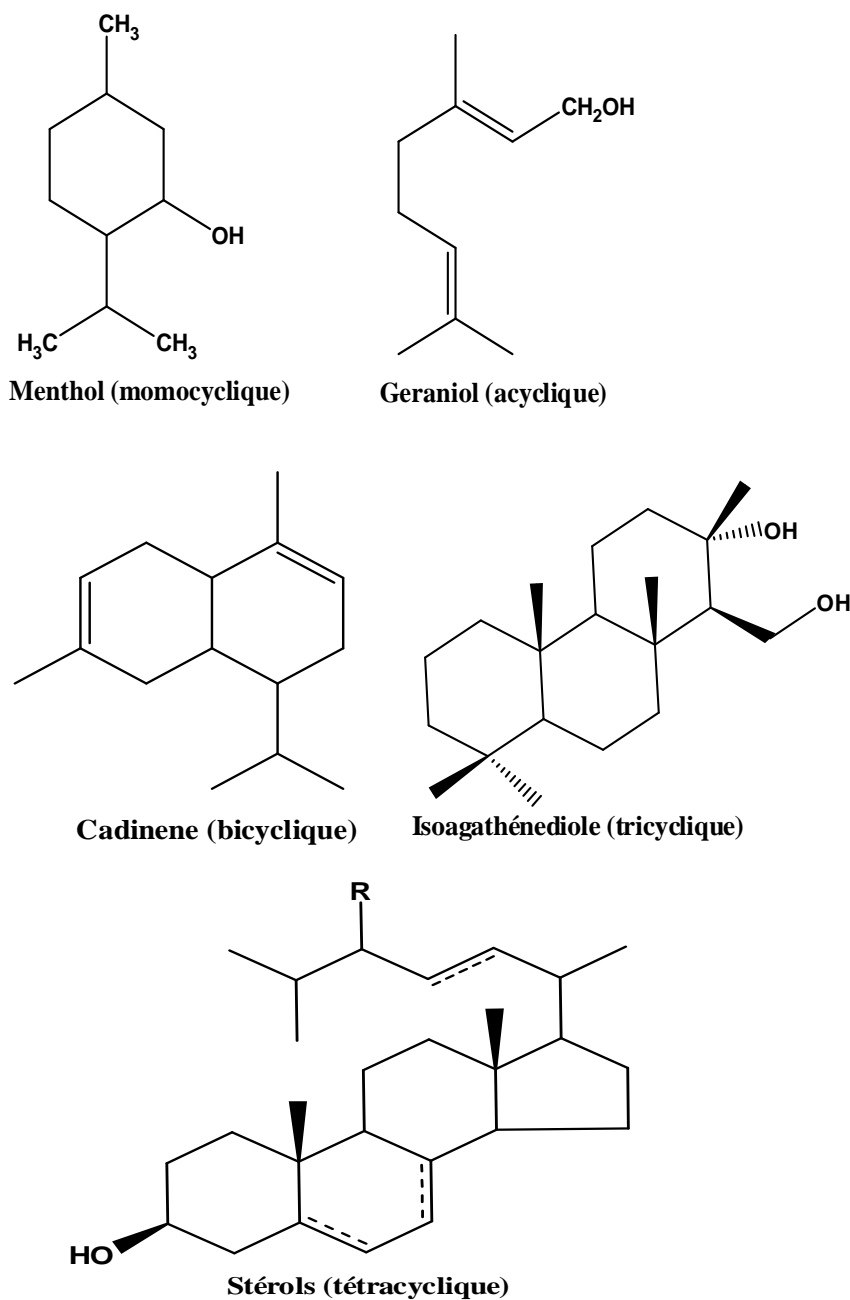


Figure 8: Quelques exemples des terpènes [27-28]

Les terpènes possèdent diverses potentialités thérapeutiques: propriétés antihypertensives, abortives, antitumorales et anti-inflammatoires. Il y a lieu de signaler également l'intérêt des quinones diterpéniques dans le traitement de plusieurs affections myocardiques et la toxicité des amides diterpéniques à l'égard des insectes (Bruneton, 2009) [28].

IV -Les coumarines

Les coumarines sont une autre classe des métabolites secondaires, tirant leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka *Coumarouna Odorata* appelée aussi (*Dipteryx Odorata* Willd., Fabiaceae) d'où fut isolée pour la première fois, en 1820, la coumarine.

Le terme coumarine désigne la classe des composés phénoliques dérivés de la molécule, la 2H-1-benzopyran-2-ones (α -benzopyrone) (figure 9).

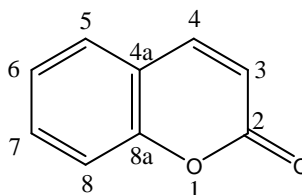


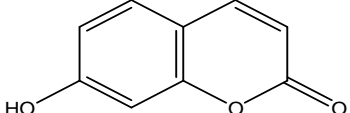
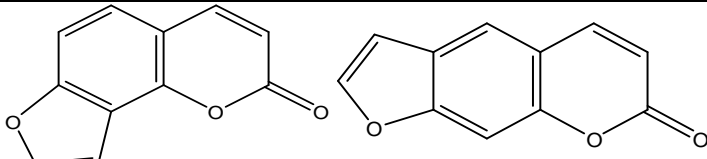
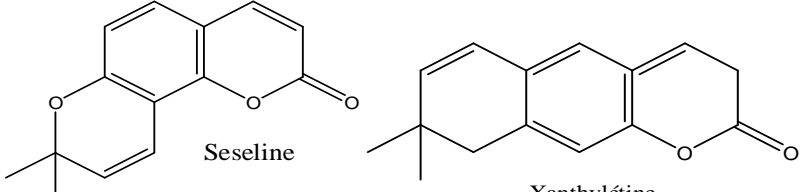
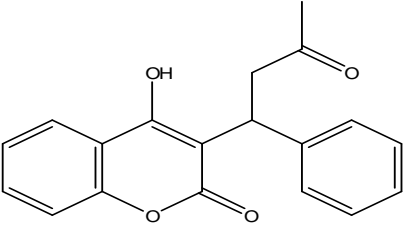
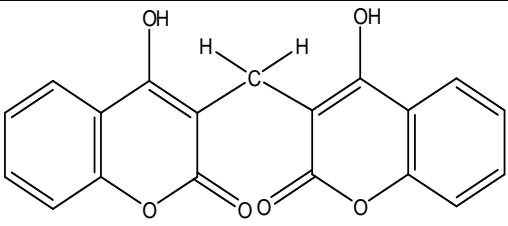
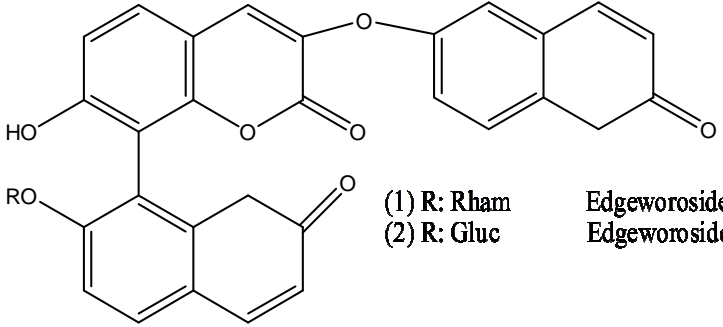
Figure 9 : α - Benzopyrone

Les coumarines se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et dans les huiles essentielles des graines. Elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides [29].

IV-1-Classification des coumarines

Les coumarines sont subdivisées en quatre catégories, les coumarines simples, furanocoumarine, pyranocoumarine et les coumarines pyrone-substitués tableau (3) [29].

Tableau (3) : Exemple des dérivés coumariniques

Classification	Exemple
Coumarines simples	 <p>7-Hydroxycoumarine</p>
Furanocoumarines	 <p>Angélicine Psoralène</p>
Pyranocoumarine	 <p>Seseline Xanthylétine</p>
Les coumarines pyrone-substitués	 <p>Warfarine</p>
Dicoumarine	 <p>Dicoumarol</p>
Tricoumarine	 <p>(1) R: Rham Edgeworoside A (2) R: Gluc Edgeworoside B</p>

V-Etude microbiologique

V-1-Définition la bactérie :

Une bactérie est un être unicellulaire (procaryote) de petite taille, de morphologie variable qui présente des caractéristiques propres. La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10 μm . Le poids d'une bactérie est d'environ 10-12 μg . Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%).

. On trouve les bactéries dans le sol, les eaux douces, marines, saumâtres, l'air, les profondeurs océaniques, les déchets radioactifs, la croûte terrestre, sur la peau et dans l'intestin des animaux. Ily a environ 40 millions de cellules bactériennes dans un gramme de sol et 1 million dans un millilitre d'eau douce. Chez l'homme, 1000 milliards de bactéries colonisent la peau, 10 milliards colonisent la bouche et 100 000 milliards habitent dans l'intestin, ce qui fait qu'il y a dix fois plus de cellules bactériennes que de cellules humaines dans le corps humain !...La plupart de ces bactéries sont inoffensives ou bénéfiques pour l'organisme. Cependant de nombreuses espèces sont pathogènes et à l'origine de beaucoup de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la peste, l'anthrax, la tuberculose[30] .

V-2- Structure d'une bactérie

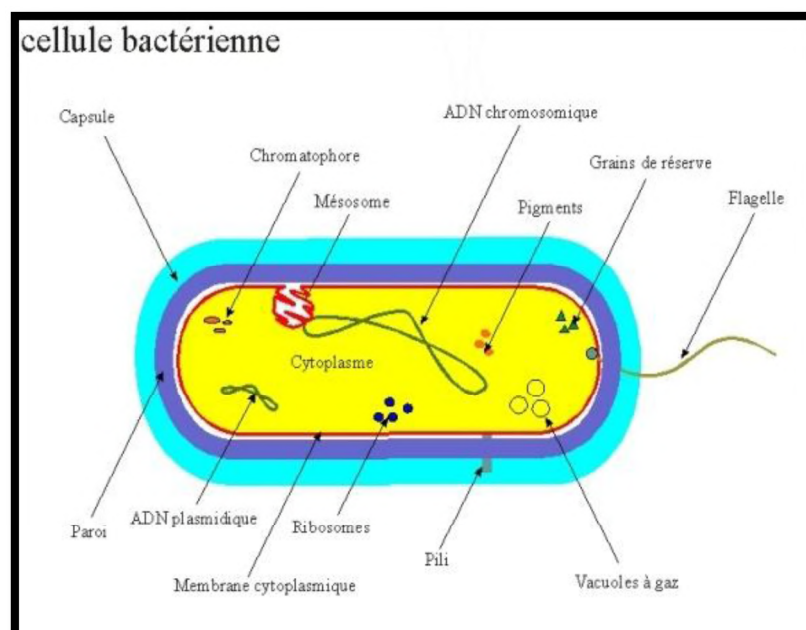


Figure 10: Structure d'une cellule bactérienne[30 - 31]

V-3- Calcification des bactéries :

La classification des bactéries entre elles repose sur plusieurs types d'observations et d'études. Les bactéries peuvent ainsi être classées et donc identifiées en fonction:

- de leur morphologie microscopique (bactérie de type coque, bacille, vibrion ; isolés, par deux, en chaînettes...)
- de leur morphologie macroscopique (taille, forme, couleur... des colonies sur milieux de culture gélosés)
- de leur mobilité (mobilité ou immobilité à une température donnée)
- de la présence de spores (à l'état frais ou après coloration)
- du résultat de la coloration de Gram (coloration de Gram positive ou négative)
- de la température de croissance (4° C, 20° C, 30° C, 37° C...)
- du type respiratoire (aérobie, anaérobie strict, aéro-anaérobie facultatif, microaérophile..)
- des besoins nutritionnels (nécessité de substances particulière pour le développement)

[31-32-33].

V-4-Les souches bactériennes utilisées :

V-4-1-Enterobacter.aerogenes :

C'est une bactérie ubiquiste, retrouvée sur les plantes et dans le sol, l'eau et le tube digestif de l'homme et des animaux d'où le nom d'entérobactérie[34] .

Elle constitue, une part prépondérante de la flore intestinale de l'homme mais relativement peu rencontrée dans d'autres sites du corps; comme sur la peau et dans les muqueuses

[34-35-36-37-38]

E.aerogenes est un bacille à Gram négatif, de taille variable de 0,6 à 1 μ m de large et de 1,2 à 3 μ m de longueur, asporulé, capsulé (entouré d'une fine capsule), mobile, pourvu d'une cilliatrepéritriche ce qui le différencie de *Klebsiella pneumoniae* espèce taxonomiquement proche d'*E.aerogenes*) [37-38-39-40].

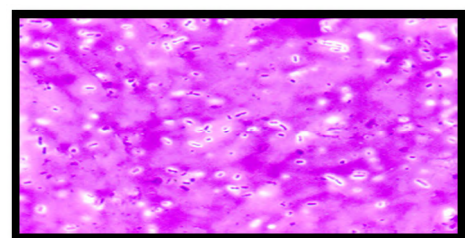


Figure11: Photos de la bactérie E.aerogenes (Observation microscopique)

V-4-2- *Levinea malonatica*:

Les *Citrobacters* sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux qu'on peut isoler des urines, des sécrétions respiratoires et du sang mais ils sont rarement responsables d'infections sauf chez les sujets immunodéprimés. Elles sont des Gram négatifs. Les *Levineas* sont des bactéries de l'environnement, éventuellement pathogènes opportunistes qu'on peut isoler au cours d'infections urinaires ou pulmonaires. Elles ont été signalées comme responsables de méningo-encéphalites néonatales[41]

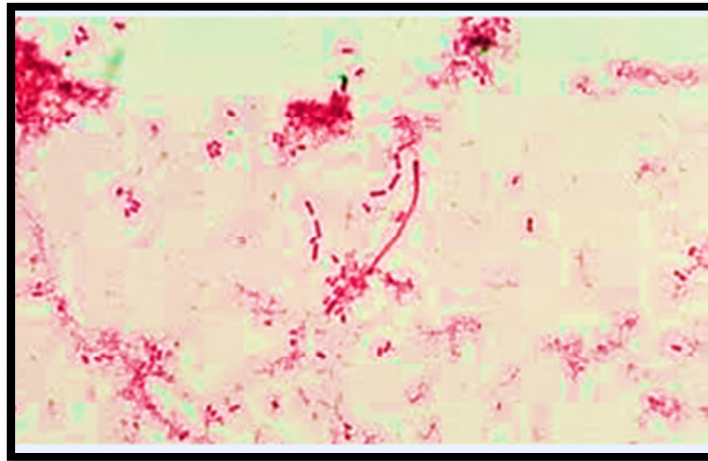


Figure 12 : photos de la bactérie *levinea* (Observation microscopique)

V-4-3-*Klebsiella pneumoniae*:

Klebsiella est une bactérie ubiquiste, retrouvée sur les plantes et dans le sol, l'eau et des animaux et trouvée dans l'intestin humain dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des hommes et des animaux en tant que bactéries commensales.

Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale. Les *Klebsiella* sont des *Enterobacteriaceae* bacilles Gram négatif, immobiles et capsulés de taille variable de 0,3-1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de longueur, souvent entourés d'une capsule. Les grandes colonies mucoïdes contiennent souvent des cellules avec de grandes capsules et celles de *K. pneumoniae*[42].

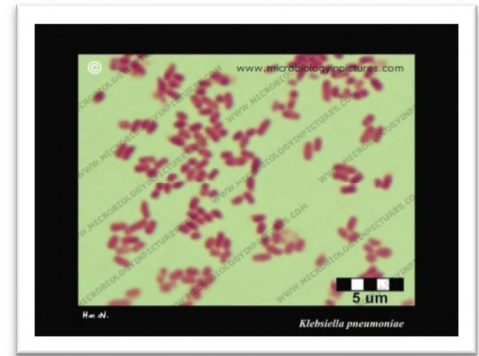
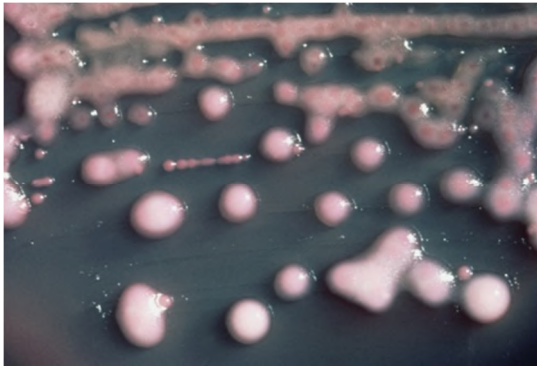


Figure 13: Photos de la bactérie *Klebsiella* (observation microscopique)

V-4-4-Escherichia-coli:

Elle a été découverte en 1885 par Théodore Escherich, *Escherichia coli* (*E.c.*) *Escherichia -coli* est un bacille pathogène gram négatif radiorésistant de la famille des Enterobacteriaceae. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3 μm), pesant de 0,5 à 5 picogrammes, les bactéries en croissance rapide étant plus allongées et donc plus grandes que les bactéries quiescentes. Elles se trouvent dans le corps humain et les animaux, les plantes et le sol. Elle cause les maladies de l'appareil urinaire, parasite diarrhée, inflammation de méningite et de empoisonnement du sang[34-44]



Figure 14 : Photos de la bactérie *Escherichia -coli* (Observation au microscopique)

Chapitre II
Etude expérimentale

I-Etude phytochimique de l'espèce *Atriplex halimus L.*

I-1-Récolte du matériel végétal :

La récolte du matériel végétal a été réalisée de la région de Oued-Souf (sud-est de l'Algérie), exactement de la région oum toyour le 29 mars 2015. La plante séchée à l'ombre puis On a séparé les feuilles et les tiges. Les deux parties de la plante sont broyées à l'aide d'un broyeur. Après le broyage on a obtenu une poudre de 160,01 g des feuilles et 160 g des tiges.

I-2-Extraction de la poudre des feuilles et tiges:

La poudre de la plante (poudre des feuilles ; poudre des tiges) subi une macération à froid par l'éther de pétrole trois fois après filtration la solution est évaporées à sec à l'aide d'un évaporateur rotative. La poudre séchée pendant quelques heures puis macérer une deuxième fois avec le méthanol/eau (v/v : 80/20) pendant 72 heures trois fois puis filtrer. L'extrait récupéré sont concentré à une température avoisinante les 40°C pour éliminer le méthanol puis additionné de 80 ml d'eau distillée .on laisse reposer la solution toute la nuit pour permettre la précipitation de la chlorophylle ; après filtration , on obtient une solution aqueuse claire qui subit à son tour une extraction de type liquide –liquide ,on utilisant les solvants de polarité croissante : éther de pétrole –le chloroforme –l' acétate d'éthyle et le n-butanol . Les trois phases organiques récupérées sont séchées avec le Na₂SO₄ anhydre , puis filtrées , concentrées à sec et pesées .Le protocole d'extraction pour les tiges est les feuilles sont les suivants (figure 15) et (figure 16):

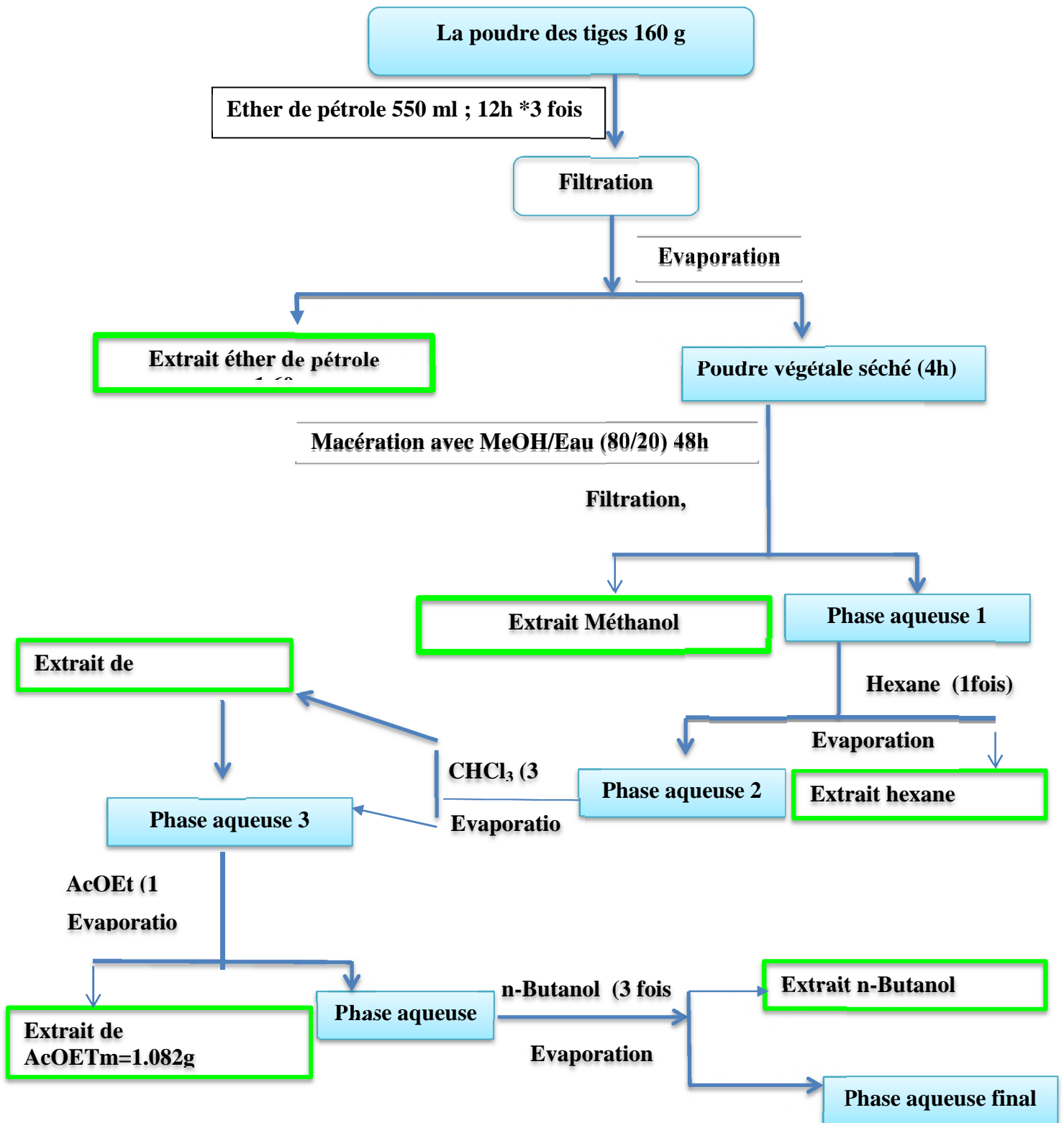


Figure 15: Protocol d'extraction à froid des tiges

Le protocole d'extraction des feuilles :

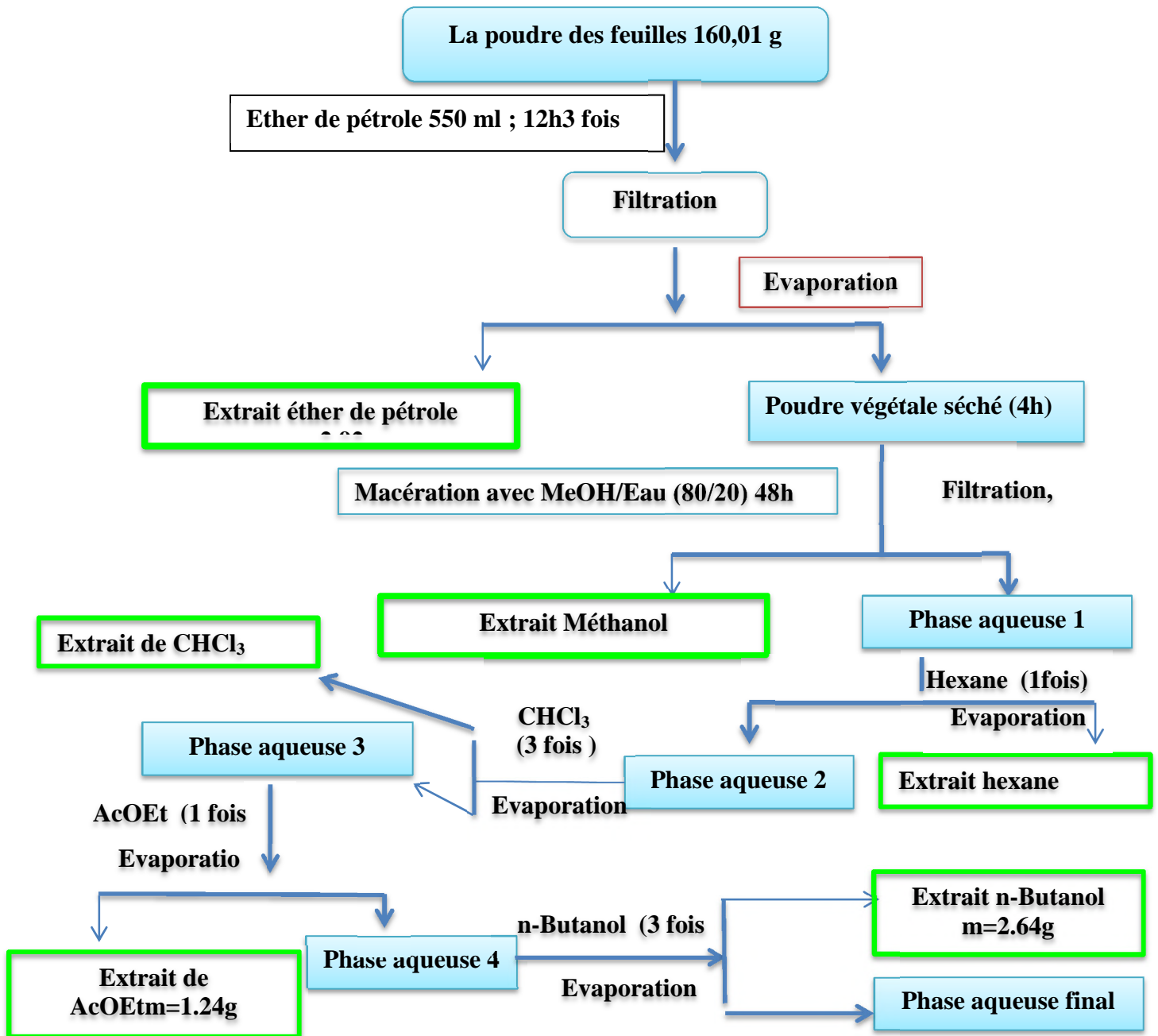


Figure16 : Protocol d'extraction des feuilles

**Feuilles****Tiges**

Figure 17 : Photos d'extraction liquide-liquide par acétate d'éthyle

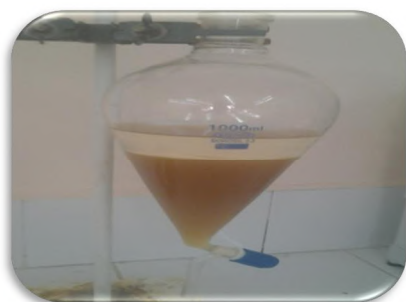
**Feuilles****Tiges**

Figure 18 : Photo d'extraction liquide-liquide par n-Butanol

I-3- Etude chromatographique :

I-3-1- Chromatographique sur couche mince :

Après l'obtention des extraits une analyse qualitative chromatographique sur couche mince (CCM) en phase normale sur plaques d'aluminium recouvertes de silice (Silica gel 60 F254, Merck). Le développement des plaques s'effectue dans des cuves en verre contenant l'éluant approprié. Les phases mobiles utilisées sont constituées d'un mélange combiné par des proportions suivantes :

L'extrait chloroformique:

Pour obtenir un meilleur système de séparation, nous avons utilisés les systèmes suivants :

- acétate d'éthyle / éther de pétrole (1:6), (1 :4), (1 :2), (1 :1), (2:1)
- hexane / chloroforme (8 :1), (6 :1), (4 :1), (2 :1)
- hexane / chloroforme / acétate d'éthyle (15 :5 :1), (4 :4 :1), (2 :2 :1), (1 :1 :2)
- chloroforme / acétone (6 :1), (4 :1), (2 :1), (1 :1), (1 :2), (1 :4)
- chloroforme / méthanol (40 :1), (20 :1), (10 :1), (1 :1)

L'extrait butanolique :

Pour obtenir un meilleur système chromatographique on a effectué les systèmes sont :

- acétate d'éthyle /AC. Formique / AC. Acétique / eau (v/v/v/v)
(10/1.1/1.1/2),(10/0.5/0.5/2.6),(10/1.1/0.5/1),(10/1/1/2.6),(10/1.1/1.1/2.6)
- eau/ETOH/butanol/Acétate d'éthyle (6/2/2.5/0.5),(13/3/3/1)

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV (longueurs d'ondes $\lambda = 254$ nm et 365 nm).

- **Rapport frontal**

On détermine pour chaque constituant, le Rapport frontal :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

- Le R_f est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé sur un support «phase stationnaire» donnée.
- Le R_f est le même, que le constituant soit pur ou dans un mélange.
- Le R_f ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange.

I-3-2- Chromatographie sur plaque préparative

La CCM préparative est une technique chromatographique utilisée dans la séparation et l'isolement de divers métabolites présents dans un mélange peu ou pas complexe. Elle dérive de la chromatographie sur couche mince mais dans ce cas, les zones de silice correspondante aux taches sont récupérées de la plaque contrairement à la CCM analytique. A cette différence s'ajoute la quantité d'échantillons appliquée sur la plaque chromatographique (20mg à 40 mg) ainsi que l'épaisseur de la couche du gel de silice sur la plaque. Dans cette technique, les plaques que nous avons utilisées sont généralement des plaques en verre (Merck).

L'échantillon à séparer est solubilisé dans un solvant adéquat de manière à obtenir la dissolution totale. Il est ensuite déposé sur la plaque à l'aide d'un peigne spécial. La plaque est développée dans une cuve saturée contenant l'éluant adéquat. Comme dans la CCM analytique, la plaque est séchée à température ambiante.

On examine les taches des constituants sous lumière UV. A l'aide d'une spatule on récupère les composés d'intérêt fixés sur la silice. Cette dernière est ensuite dispersée dans une petite quantité de solvant, puis filtrée sous vide, pour permettre la récupération des composés d'intérêt et après évaporation des solvants, une étude chromatographique sur CCM est réalisée les constituants séparés.

II-Etude microbiologique

II-1- Collection de souches bactériennes utilisées :

Les bactéries qui sont extraites au laboratoire de l'hôpital S. Amirat de Touggourt
Les échantillons des bactéries sont les suivant :

- ❖ *Enterobacter .aerogenes* (09)
- ❖ *Levinea*
- ❖ *Klebsiella* (20)
- ❖ *Esherichia-coli* (15)

II-2- Préparation des extraits végétales :

Nous avons préparés nos extraits en trois concentrations 3.75 ; 7.5 ; 15 mg/ml en les dissouts dans le DMSO selon la relation suivante : **150 mg dans 10 ml de DMSO**

II-3-Repiquage des espèces bactériennes :

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries selon Austin en 1988, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

II-4- Préparation de l'inoculum :

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur stérile et homogénéisées dans 10 ml de l'eau physiologie puis portées à l'incubation dans l'Étuve pendant (18-24) heures à 37°C.

II-5- Préparation des disques :

Des disques de papier Wathman n°3 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 130°C pendant 45 min dans un four pasteur), sont chargés uniquement de l'extrait végétal à tester et les autres disques sont imprégnés dans le DMSO pour servir comme un témoin négatif.

II-6- Préparation des milieux de culture :

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre, l'épaisseur de la gélose est de 2 mm, répartie uniformément dans ces boîtes. Cette dernière doit être séchée pendant 30 min à une température ambiante du laboratoire avant d'être employées.

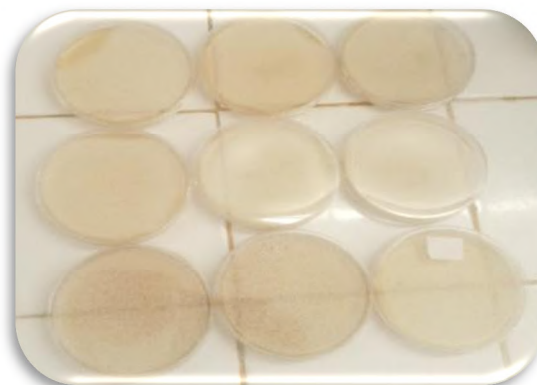


Figure19 : les boîtes pétries contiennent le milieu de culture (M.H.)

II-7- Ensemencement :

Les boîtes de pétries stériles préalablement coulées, sont ensemencées et étaler à l'aide d'un écouvillon, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits de différentes concentrations (3.75 - 7.5 -15mg/ml) sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

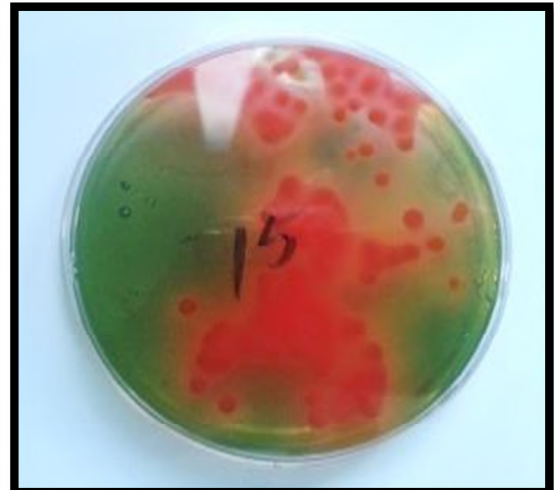
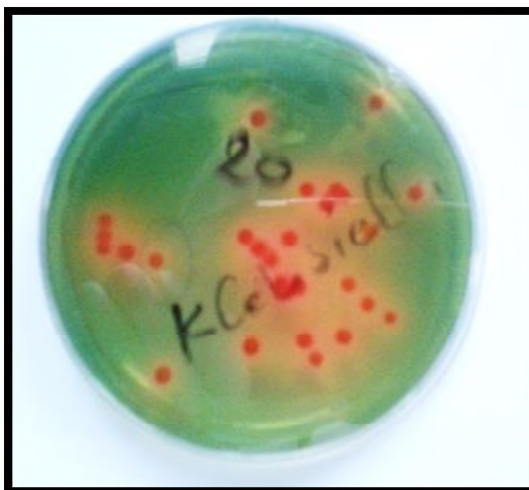
L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite à l'aide d'un pied à coulisse autour des disques après 24 h d'incubation à 37°C



Figure 20 : Pied à coulisse



Figure21 : Four pasteur



Les photos des quelque bactérie utilise de l' hopitale S .amirat (*klebsiella* et *E.coli*)

Chapitre III
Résultats et discussions

Résultats et discussions

I-Extractions :

Les phases obtenues sont concentrées à sec sous à pression réduite, puis pesés et les rendements sont illustrés au tableau 04 suivant :

Tableau 04 : Résultats des extractions

Extraites	Tiges		feuilles	
	Poids	Rendement	Poids	Rendement
Hexane	1.79	%1.118	2.53g	1.58%
Chloroforme	1.1824	%0.739	1.13g	0.706%
Acétate d'éthyle	1.082	% 0.676	1.24g	0.774%
n-butanol	1.4515	%0.9071	2.646g	1.653%

Selon les résultats obtenus on a trouvé que le rendement d'extraction des feuilles mieux que l'extraction des tiges. L'extrait butanolique des feuilles et les tiges est plus élevé que les autres extraits.

II-La chromatographie sur couche mince CCM :

II-1-L'extrait chloroformique:

Pour obtenir un meilleur système de séparation, nous avons utilisés plusieurs systèmes les résultats présents dont les plaques suivantes :

Les plaques CCM:

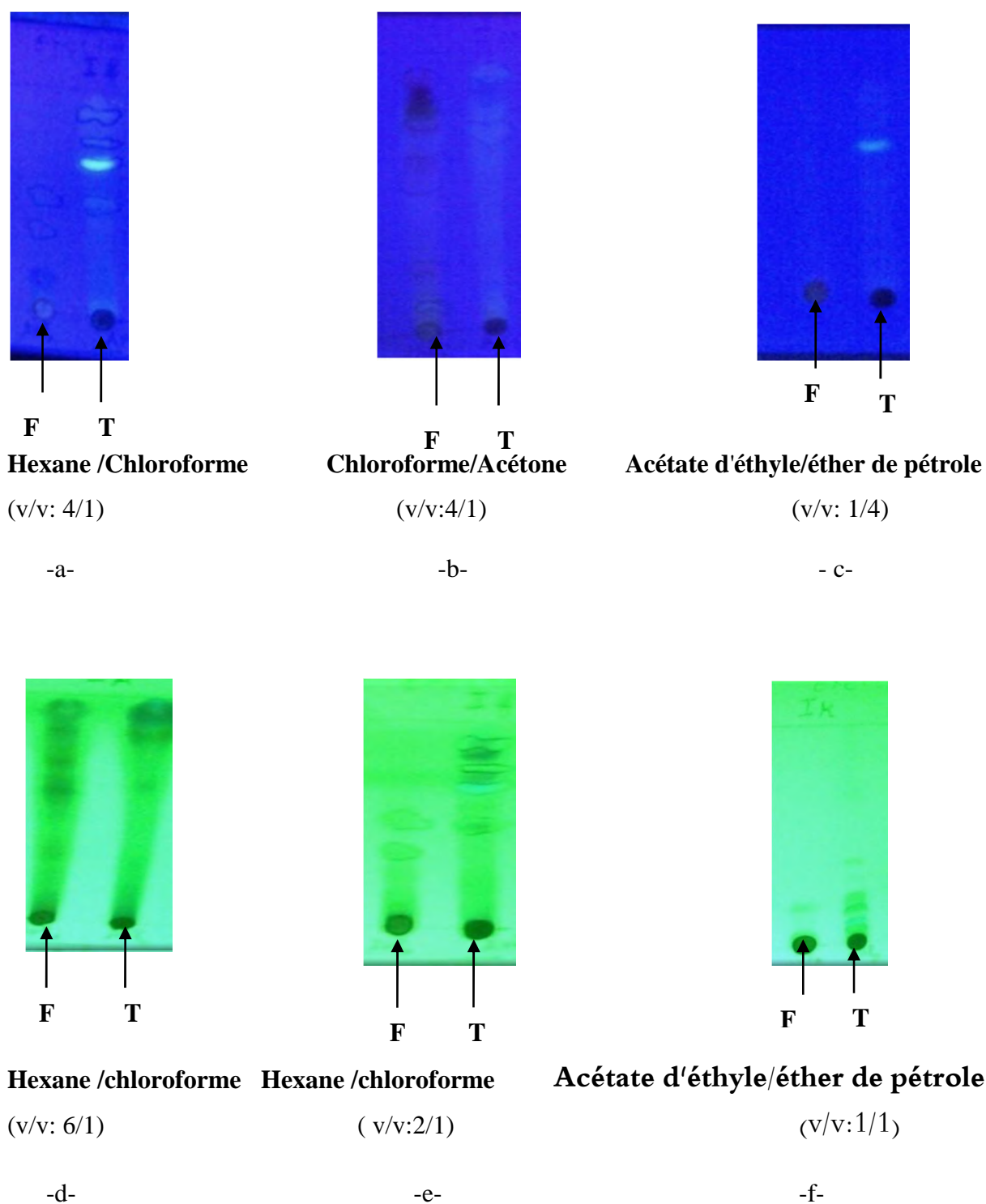


Figure 22 (a,b,c,d,e,f) :Photos des CCM de l'extrait chloroformique

Le meilleur solvant de migration de l'extrait chloroformique est :

Les systèmes de migration $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ dans les proportions (10/1 ; 15/1) donnent une meilleure séparation la figure suivante :

Tableau 06: Les rapports de fronts de l'extraits chloroformique des tiges et feuilles du système CHCl₃/MEOH (v/v:15/1)

Extrait des feuilles			Extrait des tiges		
N° de tache	R _f	Le couleur 365nm	N° de tache	R _f	Le couleur 365nm
01	0.055	Jaune	01	0.055	Vert- jaune
02	0.20	Ver claire	02	0.195	Ver claire
03	0.36	Rouge	03	0.34	Ver foncé
04	0.46	Move	04	0.46	Ver foncé
05	0.65	Bleu fluorescent	05	0.67	Bleu fluorescent
06	0.83	Rouge	06	0.769	Jaune-orange
07	0.93	Rouge	07	0.82	Bleu foncé
			08	0.92	Rouge

Les extraits de chloroforme des feuilles et tiges montrent l'existence de plusieurs composés, ces derniers observés en UV dans les deux longueur d'ondes. On a observé deux produits majoritaires d'une coloration :

- Orange
- Bleu fluorescent

II-2-Extrait acétate d'éthyle



F T

Hexane /Chloroforme(v/v:4/1)

-a-



F T

Chloroforme/Acétone(v/v:1/4)

-b-



F T

Acétat d'éthyle/ether de pétrole(v/v:4/1)

-c-

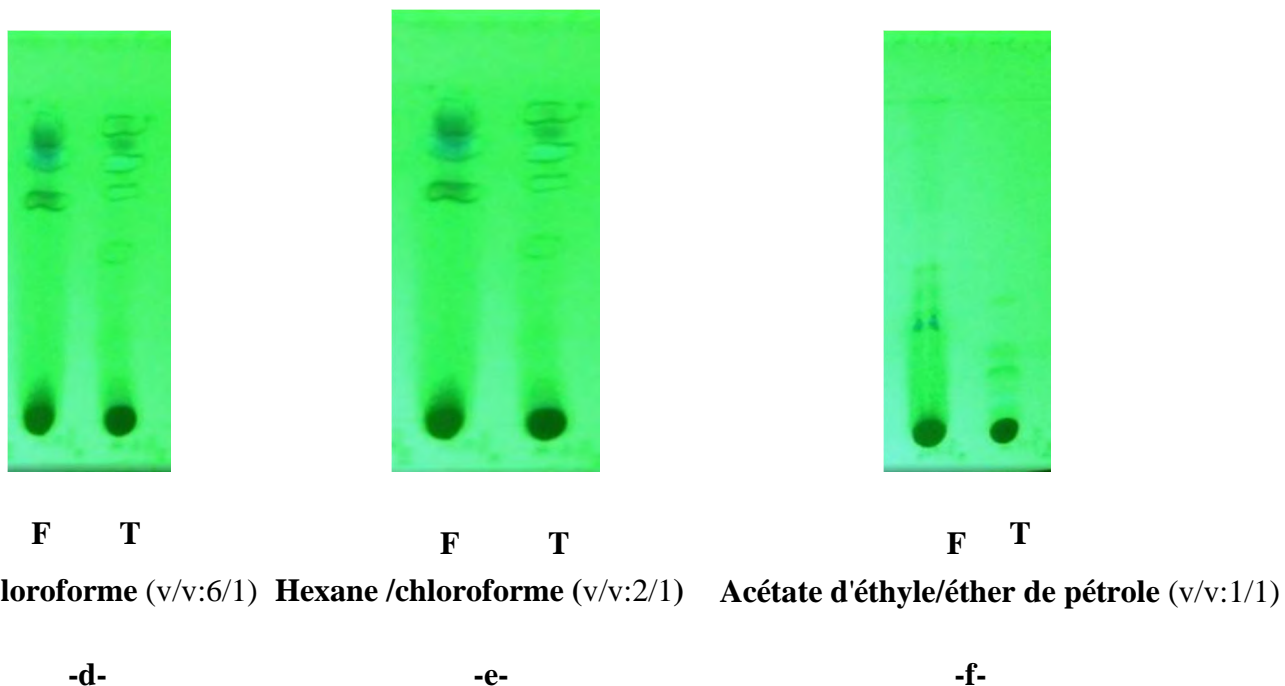


Figure (a,b,c,d,e,f) 24 : Photos des CCM de l'extrait acétate d'éthyle

On résume les résultats de séparation CCM de phase AcOEt dans le tableau 7 suivant:

Tableau 7 : Les rapports de fronts de l'extrait AcOEt des tiges et feuilles

Extrait de feuille			Extrait de tige		
N°de tache	R _f	Le couleur à 365nm	N°de tache	R _f	Le couleur à 365nm
01	0.99	Marron claire	01	0.28	Jaune-violet
02	0.24	Marron foncé	02	0.35	Bleu
03	0.38	violet	03	0.47	Bleu claire
04	0.55	Marron	04	0.5	Violet
05	0.64	Bleu -jaune	05	0.59	Jaune claire
06	0.70	Violet claire	06	0.74	Jaune
07	0.79	violet	07	0.75	Vert
08	0.93	Orange			

II-3-L'extrait boutanolique :

On a trouvé que le mélange acétate d'éthyle /AC. Formique / AC. Acétique / eau

(v/v/v/v : 10/1.1/0.5/1) donne une meilleure séparation dont le figure 25 suivant :

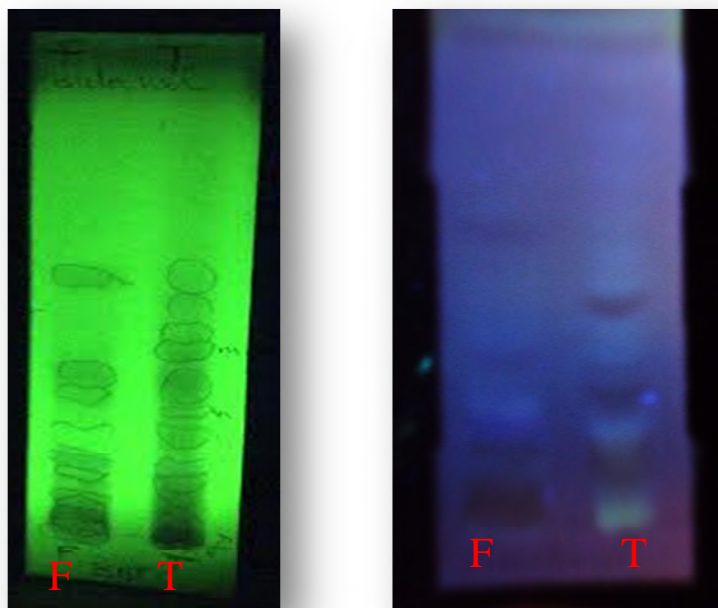


Figure 25 : Chromatogramme des extraits butanolique des feuilles et les tiges

Les rapports de fronts des extraits butanolique des tiges et feuille sont illustrée dans le tableau 8 suivant

Le tableau 8 : Les rapports de fronts des extraits butanoliques des tiges et feuilles

Extrait de butanol les feuille			Extrait de butanol les tiges		
N° de tache	R _f	les couleurs des composes	N° de tache	R _f	les couleurs des composes
1	0.0012	Jaune	1	0.0120	Jaune
2	0.012	Marron	2	0.036	Verte claire
3	0.048	Marron fonces	3	0.096	Jaune
4	0.072	Marron	4	0.168	Verte
5	0.096	Marron claire	5	0.240	Marron fonces
6	0.132	Violet	6	0.289	Marron claire
7	0.156	Verte claire	7	0.349	Jaune claire
8	0.216	Rose claire	8	0.421	Marron fonces
9	0.313	Violet	9	0.457	Jaune claire
10	0.361	Mauve	10	0.518	Marron claire
11	0.566	Marron	11	0.578	Marron claire

Selon les couleurs observées par la lampe UV et les valeurs des R_f qui sont illustrés dans le tableau 8 on trouve que les deux extraits butanoliques très riches en composés flavonoïques. En utilisant les systèmes de migrations Wagner (1999)[43], on peut déduire la possibilité d'existence des types des flavonoïdes suivants :

- **Bleu fluorescent:**

- Shalkon

- Flavone et flavanone

- Flavonol

- isoflavone

- **Violet-violet foncé :**

- Flavone

- Flavonol

- Flavonol substitué en position 3

- **Jaune -jaune-clair :**

- Flavonol

III-La Chromatographie sur plaque préparative :

Les résultats de la chromatographie sur couche mince, nous a encouragés de réaliser une chromatographie sur plaque préparative:

III-1- La Chromatographie sur plaque préparative de l'extrait butanolique des tiges:

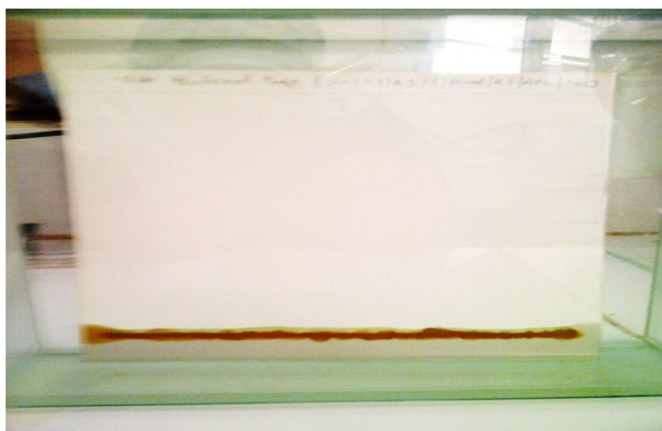


Figure 26 : Photos de la plaque préparative

Après la séparation d'extrait n-butanol des tiges et feuilles en utilisant le système suivant :

AcOEt /AC.Formique /AC.Acetique /H₂O(v/v/v/v : 10/1.1/0.5/1)

Après la migration des produits, après le séchage de la plaque et après l'observation sous la lampe UV. On a obtenu 03 bandes.

On a gratté les bandes et on a dissout chaque bande dans un bécher qui contient quelques millilitres de MeOH. Toutes les solutions sont évaporées à sec puis une CCM a été réalisé sur les composés obtenus :

Les systèmes utilisés sont les suivants :

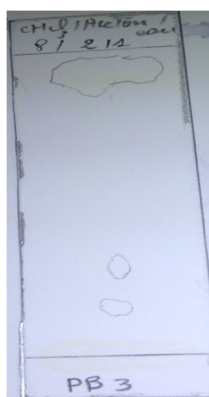
- n-butanol /HOAC/H₂O (v/v/v :6.5/1.5/2.5)
- EtOAC/CH₂CL₂(v/v:6/4)
- EtOAC/HCOOH/HOAC/H₂O (v/v/v/v :10/1.1/1.1/2.6)



EtOAC/HCOOH/HOAC/H₂O

(v/v/v/v: 10/1.1/1.1/2.6)

-a-



CHCl₃/acétone /H₂O

(v/v/v :8/2/1)

-b-



EtOAC/HCOOH/HOAC/H₂O

(v/v/v/v : 10/1.1/1.1/2.6)

-c-

Figure 27(a,b,c):Photos CCM des produits isolés de l'extrait butanolique des tiges

Le tableau 9 suivant englobe les rapports de fronts des produits isolés

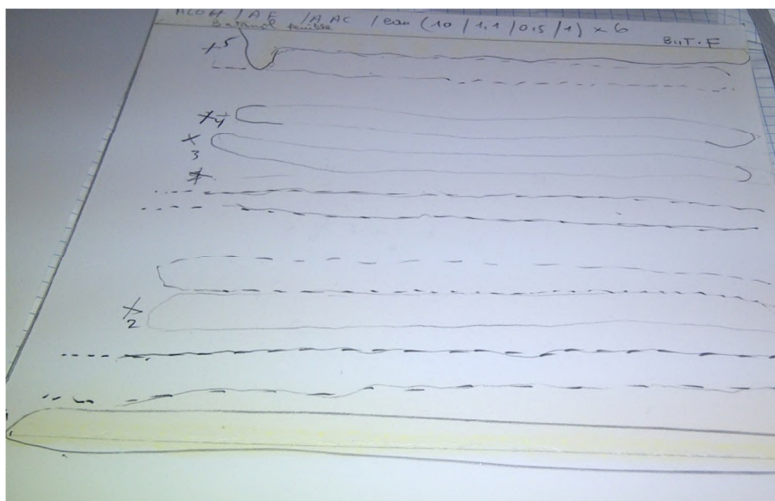
Tableau 9 : les rapport de fronts des produits isolés de l'extrait butanolique des tige

N°tache	PB ₁	R _f	PB ₂	R _f	PB ₃	R _f
01	Bleu	0.396	Bleu	0.40	Bleu	0.412
02	Move foncé	0.603	Move foncé	0.61	move	0.63
03					Move foncé	0.92



n-ButoH/AC.Acetic/H₂O (v/v/v/v: 6/1.5/2.5)

III-2-la Chromatographie sur plaque préparative de l'extrait butanolique des feuilles:

**Figure 28 : Photos de la plaque préparative de l'extrait butanolique des feuilles**

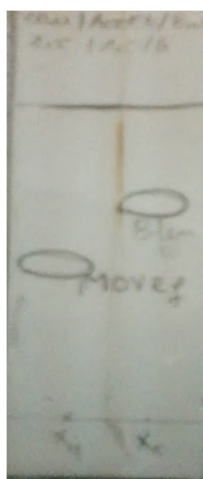
Après le séchage de la plaque et après l'observation sous la lampe UV. On a gratté les bandes on a dissout chaque bande dans un béccher qui contient quelques millilitres de

MeOH. Toutes les solutions sont évaporées à sec puis une CCM a été réalisé sur les composés obtenus :

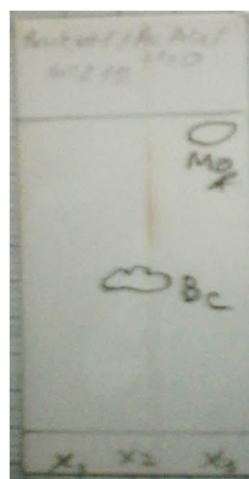
Les systèmes utilisés sont :

- n-Butanol/HOAc /H₂O (v/v/v :6.5/1.5/2.5)
- n-Butanol/AcOEt / H₂O (v/v/v :6/1.5/2.5)
- n-Butanol/Ac.Acétique /H₂O (v/v/v :6/2/2)
- AcOEt/Hexane (v/v : 7/3)
- CHCl₃/Hexane (v/v :5/1.2)

Mais le système qui a donné une meilleur séparation est : n-Butanol/AcOEt / H₂O (v/v/v/v : 6/1.5/2.5)



-a-



-b-

Figure (a,b) 29 : photos CCM des produit isolé de l'extrait butanolique des feuilles de phase n-Butanol/AcOEt / H₂O (v/v/v/v : 6/1.5/2.5)

- n-Butanol/Ac.Acétique /H₂O (v/v/v :6/2/2)



-a -



-b-

Figure (a,b)30 : photos CCM des produit isolé de l'extrait butanolique des feuilles de phase n-Butanol/Ac.Acétique /H₂O (6/2/2)

IV – Le Teste d’activité antioxydant :

Pour vérifier l’activité antioxydante des extraits bruts, nous avons fait un test simple c’est la révélation des plaques CCM avec le DPPH .L’apparition de la coloration jaune pour certain composés des extraits montre que ces composés ont une activité antioxydante.

selon les résultats obtenus dans les photos précédentes on peut déduire la présence de certains composés antioxydants dans la phase chloroformique et de la phase butanolique.

Des propriétés plus importantes des flavonoïdes comme antioxydant.

V- Les tests d’activités antibactériennes

Après le processus d'extraction, nous avons étudié les connaissances biologiques de l'impact de ces extraits sur certains types de bactéries pathogènes qui infectent les humains et qui étaient sensibles ou résistantes ou faible



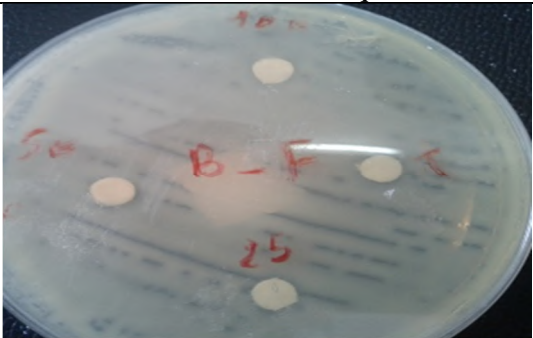
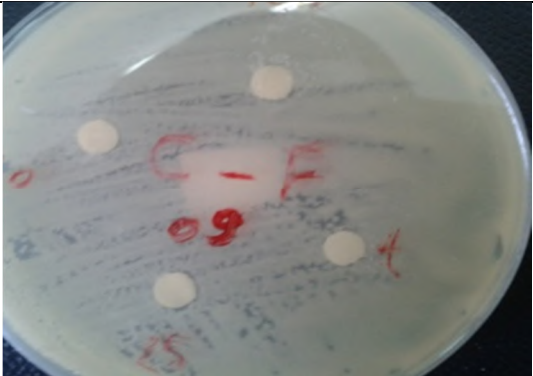
V-1-La lecture des résultats :

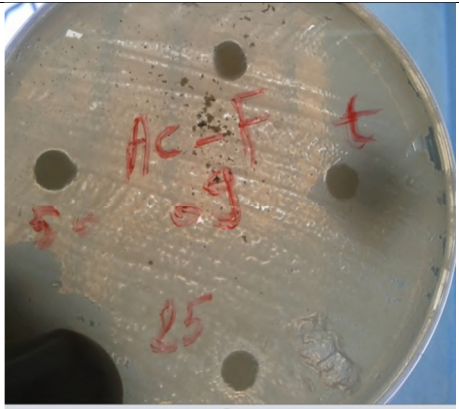
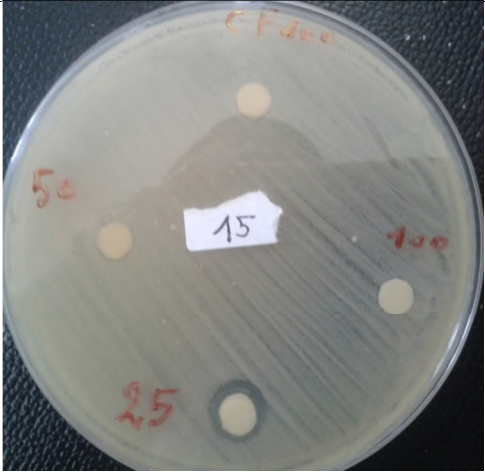
La lecture des résultats est rapportée par la mesure des diamètres des zones d’inhibitions en (mm). Les zones doivent être uniformément circulaires (**Richard et Coll., 2007**). Selon **Barros et Coll. (2007)**, l’activité antimicrobienne est exprimée en zones d’inhibition comme suit : [44-45]

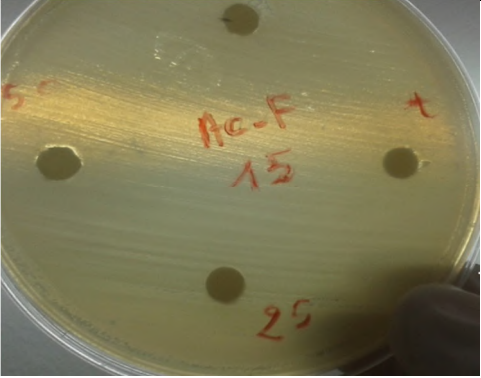
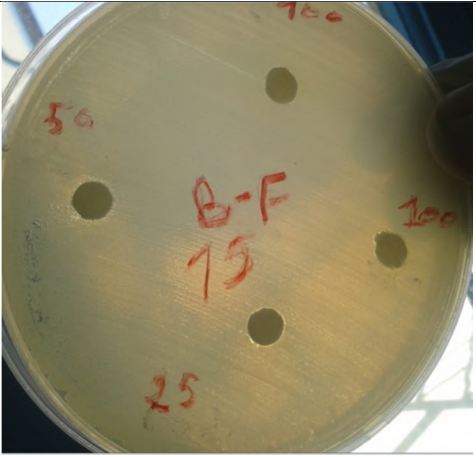

- Diamètres inférieurs à 7 mm : *aucune activité antimicrobienne* (-),
- Diamètres de 7 à 9,9 mm : *activité antimicrobienne faible* (+),
- Diamètres de 10 à 11,9 mm : *activité antimicrobienne modeste* (+ +),
- Diamètres de 12 à 15 mm : *activité antimicrobienne élevée* (+ + +),
- Diamètres supérieurs à 15 mm : *activité antimicrobienne forte* (+ + + +)

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Les résultats d'activité anti bactériennes des extraits des feuilles

Souches	Concentration mg/ml	diamètre en mm	Extrait chloroformique des feuilles
<i>Levinea</i>	(100%) 15mg/ml	9mm (+)	
	(50%) 7.5mg/ml	9mm(+)	
	(25%) 3.75mg/ml	7mm (-)	
	(100%) 15mg/ml	6mm(-)	Extrait acétate d'éthyle
	(50%) 7.5mg/ml	6mm(-)	
	(25%) 3.75mg/ml	6mm(-)	
(100%) 15mg/ml	6mm(-)	Extrait boutanolique	
(50%) 7.5mg/ml	6mm(-)		
(25%) 3.75mg/ml	6mm(-)		
<i>E. aerogenes</i> 09	(100%) 15mg/ml	6mm(-)	Extrait chloroformique
	(50%) 7.5mg/ml	6mm(-)	
	(25%) 3.75mg/ml	6mm(-)	

<i>E. aerogenes</i>	(100%) 15mg/ml	6mm(-)	Extrait acétate d'éthyle 
	(50%) 7.5mg/ml	6mm(-)	
	(25%) 3.75mg/ml	7mm(-)	
	(100%) 15mg/ml	6mm(-)	
(50%) 7.5mg/ml	6mm(-)		
(25%) 3.75mg/ml	6mm(-)		
09			
<i>E.coli</i>	(100%) 15mg/ml	7mm(-)	Extrait chloroformique 
	(50%) 7.5mg/ml	8mm(+)	
	(25%) 3.75mg/ml	11.5mm (++)	
15			

<i>E.coli</i> 15	(100%) 15mg/ml	7 mm (-)	Extrait acétate d'éthyle 
	(50%) 7.5mg/ml	7.5mm(+)	
	(25%) 3.75mg/ml	7 mm (-)	
	(100%) 15mg/ml	7 mm (-)	Extrait butanolique 
	(50%) 7.5mg/ml	8.5(+)	
	(25%) 3.75mg/ml	7 mm (-)	
<i>Klebsiella</i> 20	(100%) 15mg/ml	7.5mm(+)	Extrait chloroformique 
	(50%) 7.5mg/ml	8mm(+)	
	(25%) 3.75mg/ml	8.5mm(+)	

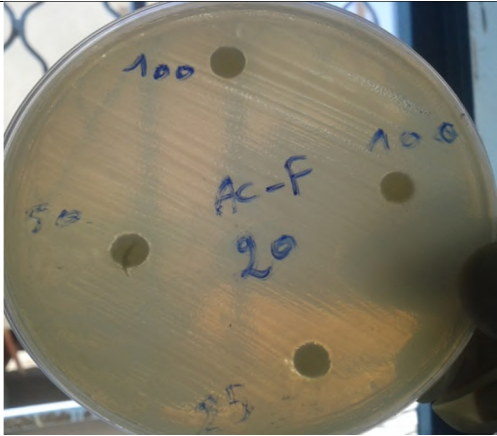


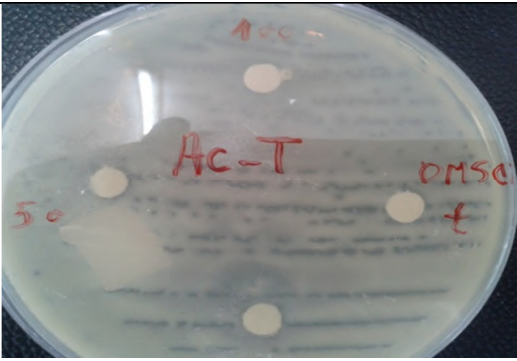
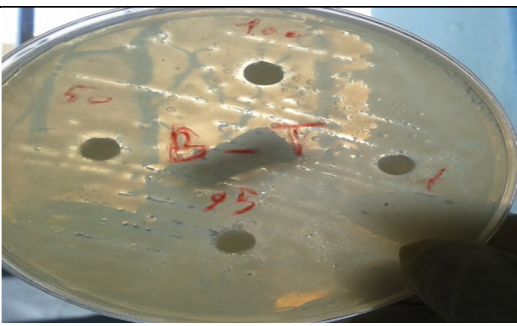

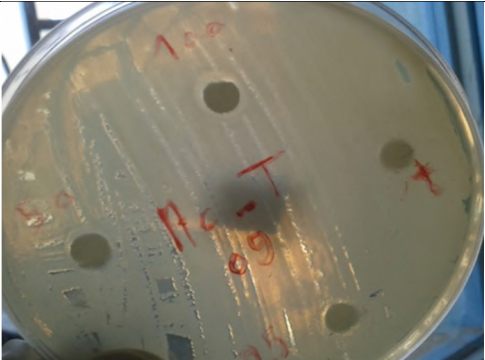


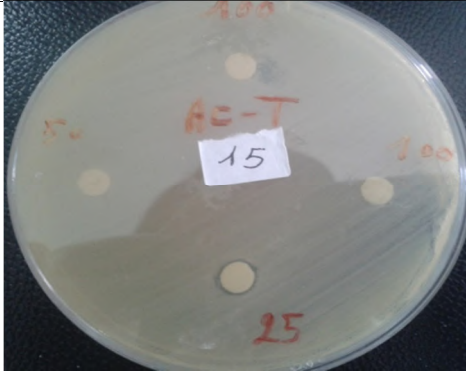
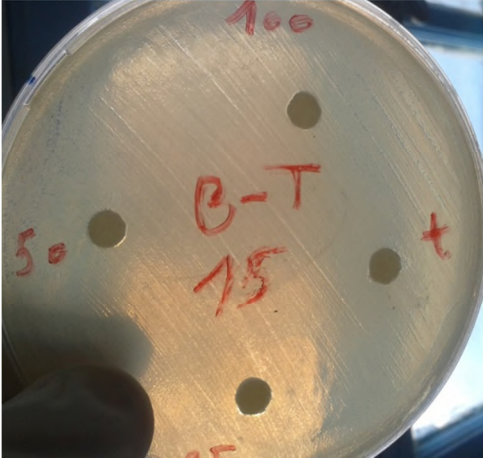

<p><i>Klebsiella</i> 20</p>	(100%) 15mg/ml	7mm(-)	Extrait acétate d'éthyle
	(50%) 7.5mg/ml	7mm(-)	
	(25%) 3.75mg/ml	7mm(-)	
	(100%) 15mg/ml	7mm(-)	
	(50%) 7.5mg/ml	7mm(-)	
	(25%) 3.75mg/ml	7mm(-)	

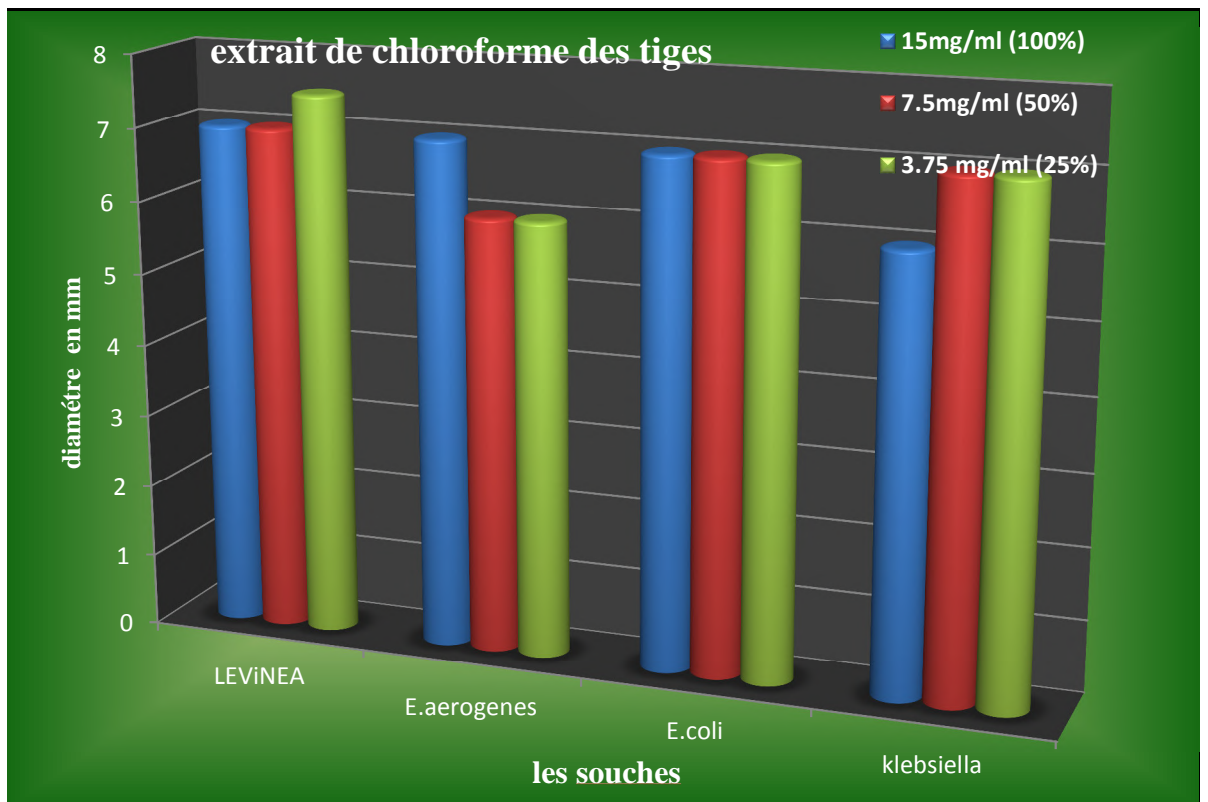
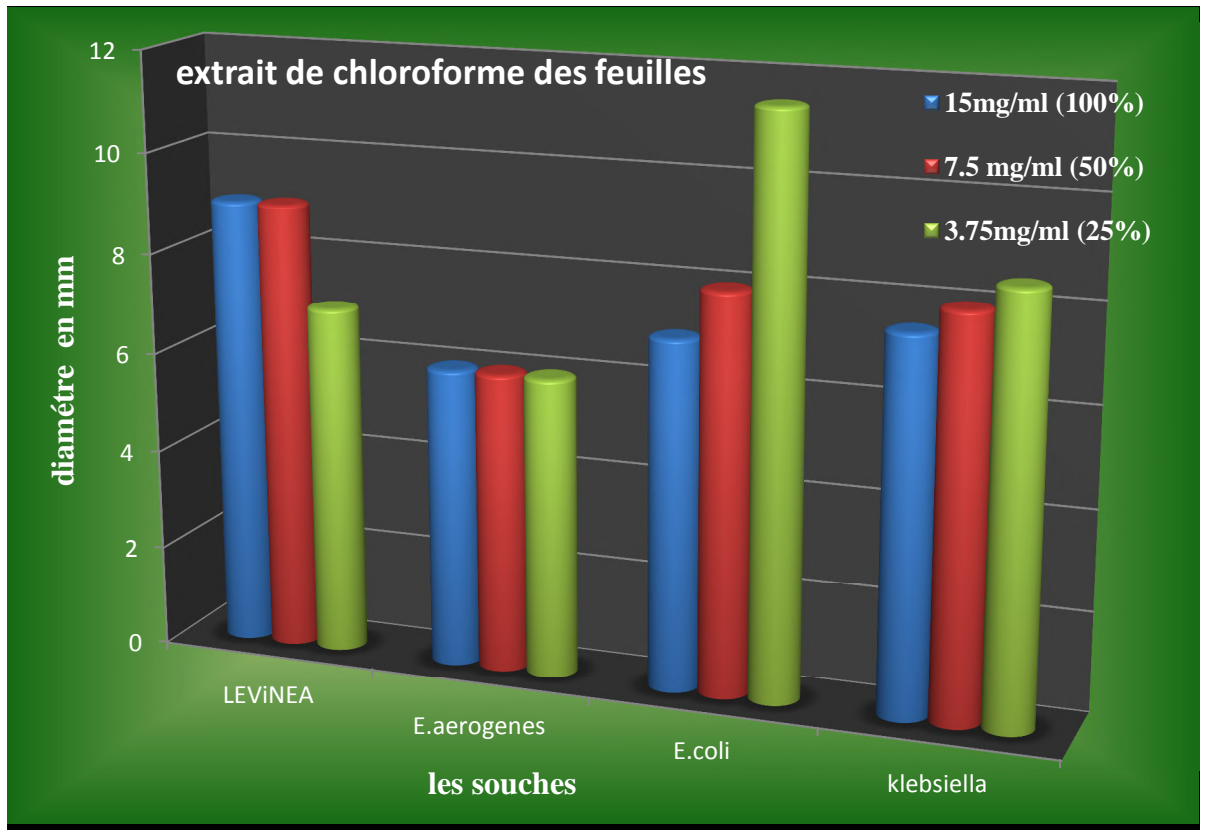
Tableau 11: Les résultats d'activité anti bactériennes des extraits des tiges

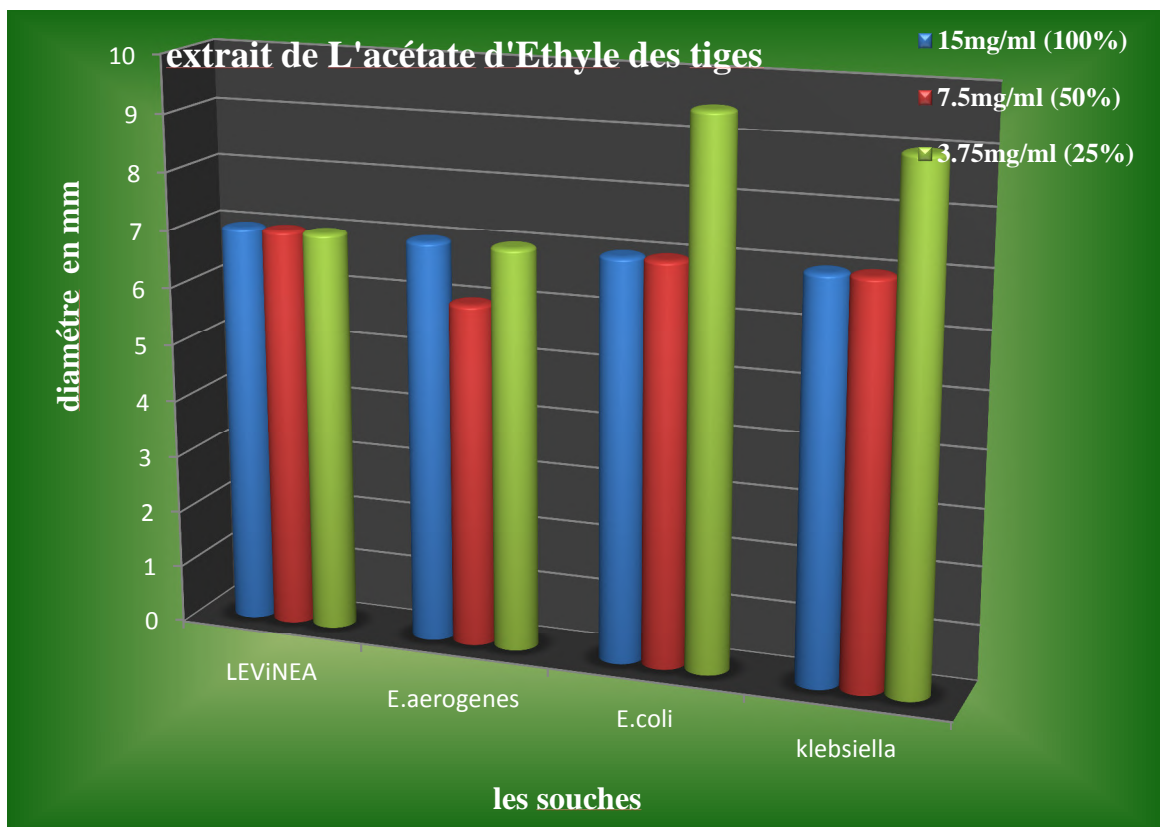
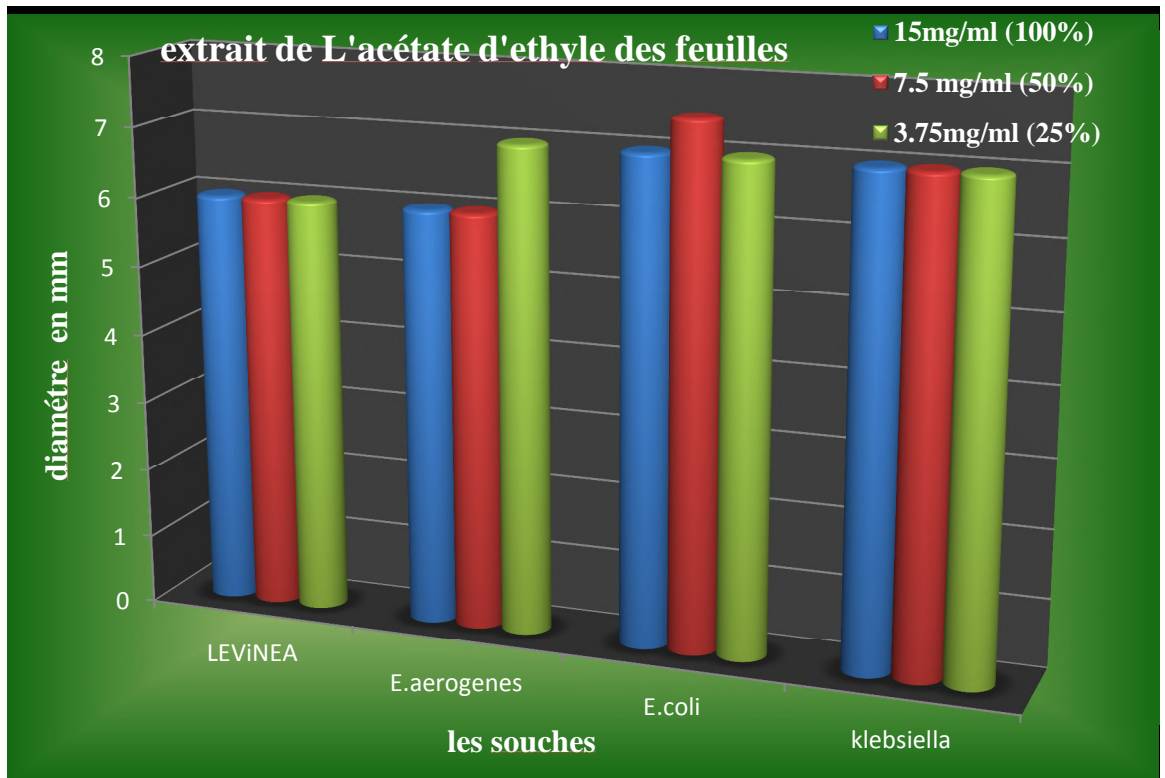
Souches	Concentration mg/ml	diamètre en mm pour les tiges	Extrait chloroformique des tiges	
<i>Levinea</i>	(100%) 15mg/ml	7mm (-)		
	(50%) 7.5mg/ml	7mm (-)		
	(25%) 3.75mg/ml	7,5mm(+)		
	<i>Levinea</i>	(100%) 15mg/ml	7mm (-)	Extrait acétate d'éthyle
		(50%) 7.5mg/ml	7mm (-)	
		(25%) 3.75mg/ml	7mm (-)	
		(100%) 15mg/ml	7mm (-)	
		(50%) 7.5mg/ml	7mm (-)	
		(25%) 3.75mg/ml	6 mm (-)	
<i>E. aerogenes</i> 09	(100%) 15mg/ml	7mm (-)	Extrait chloroformique	
	(50%) 7.5mg/ml	6 mm (-)		
	(25%) 3.75mg/ml	6 mm (-)		

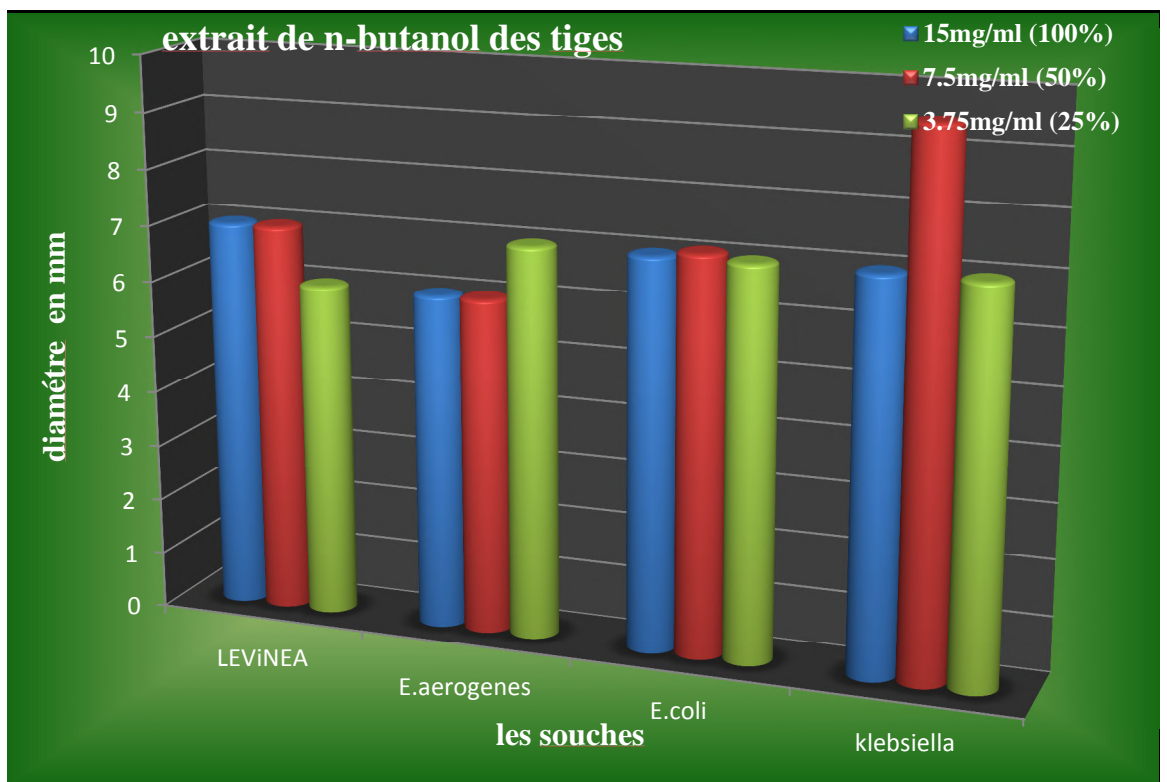
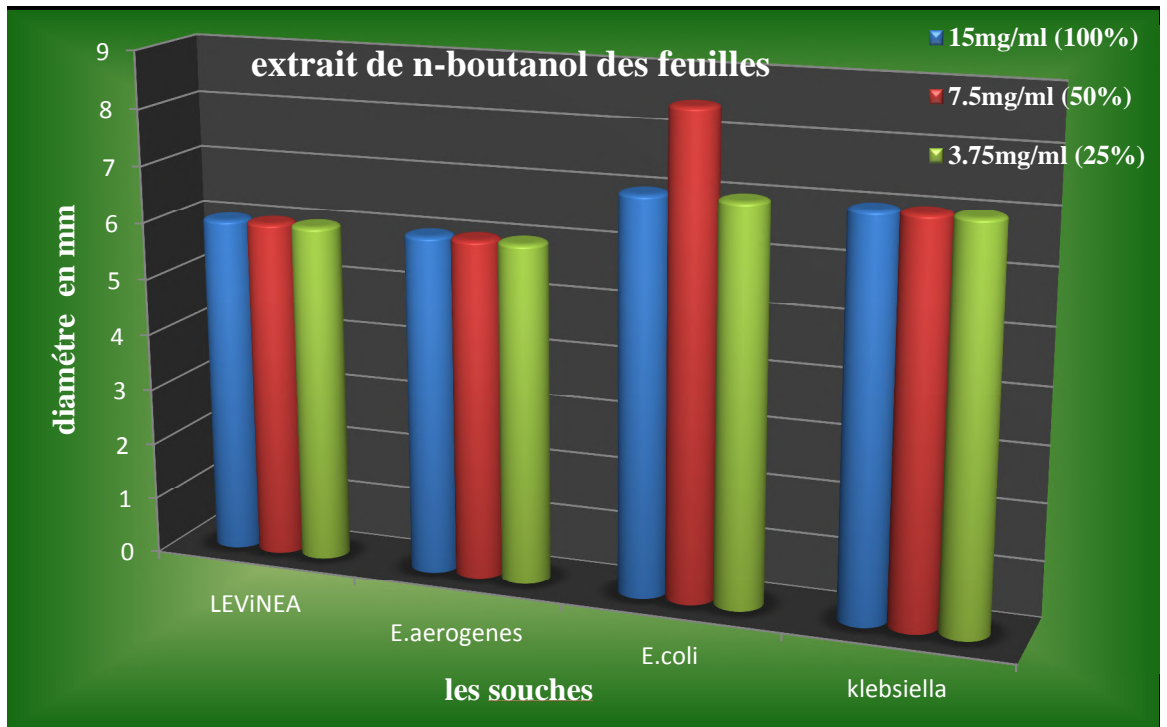
<i>E. aerogenes</i> 09	(100%) 15mg/ml	7mm(-)	Extrait acétate d'éthyle 
	(50%) 7.5mg/ml	6 mm (-)	
	(25%) 3.75mg/ml	7mm(-)	
	(100%) 15mg/ml	6 mm (-)	Extrait butanolique 
	(50%) 7.5mg/ml	6 mm (-)	
	(25%) 3.75mg/ml	7mm(-)	
<i>E. coli</i> 15	(100%) 15mg/ml	7mm(-)	Extrait chloroformique 
	(50%) 7.5mg/ml	7mm(-)	
	(25%) 3.75mg/ml	7mm(-)	

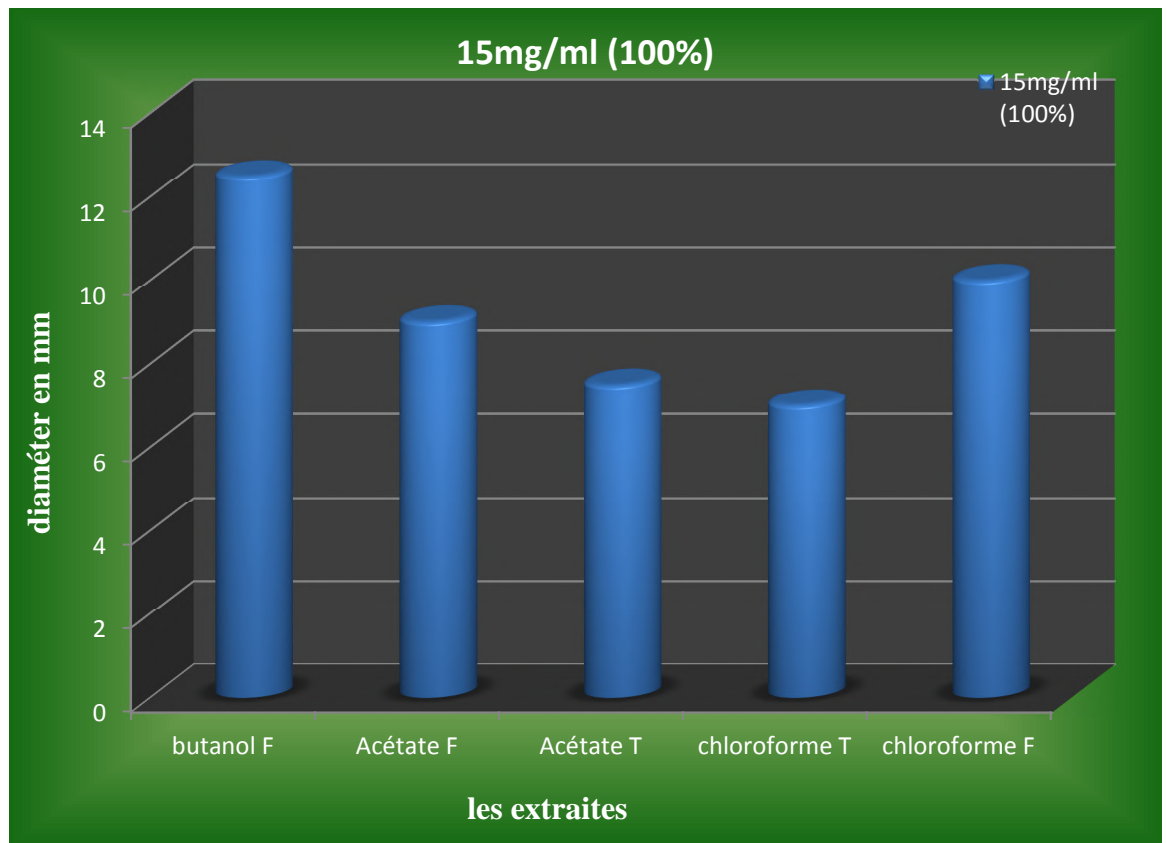
<p><i>E.coli</i></p> <p>15</p>	(100%) 15mg/ml	7 mm (-)	<p>Extrait acétate d'éthyle</p> 
	(50%) 7.5mg/ml	7 mm(-)	<p>Extrait boutanolique</p> 
	(25%) 3.75mg/ml	9.5 mm (+)	
	(100%) 15mg/ml	7 mm (-)	
	(50%) 7.5mg/ml	7.1mm(+)	<p>Extrait chloroformique</p> 
	(25%) 3.75mg/ml	7 mm (-)	
(100%) 15mg/ml	6mm (-)		
(50%) 7.5mg/ml	7 mm (-)		
(25%) 3.75mg/ml	7 mm (-)		

Les résultats d'activité antibactérienne résumée en l'histogramme suivant :









V-2-Discussions :

D'après les résultats illustrés dans les tableaux précédents, nous pouvons dire que :

- **Extrait chloroformique des feuilles** donne un *aucune activité antimicrobienne* (–) avec les bactéries *E. aerogenes* et *activité antimicrobienne modeste* (+ +) avec des bactéries *levinea* en zones d'inhibition 9 mm pour la concentration 15mg/ml et avec la souche *klebsiella* au zones d'inhibition 8,5 mm lorsque vous la concentration est 3.75mg /ml et une très grande inhibition à 11,5 mm pour la concentration 3.75mg/ml pour *Escherichia coli*.
- **Extrait chloroformique des tiges** donne une *activité antimicrobienne faible* (+) avec les souches bactérien utilises.
- **Extrait l'acétate d'éthyle des feuilles** donne une *activité antimicrobienne faible* (+) avec les souches bactériens utilises au zones d'inhibition 7mm à l'exception des résultats avec la bactérie *Escherichia coli* a été *activité antimicrobienne modeste* (+ +) en zones d'inhibition 9mm pour la concentration 15mg/ml.
- **Extrait l'acétate d'éthyle des tiges** donne une *activité antimicrobienne faible* (+) avec les deux souches *levinea* et *E. aerogenes* mais elle a donné une *activité antimicrobienne modeste* (+ +) avec le *Escherichia coli* en zones d'inhibition 9,5mm et avec *klebsiella* en zones d'inhibition 9mm dans une concentration de 3.75mg/ml.
- **Extrait boutanolique des feuilles** donne *activité antimicrobienne élevée* (+ + +) avec la souche *Escherichia coli* en zones d'inhibition 12,5mm pour la concentration 15mg/ml mais elle a donné une *activité antimicrobienne faible* (+) avec les autre souches.
- **Extrait boutanolique des tiges** donne une *activité antimicrobienne modeste* (+ +) avec la souche *Klebsiella* en zones d'inhibition 9,5mm pour la concentration 7.5mg/ml mais elle a donné une *activité antimicrobienne faible* (+) avec les autre souches.

Globalement, nous pouvons dire que nos extraits de plante étudiée ont une *activité antimicrobienne modeste (moyenne)*.

Conclusion

Conclusion générale

L'objectif de cette mémoire était de faire une étude chromatographique sur les extraits en générale et spécifiquement sur les extraits polaires d'*Atriplex Halimus* L. Cette plante appartient à la famille chénopodiacées.

L'étude bibliographique réalisée sur la plante a montré que la séparation des flavonoïdes de cette plante n'ont pas fait l'objet d'étude phytochimique auparavant. Cependant, nous notons que plusieurs études sont réalisées sur l'espèce mais elles sont concentrées sur la germination, la résistance de l'espèce à la salinité du sol, l'adaptation d'*A. halimus* L. au climat du zone aride et semi-aride, ...etc.

Nous avons séparés les feuilles et les tiges pour réaliser une extraction sur les deux parties. Cette extraction est suivie par une étude chromatographique sur couche mince et sur plaque préparative. Cette recherche nous a permis de connaître les solvants de migration pour les extraits mois polaires et nous a conduits à un premier isolement des constituants de l'extrait butanolique.

L'étude microbiologique en utilisant un test d'activités antibactériennes par différentes bactéries (*Levinea*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *Klebsiella*) nous a donné une activité moyenne dans la majorité des extraits obtenus.

En conclusion, ce travail consacré à l'étude phytochimique et microbiologique des tiges et feuilles *Atriplex halimus* L. constitue sans doute une contribution importante pour la famille chénopodiacées en général et l'espèce en particulier.

Références bibliographiques

- [1]- Keller-Didier, C., Roth, A., Godard, J., *Les plantes médicinales usage des plantes médicinales d'hier à aujourd'hui*. Floraine. (7). 2011.
- [2]- Carillon, E., *La phytothérapie face à l'évolution médicale*.2000. Ed : phyto. P :10-15.
- [3]- Fouché, GP. , Marquet, A., Hambuckers, A., *Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes*. Sart-Tilman-liège. 2000. P : 89-100.
- [4]-Bruneton, J., *Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales*. 3eme édition 1999.
- [5]-Mohammedi Z., *Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie*.Thèse de Doctorat en Biologie, université aboubakerbelkaid Tlemcen Algérie. 2013.
- [6] - Bouda, S., Haddioui, A., Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*. *Sciences & Nature*. 2011. P : 72-79.
- [7] - Rahmoune, C., Maâlem, S.andBennaceur, M., .Etude comparative de rendement en matière sèche et en matière azotée totale de trois espèces de plantes steppiques du genre *Atriplex*.*Ciheam*. 2004. P : 219-221.
- [8]- Abd El Raheim M., D., Saleh Ibrahim, A., Gamal A. E.H., S., Asmaa M., R., *Secondary metabolites and antifertility potential of Atriplex farinose Forssk.,Phytopharmacology*. 2012. 2(1) 16-25.
- [9] -Macheix , J-J.,*Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*.2005.
- [10] -Akroum, S.,*Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels*.Thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine.2011.P:14.
- [11]- Géraldine, I., *Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments des vins rouges, thèse de doctorat*. Université louis pasteur de Strasbourg. 2007
- [12]-Chebil L., *Acylation des flavonoïdes par les lipases de candida antarctica et de pseudomona scepacia: études cinétique, structurale et conformationnell*. Thèse de doctorat à l'institut national polytechnique de lorraine.2006.France
- [13]- Ozenda, P., *Flore et végétation du Sahara*. 3ème ed. Editions CNRS. Paris. 2004.
- [14]- Kelly E. *Heim Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships*.*J. of Nutritional Biochemistry*.2002. (13). P: 572–584
- [15]- Bajji, M., Kinet J. M., Lutts, S.,*Salt stress effects on roots and leaves of Atriplex halimus L. and their corresponding callus cultures*. *J. Plant Science*. 1998. (137). P: 131–142
- [16] - Ozenda, P., *Flore et végétation du Sahara*. 3ed. CNRS éditions.1991.

- [17] - Dupont, f., Guignard, j-l., *Botanique. Systématique moléculaire*. 14ème édition. Edition Masson. Paris. 2007. P : 286
- [18]- Giulia, D. C., Nicola, M., Angelo, A. l., and Francesco, C., *Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs*. 1999. mini review
- [19]-Shohaib, T., Shafique, M., Dhanya, N., Madhu, C.D., *Importance of flavonoids in therapeutics*. Journal for drugs and medicines. 2011.
- [20]-Harleen, K. S., Bimlesh, K., Sunil, P., Prashant, T., Manoj, S., Pardeep, S., *A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids*, 2011.1(1).P: 25-41
- [21]- Crozier, A., Michael, N., Clifford-Hiroshi, A. *Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. 2006.
- [22]- Chikhi. I., Allali, H., Dib, M. E.A., Medjdoub, H., Tabti. B. *Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of Atriplex halimus L. (Chenopodiaceae) in Streptozotocin-induced diabetic rats*. Asian Pac J Trop. Dis. 2014; 4(3). P: 181-184.
- [23]- محمد سعد عبد اللطيف, الفلافونيد للحويبة والصحة: المجلة العلمية اهرام 2011 .
- [24] -Subsamanian S., Stacey G. et Yu O., *Distinct crucial roles of flavonoids during legume nodulation*. Trends in plant science. 2007.12(7).P : 282-283.
- [25]-Cowan M. M., *Plant products as antimicrobial agents*. *Clinical microbiologie reviews*., 1999.12(4).P : 564-570
- [26] -Chikhi. I., *Composition chimique et activites biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et medicinales de l'ouest d'algerie*. Thèse de doctorat. Université Abou baker Belkaid Tilemcen. 2014. P :186.
- [27] - Sameena, B., *Terpenoids*. J., *Chemistry of natural products*. 2009. P: 1-21
- [28] - Bruneton, J., *Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales*. 4eme ed. 2009.
- [29]- Smara, O., *Etude ethnobotanique et chimique d'Euphorbiaguyoniana Boiss. et Reut.*, Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba, 2014. P : 170.
- [30] -Rozier, J., Bolnot, C.V., *Bases microbiologique de l'hygiène des aliment smaisson al fort*. 1985. Paris. P: 75-203
- [31]- Jorgensen, J.H., Ferrqro, M.J. *Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices*. Clin. Infect. Dis. 1998. (26). P: 973-980.
- [32] -Robert-dernmet, S., *Antibiotiques et antibiogrammes décairevigot, motrèal*. 1995. P : 322
- [33] -Avril, J. L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H., *Bacteriologie clinique*. 2000. 3ème ed. Ellipses p.p. 171-173

- [34] - Bornet, C., Davin-régli, A. and Bollet, C. *Enterobacter*. In *Précis de bactériologie clinique*. 2000. ed. Eska. P : 1175-1180
- [35] - Freney, J. *Enterobacteriaceae- Généralités*. In *Précis de Bactériologie Clinique*. Ed. ESKA. 2000. P: 1107-1113.
- [36] - Hibbert-Rogers, L., Heritage, J., Gascoyne-Binzi, D., Hawkey, P., Todd, N., Lewis, I. and Bailey, C. *Molecular epidemiology of ceftazidime resistant Enterobacteriaceae from patients on a paediatric oncology ward*. 1995. *J. Antimicrob. Chemother.* 36 (1). P: 65-82.
- [37] - Bollet, C., and De Micco, Ph., *Taxonomie bactérienne*. In J. Freney, F., Renaud, Hansen, W., and Bollet, C., (ed.), *Manuel de Bactériologie Clinique*, 2nd Ed. Elsevier. Paris. 1995. P : 27-58.
- [38] - Minor, L. L., Sansonetti, Ph., Richard, C., Grimont, F., Mollaret, H. H., Bercovier, H., and Alonso, J. M., *Enterobactéries*. In *Leon Le Minor. Bactériologie Médicale*. 2ème ed. Flammarion. 1990. P : 389-465.
- [39] - <http://www.medilexicon.com/medicaldictionary.php?s=Citrobacter+amalonaticus>
16/05/2015 à 2:11
- [40] - Euzéby J.P., *Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire*. 2004
- [41] - Sylvain, B., Francine, G. and Patrick, A. D. G., *The genus Klebsiella*. 2006. P: 196
- [42] - Ahoyoa, A.T., Baba-Moussaa, L., Anagob, A.E., Avogbea, P., Missihouna, T.D., Lokob, F., Prevost, G., Sannia, A., Dramane, K., *Incidence d'infections liées à Escherichia coli producteur de bêta lactamase à spectre élargi au Centre hospitalier départemental du Zou et Collines au Bénin*. *Médecine et maladies infectieuses*. 2007. (37) P: 746-752.
- [43] - Wagner, H. and Blatt, S., *Plant drug analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2eme Edition. 2001.
- [44] - Barros, L., Calhêha, R.C., Vaz, J.A., Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Estevinho, L.M., *Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts*. *European Food Research and Technology*. (225). 2007. P: 151-156.
- [45] - Richard, S., Steele-Moore, L., Goodwin, A.C., *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. ed. Goodwin Boca Raton. CRC Press. 2007. P: 77.

Résumé

Cette étude porte sur la valorisation d'une plante des zones arides et semi-arides appartient à la famille chénopodiacées. *L'Atriplex halimus L.* est une espèce utile, en médecine populaire.

Une investigation phytochimique est appliquée sur la majorité des extraits des feuilles et tiges de l'espèce étudiée. Une étude chromatographiques a été réalisée sur l'espèce. Il s'agit de la chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant plusieurs révélateurs chimiques, la chromatographie préparative sur feuilles d'aluminium. Cette étude est suivie par un étude microbiologique par un test d'activité antibactérien en utilisant différents bactéries.

Mots clé : *Atriplex halimus L.*, chromatographie, test d'activité antibactériens.

المخلص

هذه الدراسة تثنمن نبتة من المناطق الجافة وشبه الجافة والتي تنتمي الى العائلة الرمرامية *L'Atriplex halimus L.* الذي له أهمية بالغة في الطب الشعبي.

طبقت دراسة فيتوكيميائية على غالبية مستخلصات الأوراق والسيقان للنبات المدروس . وأجريت دراسة كروماتوغرافية على الجنس . خصوصا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) بإستعمال العديد من الكواشف الكيميائية , الكروماتوغرافيا التحضيرية على رقائق الالمنيوم . هذه الدراسة اتبعت بدراسة ميكروبيولوجية وذلك بإجراء اختبارات النشاط ضد البكتيريا باستعمال انواع مختلفة من البكتيريا .

الكلمات المفتاحية : القطف الملحي . الكروماتوغرافية , اختبارات النشاط ضد البكتيريا