

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



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Sciences de l'environnement

Par :MEDJLIDA Amina

Thème

**Activité biologique des extraits aqueux
d'*Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu.**

Soutenu publiquement le : 01/06/2016

Devant le jury :

Mr. BOURAS Nouredine	MCA	Univ. Ghardaïa	Président
M^{lle}. TELLI Alia	MAA	Univ. Ghardaïa	Encadreuse
Mr. KAMESSI Abdellah	MCA	Univ. Ghardaïa	Examineur
Mr. BELGHIT Said	MAA	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2015/2016



Dédicaces

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents pour leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Je dédie aussi cette modeste réalisation à :

Mes très chers frères Mohammed, Abderrahmane.

Mes très chères sœurs Dalal, Nourelhouda.

Mes chers oncles, tantes, cousins et cousine.

Et tout la famille MEDJLIDA et ABBABSA

A toute personne qui me connaisse et me considère comme une amie.

Aux personnes qui m'ont encouragé et motivé, qui n'ont cessé d'œuvré pour ma réussite et pour mon bonheur

Amina





Remerciements

Avant toutes choses, je remercie Dieu tout puissant, maître des cieux et de la terre, pour m'avoir donné la force et la patience d'accomplir ce travail. J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à M^{lle}.

TELLI Alia,


Maître assistante "A" à l'université pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordés m'ont permis de réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Mr BOURAS Noureddine, Maître de conférence à l'université de Ghardaïa d'avoir accepté de présider le jury. Je tiens également mes vifs remerciements à Mr KAMESSI Abdellah, Maître de conférence à l'université de Ghardaïa pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

J'exprime mes vifs remerciements encore à Mr BELGHIT Said, Maître assistant "A" à l'université de Ghardaïa pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Aux personnels des laboratoires universitaires de Ghardaïa pour leur aide. Je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous



Résumé

Ammodaucus leucotrichus est une plante médicinale appartenant à la famille des *Apiaceae*, cette espèce connue sous le nom de «Oum drayga», est très peu étudiée.

Pour cela, l'objectif principal de cette étude est de déterminer le pouvoir des extraits aqueux de cette espèce à piéger les radicaux libres, à réduire le fer ferrique Fe^{3+} et à inhiber la croissance de certaines souches microbiennes.

L'extraction des principes actifs est effectuée par les modes traditionnels de préparation de cette plante dans la pharmacopée traditionnelles qui sont : la décoction, l'infusion et la macération.

Les principes actifs dosés sont les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les acides phénols et les tanins condensés.

L'évaluation de l'activité antioxydante est faite par l'utilisation de trois tests qui sont : le test d'ABTS, le test au DPPH et la mesure du pouvoir réducteur FRAP.

L'activité antimicrobienne des différents extraits est évaluée par la technique de diffusion de disque sur les trois souches *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Micrococcus luteus*.

Mots clés: *Ammodaucus leucotrichus*, extraits aqueux, principes actifs, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Ammodaucus leucotrichus a medicinal plant belongs to the *Apiaceae* family. This species known as the «Oum drayga» is very little studied.

For this, the main objective of this study is to determine the power of the aqueous extracts of these species to set the free radicals, reduce ferric iron and to inhibit the growth of certain microbial strains.

The extraction of active ingredients is performed by traditional preparation methods of the plant in the traditional pharmacopoeia which are: the decoction, infusion and maceration.

The active ingredients dosed are total phenolic contents, flavonoids, phenolic acids and condensed tannins.

Evaluation of antioxidant activity is made by the use of three tests which are: Test ABTS, DPPH test and measurement of FRAP reducing power.

The antimicrobial sensitivity of different extracts was assessed by disk diffusion method on three bacterial strains *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Micrococcus luteus*.

Key word: *Ammodaucus leucotrichus*, aqueous extracts, active ingredients, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ملخص

Ammodaucus leucotrichus هي نبتة طبية تنتمي الى عائلة *Apiaceae* هذا النوع المعروف باسم «أم دريقه» و هو قليل الدراسة. لهذا فإن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد قدرة المستخلصات المائية على محاصرة الجذور الحرة، إرجاع الحديد و منع نمو بعض السلالات الميكروبية.

يتم استخراج المكونات النشطة بأساليب إعداد تقليدية من هذا النبات في الأدوية التقليدية وهي: مغلي، السكب والنقع. المكونات النشطة المقاسة هي: عديدات الفينول الكلية، الفلافونويدات الكلية، الأحماض الفينولية والتانات المكثفة. يتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق استخدام ثلاثة اختبارات التي هي اختبار ABTS، اختبار DPPH وقياس FRAP.

تم اختبار النشاط المضاد للجراثيم لمختلف المستخلصات المائية بإستعمال طريقة انتشار الأقراص على ثلاثة سلالات بكتيرية

Escherichia coli, Proteus mirabilis et Micrococcus luteus. :

كلمات مفتاحية : *Ammodaucus leucotrichus*، المستخلصات المائية، المكونات النشطة، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم.

Liste des abréviations

ABTS: 2, 2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid.

A.PH : les acides phénols

ATCC: American type culture collection

°C: température en degrés Celsius.

DPPH : 2, 2- diphenyl-1- picrylhydrazyl.

EAG/g : équivalent d'acide gallique par gramme.

EAC/g : équivalent d'acide caféique par gramme.

EAG/g : équivalent d'acide gallique par gramme.

EC/g : équivalent de catéchine par gramme.

ER/g : équivalent de rutine par gramme

EP : eau physiologie.

ET : écart type.

ER : équivalent en rutine.

FLV (: les flavonoïdes en.

FRAP (μ MET/g): Ferric Reducing Antioxidant Power.

g: gramme

$H_3P Mo_{12} O_{40}$: acide phosphore -tungstique

$H_3 P W_{12} O_{40}$: acide phosphore molybdique

h: heures.

M : moyenne

MH : Mueller-Hinton

min : minute.

mg : milligramme.

ml: millilitre

mM : millimole

NaOH : hydroxyde de sodium

nm : nanomètre

PPT: Les polyphénols totaux

R: Le rendement

T.C: les tanins condensés.

TPTZ : 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine.

μl : microlitre

μM: micromole

μMET/g : micromolaire équivalent de trolox par gramme.

% : pourcentage

Liste des figures

Figure 01: <i>Ammodaucus leucotrichus</i> Coss & Dur.	03
Figure 02 : Extraction, identification et activités biologiques des extraits aqueux de la plante <i>Ammoudaucus leucotrichus</i> .	06
Figure 03 : Résultats final de la phase d'analyse antimicrobienne.	11
Figure 04 : Résultats de rendement des différents extraits d' <i>A.leucotrichus</i> .	12
Figure 05 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits aqueux d' <i>A. leucotrichus</i> .	13
Figure 06 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits d' <i>A. leucotrichus</i> .	14
Figure 07 : Teneur des acides phénols dans les extraits d' <i>A.leucotrichus</i> .	15
Figure 08 : Teneur des tanins condensés dans les extraits d' <i>A.leucotrichus</i> .	16
Figure 09 : Activité anti-oxydante mesurée par ABTS dans les extraits d' <i>A. leucotrichus</i> .	17
Figure 10 : Activité anti-oxydante mesurée par DPPH dans les extraits d' <i>A. leucotrichus</i> .	18
Figure 11 : Activité anti-oxydante mesurée par FRAP dans les extraits d' <i>A. leucotrichus</i> .	19
Figure 12 : Activité antimicrobienne de l'extrait de macération d' <i>A.leucotrichus</i> sur la souche <i>Proteus mirabilis</i> .	22
Figure 13 : Activité antimicrobienne de l'extrait de décoction d' <i>A.leucotrichus</i> sur la souche <i>Proteus mirabilis</i> .	23

Liste des tableaux

Tableau 01 : Systématique d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	04
Tableau 02 : Souches bactériennes utilisées pour l'expérimentation.	05
Tableau 03 : Activité antimicrobienne des extraits aqueux d' <i>A.leucotrichus</i> .	21

Table des matières

Introduction	01
Chapitre I : Matériel et méthodes	03
1. Matériel biologique	03
1.1. Matériel végétal	03
1.1.1. Description botanique	03
1.1.2. Systématique et nomenclature	04
1.2. Souches bactériennes	04
2. Méthodes	05
2.1. Extraction	05
2.1.1. Décoction	05
2.2.2. Infusion	05
2.2.3. Macération	05
2.2. Déterminations de rendement	06
2.3. Dosage de certains principes actifs	07
2.3.1. Dosage des polyphénols totaux	07
2.3.2. Dosage des flavonoïdes	07
2.3.3. Dosage des acides phénols	08
2.3.4. Dosage des tanins condensés	08
2.4. Détermination des activités biologiques	08
2.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante	08
2.4.1.1. Test d'ABTS [acide 2,2' azinobis (3-éthyl- benzothiazoline-6-sulfonique)]	08
2.4.1.2. Test de DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)	09
2.4.1.3. Test de FRAP (pouvoir réducteur de fer ferrique)	09
2.4.2. Evaluation des activités antimicrobiennes	09
2.5. Analyse statistique	11
Chapitre II: Résultats et discussion	12
1. Rendement d'extraction	12
2. Quantification des composés phénoliques	12

2.1. Teneur en polyphénols totaux	12
2.2 Teneur en flavonoïdes	14
2.3. Teneur en acides phénols	14
2.4. Dosage des tanins condensés	15
3. Activité anti-oxydante	16
3.1. Test d'ABTS	16
3.2. Test au DPPH	17
3.3. Test de FRAP	18
4. Activité antimicrobienne	19
Conclusion	25
Références bibliographiques	27
Annexes	

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a toujours utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires, elles constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques (**JACCOT et CAMPILLO, 2003**).

Les médicaments à base de plantes, élément essentiel des soins de santé partout dans le monde depuis les premiers jours de l'espèce humaine, leurs substances naturelles sont encore largement, utilisées et ont une importance considérable dans le commerce international, dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie (**ZHANG, 1998 ; BAHORUN, 1997 ; AYACHI, 2014**).

La phytothérapie connaît un déclin parallèlement au développement de la chimie moléculaire entre la fin du XIX^{ème} siècle et le XX^{ème} siècle. Mais elle voit un regain d'intérêt depuis les années 1970 grâce à un besoin de retour aux thérapeutiques dites « naturelles » (**FILLIAT., 2012**) car la maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale (**BENBRINIS, 2011**).

Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, etc. qui possèdent des activités antioxydants et antimicrobiennes (**BENBRINIS, 2011**), et les produits naturels représentent toujours une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques, car ils représentent des structures privilégiées choisies par les mécanismes d'évolution sur une période de millions d'années (**BOLDI, 2004 ; NEWMAN, CRAGG, 2012**). De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques (**BENBRINIS, 2011**).

Le Sahara est le plus grand le plus extrême parmi les déserts du monde, c'est à dire celui dans lequel conditions désertique atteignent leur plus grand âpreté. Malgré ces conditions

désertiques très rudes, il existe un couvert floristique caractéristique bien adapté aux contraintes abiotiques de cet écosystème. Ces conditions extrêmes font que le maigre couvert végétal qui subsiste, développe des stratégies d'adaptation, lui permettant d'exploiter au maximum les moindres conditions climatiques favorables à sa prolifération. (CHEHMA, 2005).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe, la hamada et les oasis sahariennes. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. (DURAFFOURD *et al.*, 1997).

Plusieurs espèces utilisées par la population locale soit pour l'alimentation, soit pour le traitement des problèmes de santé, sont peu ou pas étudiées. Pour cela, l'objectif de cette étude vise à évaluer les activités biologiques (anti-oxydante et antimicrobienne) des extraits aqueux d'une espèce endémique de la famille des *Apiaceae* qui est *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu., qui est largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour le traitement des troubles fonctionnels digestifs, certaines infections surtout génitale et le diabète.

Ce travail comporte deux chapitres précédés par une introduction. Le premier chapitre expose les démarches expérimentales ; il comporte le matériel utilisé (la plante) et les méthodes et protocoles d'analyse que nous avons été menés à adopter pour mener à bien l'ensemble de cette étude. Le deuxième chapitre est consacré aux résultats expérimentaux et leurs discussions. Le document est clôturé par une conclusion générale sur les différents travaux réalisés et les perspectives des actions à mener.

Chapitre I

Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

1.1. Matériel végétal

La plante qui a fait l'objet de ce travail, *Ammodaucus leucotrichus* Coss & Dur, a été récoltée dans la région de Metlili durant le mois de mars 2015. L'identification botanique est faite en utilisant : *Flore et végétation du Sahara* (OZENDA, 2004). Les parties aériennes de la plante ont été séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après le séchage, le matériel végétal est broyé et conservé dans des flacons en verre bien fermés.

Cette espèce est utilisée dans les pays d'Afrique du Nord comme condiment ou d'épices et dans la médecine traditionnelle pour le froid, carminatif, diurétique et stimulant digestif en particulier chez les enfants. La plante est utilisée aussi, sous forme de décoction de fruits, pour le traitement de diabète (ADAMS, 1995).

1.1.1. Description botanique

Ammodaucus leucotrichus Coss & Dur est une plante annuelle glabre; fruit très velus à côtes couvertes de longs poils blancs et soyeux, jaune-roux à la base. Les tiges sont dressées, rameuses, finement striées. Feuilles très divisées, à lanières étroites, un peu charnues. Inflorescence sous forme d'ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées, petites, longs de 8-10 mm. Cette plante est très appréciée et ramassée, ce qui tend à la raréfier. C'est une plante à très forte odeur d'anis. (OZENDA, 1997).



Figure 01 : *Ammodaucus leucotrichus* Coss & Dur. (Original)

1.1.2. Systématique et nomenclature

D'après, QUEZEL et SANTA (1963), la plante *Ammodaucus leucotrichus* est classée dans le tableau ci dessous.

Tableau 01 : Systématique d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Règne:	<i>plantae</i>
Embranchement:	<i>Manoliophyta</i>
Sous embranchement:	<i>Manoliophytina</i>
Classe:	<i>Rosopsida</i>
Sous-classe :	Cornidae
Ordre:	<i>Araliales</i>
Sous-ordre:	<i>Aralainae</i>
Famille:	<i>Apiaceae</i>
Genre:	<i>Ammodaucus</i>
Espèce:	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> Coss & Dur.
Nom français:	Cumin velu
Nom anglais :	Hairy cumin
Nom vernaculaire:	El Kamoun essôfi, Oum drayga (VELASCO-NEGUERUEL et al., 2006)

1.2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes sur lesquelles on a testé l'activité antimicrobienne des extraits aqueux par décoction, infusion et macération de la plante *Ammodaucus leucotrichus*, ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène et leur

résistance naturelle. Il s'agit d'une souche de *Proteus mirabilis* (bacille à Gram-), *Escherichia coli* (bacille à Gram-) et *Micrococcus luteus* (cocci à Gram+). Ces souches proviennent du laboratoire de Microbiologie de l'université de Ghardaïa (tableau 01).

Tableau 02 : Les souches bactériennes utilisées pour l'expérimentation.

Nom scientifique des souches	Référence
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC
<i>Micrococcus Luteus</i>	ATCC

2. Méthodes

2.1. Extraction

L'extraction est effectuée selon les modes traditionnels de préparation qui sont : la décoction, l'infusion et la macération.

2.1.1. Décoction

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs par dissolution de la plante dans l'eau pendant 5 à 15 minutes, puis à filtrer le liquide obtenu (le décocté). Cette technique est adaptée aux parties dures et compactes (bois, écorces, tiges, racines). (AZZOUZ, 2006)

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée à un rapport de (1/20 : p/v) puis bouillit à 98 ± 2 °C pendant 5 min. Le mélange est laissé reposer 15 min ensuite filtré. (TELLI, 2009)

2.1.2. Infusion

Méthode de préparation de tisane consistant à verser de l'eau bouillante sur les plantes ; après 5 à 10 minutes dans un récipient couvert, l'ensemble est filtré pour donner l'infusée. L'infusion est adaptée aux parties des plantes délicates : feuilles, fleurs, sommités fleuries. (AZZOUZ, 2006).

Le matériel végétal est mis en contact avec de l'eau distillée bouillante à un rapport de (1/20 : p/v). Le mélange est bien agité et reposé 15 min ensuite filtré. **(TELLI, 2009).**

2.1.3. Macération

Solution obtenue en traitement pendant un temps plus ou moins long, une plante par l'eau froide pour en obtenir les principes solubles (selon les cas, de quelques heures à plusieurs jours par fois plusieurs semaines). **(VALNET, 1983).** L'intérêt de la macération est généralement la conservation des principes actifs durant le procédé. **(KALLA, 2012).**

Le matériel végétal est trempé dans de l'eau distillée à un rapport de (1/20 : p/v). Le mélange est laissé macérer pendant 24 heures à la température ambiante, puis filtré. **(TELLI, 2009).**

Les filtrats obtenus ont été concentrés par le rotavapor (Heidolph N°:560-00000-00-0) à 55°C pendant 2 heures. Les extraits sont conservés à température de +4°C jusqu'à leur utilisation.

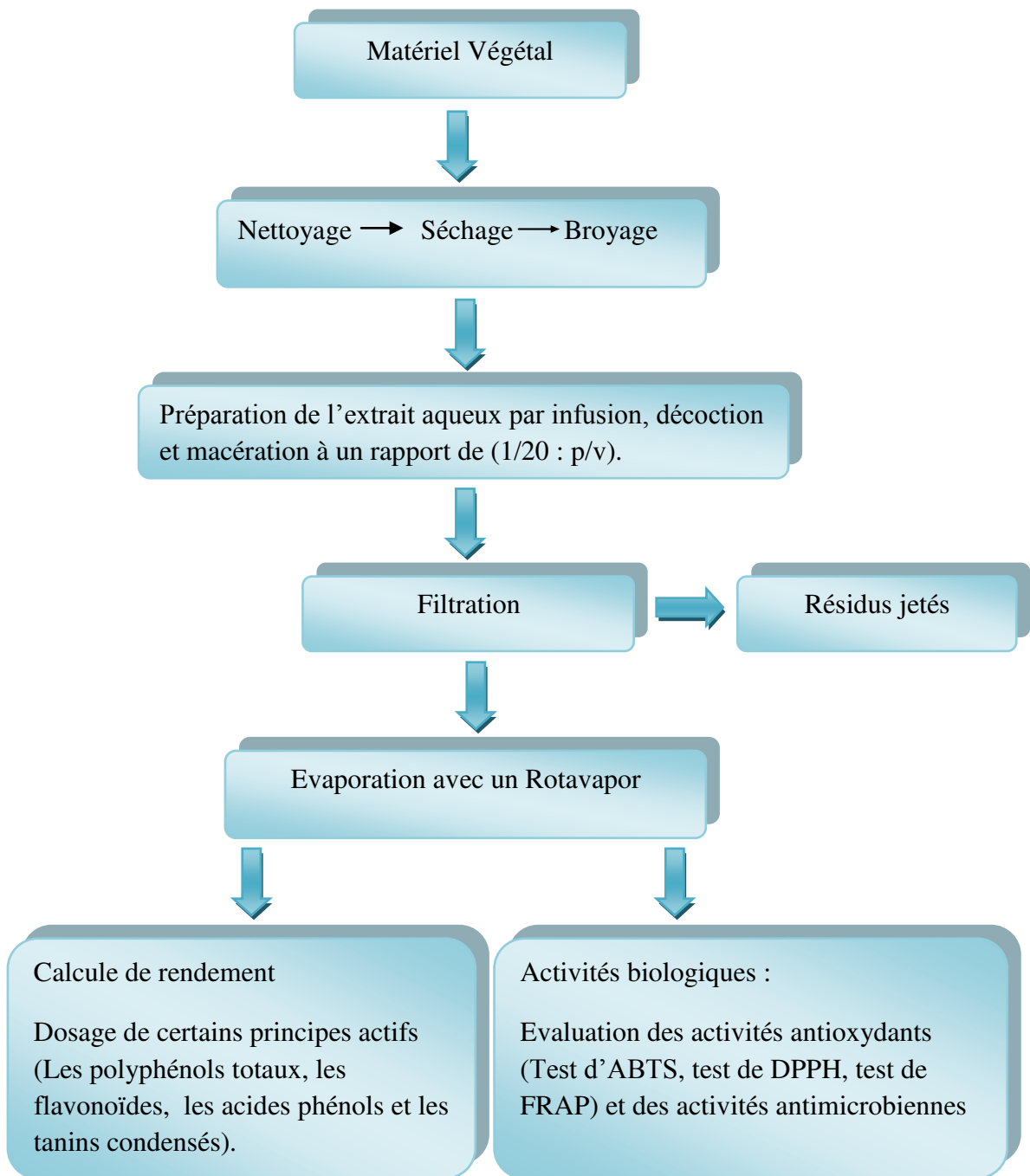


Figure 02 : Extraction, identification et activités biologiques des extraits aqueux de la plante *Ammoudaucus leucotrichus* (**Original**).

2.2. Déterminations de rendement

Le rendement de l'extraction est déterminé après évaporation de l'eau à $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures à l'étuve (TRADE RAYPA : 53485), il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du matériel végétal soumise à l'extraction. Ce rendement est calculé via l'équation:

$$R\% = (Me/Mv) \times 100$$

R%: Rendement en %.

Me: Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

Mv: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (**Harborne, 1998**)

2.3. Dosage de certains principes actifs

Les composés phénoliques comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité anti-oxydante des plantes (**LI et al., 2007**). Ces composés possèdent aussi diverses activités biologiques telles que les activités antibactérienne, anti-inflammatoire, antivirale, antiallergique, antithrombotique et vasodilatatrice qui peuvent être reliées à leur activité anti-oxydante (**GULCIN et al., 2010**). C'est la raison pour laquelle, les dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des acides phénols et des tannins de la plante *Ammoudaucus leucotrichus* a été effectué dans cette étude.

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 (**SINGLETON et ROSSI, 1965 ; BOIZOT et CHARPENTIER, 2006**). Son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origine la plus diverse. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène (**RIBEREAU-GAYON, 1968**). La coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux. La mesure de l'absorbance est effectuée à 765 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315) après une heure de repos à l'obscurité. Une courbe d'étalonnage est effectuée en prenant l'acide gallique comme référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique pour 1 g de poids sec d'*Ammoudaucus leucotrichus* (mg EAG/g) (**TELLI, 2009**).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux sont déterminés selon le test colorimétrique de **KIM, JEONG et LEE (2003)** avec quelques modifications. L'absorbance de développement de la couleur rose est déterminée à 510 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315). La préparation de la courbe d'étalonnage est faite avec la rutine et les résultats sont exprimés en mg équivalent en rutine par 1 g du poids sec d'échantillon (mg ER/g) (**TELLI, 2009**).

2.3.3. Dosage des acides phénols

L'estimation du taux des acides phénols est effectuée selon la méthode d'Arnou (**SZAUFER-HAJDRYCH, 2004**). Un volume de 1 ml d'échantillon est mélangé avec 5 ml de l'eau distillée, puis 1 ml HCl (0,5 M), 1 ml de réactif D'ARNOW et 1 ml de NaOH (1 M) sont additionnés, en suite le volume est accompli à 10 ml par l'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 490 nm (JENWAY 6315). La teneur en acides phénols est exprimée en mg en équivalent d'acide caféique (EAC) par gramme du poids sec.

2.3.4. Dosage des tanins condensés

La teneur en tannins condensés est effectuée selon la méthode décrite par **SUN et al. (1998)**. A 0,2 ml d'extrait, 1 ml de réactif de vanilline 1% fraîchement préparé est additionné. Après incubation pendant 20 min à 30 °C, l'absorbance est mesurée à 510 nm (JENWAY 6315). Les tannins condensés sont calculés en mg équivalent de catéchine par gramme du poids sec.

2.4. Détermination des activités biologiques

2.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

2.4.1.1. Test d'ABTS [acide 2,2' azinobis (3-éthyl-benzothiazoline-6-sulfonique)]

L'activité anti-oxydante a été mesurée en utilisant une méthode améliorée d'ABTS comme décrit par **CAI et al. (2004)**. La solution de radical cation (ABTS^{•+}) est préparée par la réaction d'ABTS (7 mM) et persulfate de potassium (2,45 mM) pendant 16 heures en obscurité et à 23 °C. La solution d'ABTS^{•+} obtenue est diluée

avec de l'éthanol (80%) afin d'obtenir une absorbance de $0,700 \pm 0,02$ à 734 nm. A 3,9 ml de la solution d'ABTS⁺⁺ ($0,700 \pm 0,02$) est additionné 0,1 ml d'échantillon testé et mélangés vigoureusement. Le mélange réactionnel est laissé reposer à 23 °C pendant 6 min et l'absorbance à 734 nm est immédiatement enregistrée. Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant le Trolox comme standard à différentes concentrations (50 à 500 µM). Les résultats sont exprimés en µM en équivalent de Trolox par g du poids sec.

2.4.1.2. Test de DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le test de DPPH est fait selon la méthode de **BRAND-WILLIAMS et al. (1995)** avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par dissolution de 25 mg de DPPH avec 100 ml de méthanol (80%). La solution utilisée est diluée par le méthanol afin d'obtenir une absorbance de $1,700 \pm 0,02$ à 515 nm. Les extraits d'*Ammoudaucus leucotrichus* (100 µl) sont réagis avec 3900 µl de la solution de DPPH pendant 30 min à l'obscurité, puis l'absorbance de mélange est lu à 515 nm. Le Trolox est utilisé comme standard pour la préparation de la courbe d'étalonnage (50 à 500 µM). Les résultats sont exprimés en µM ET/g du poids sec.

2.4.1.3. Test de FRAP (pouvoir réducteur de fer ferrique)

Le test de FRAP est fait selon la méthode de **BENZIE et STRAIN (1996)** avec des petites modifications. La solution de FRAP est fraîchement préparée par mélange de 10 ml de 300 mM de tampon acétate (pH 3,6), 1 ml d'une solution de 10 mM TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) et 1 ml d'une solution de FeCl₃.6H₂O et après chauffé à 37 °C avant l'utilisation. 150 µl des extraits ont été réagis avec 2850 µl de la solution de FRAP pendant 30 min à l'obscurité. La lecture de produit coloré (le complexe tripyridyltriazine ferreux) a été effectuée à 593 nm. La courbe d'étalonnage de Trolox est linéaire entre 50 et 800 µM. Les résultats ont été exprimés en µM équivalent de Trolox ET/g du poids sec de matériel végétal.

2.4.2. Evaluation des activités antimicrobiennes

Nous avons étudiés le pouvoir antimicrobien des extraits aqueux d'*Ammoudaucus leucotrichus* (décoction, macération et infusion) par la méthode de

diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton pour les bactéries *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Micrococcus luteus*.

➤ Préparation du milieu de culture :

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé par 36 g de gélose MH dans un litre d'eau distillée à pH de 7.3 avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 min à 121°C.

➤ Préparation des dilutions d'extraits d'*Amoudaucus leucotrichus* :

On obtient la solution mère de l'extrait aqueux d'*A. leucotrichus* par infusion, décoction et par macération à partir de laquelle, on procédera à des dilutions successives allant de 100%, 75%, 50%, 25% jusqu'à 10% et pour le tube témoin 0%, on ajoute l'eau distillée au lieu des extraits.

➤ Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure des bactéries on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées de chacune des souches bactériennes à tester. Ensuite, on décharge l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne. (MAKHLOUFI, 2007)

➤ Ensemencement :

On fait fondre les milieux MH dans un bain-marie (JISICO 1004-04) à 95°C, après coulées dans des boîtes de Pétri (devant le bec bunsen). (ZOUBEIDI, 2004)

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter (LAMAMRA, 2010).

➤ Application des disques :

Des disques de papier filtres stériles Whatmann de 6 mm de diamètre sont imprégnés de différentes solutions des extraits avec trois disques pour chaque concentration.

➤ L'incubation :

Les boîtes sont incubées pendant 18 à 24 heures dans une étuve à 37°C.

➤ Lecture :

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm), et en fonction du diamètre d'inhibition la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

Non sensible ou résistante : diamètre < 8mm.

Sensible : diamètre compris entre 9 à 14 mm.

Très sensible : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

Extrêmement sensible : diamètre > 20 mm

(PONCE, 2003).

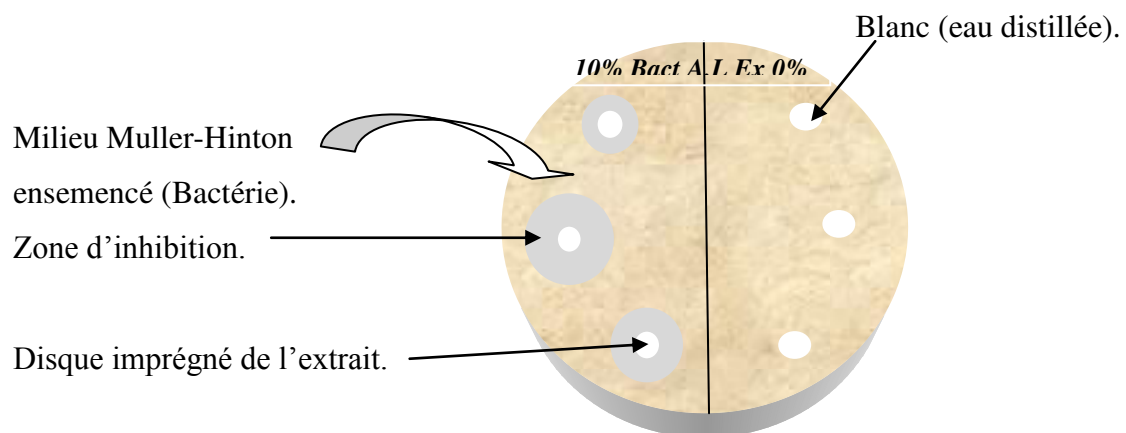


Figure 03 : Résultats final de la phase d'analyse antimicrobienne (**Original**).

2.5. Analyse statistique

Toutes les mesures expérimentales ont été effectuées en triple et sont exprimées en tant que moyenne d'écart type \pm de trois analyses (moyen (SE) \pm d'écart type). L'analyse statistique a été exécutée en utilisant l'analyse de la variance à sens unique (ANOVA) et la valeur $p < 0.05$ est considérée significative. En utilisant le logiciel de Microsoft Office Excel 2007.

Chapitre II

Résultats et discussion

Chapitre II: Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Les résultats de rendement d'extraction des différents extraits aqueux d'*A. leucotrichus* sont présentés dans la figure 04.

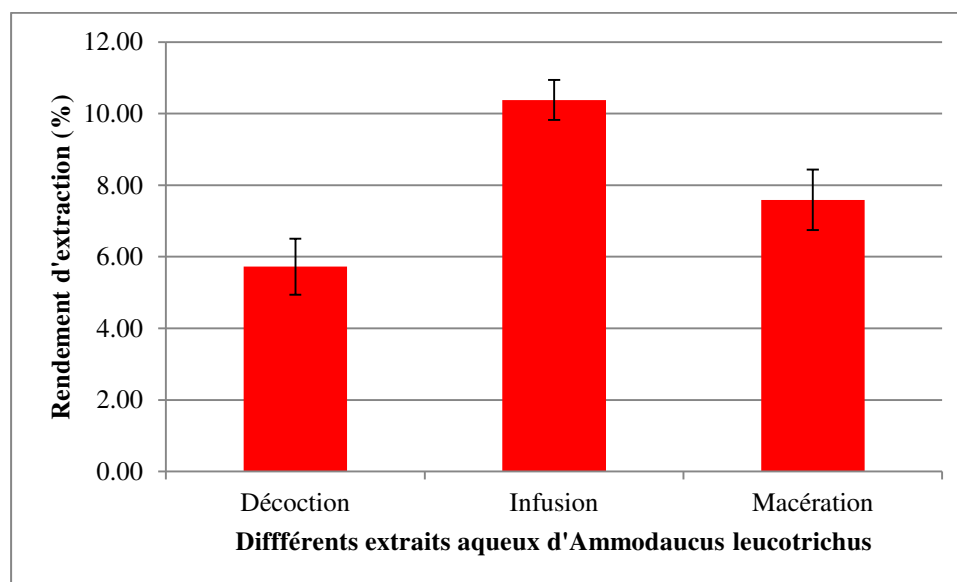


Figure 04 : Résultats de rendement des différents extraits d'*A. leucotrichus*.

Nous constatons que l'infusion donne la valeur la plus élevée qui est $10,38 \pm 0,56$ %, suivi par la macération avec un taux de $7,59 \pm 0,85$ %, alors que la décoction a le rendement le plus faible ($5,72 \pm 0,79$ %).

Il a été démontré que pour l'extraction à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante (MAJHENIC *et al.*, 2007). De plus, la méthode d'extraction à température ambiante permet d'épuiser l'extrait de la macération en composés extraits et la prévention de leur altération ou modification probable des constituants chimiques des plantes sous l'action prolongée de la chaleur dans la décoction (BENBRINIS, 2011).

2. Quantification des composés phénoliques

La détermination des teneurs des principes actifs dans les extraits aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* a été faite par des méthodes colorimétriques.

2.1. Teneur en polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La figure 05 présente les résultats de la teneur en polyphénols totaux des différentes préparations aqueuse d'*A. leucotrichus*.

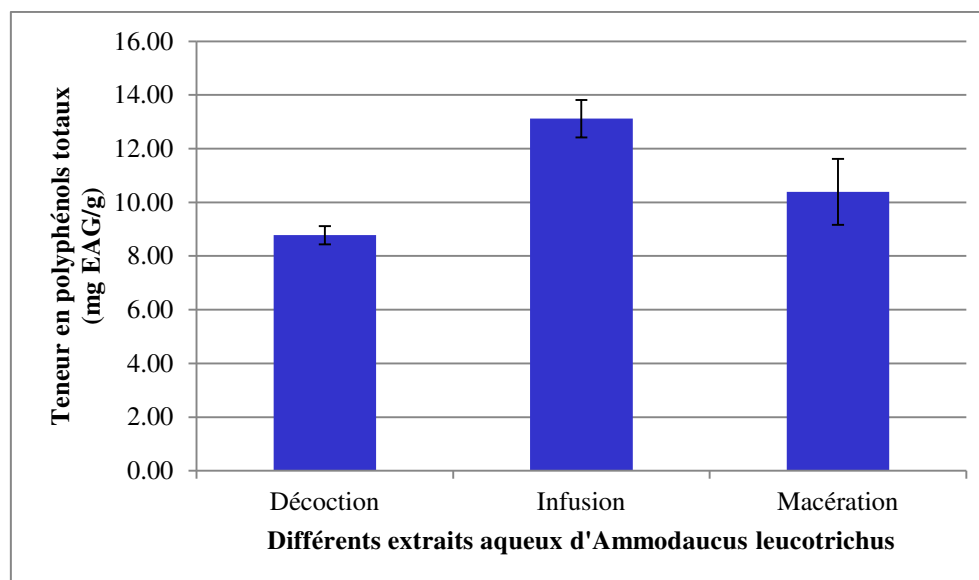


Figure 05 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits aqueux d'*A. leucotrichus*.

Il est à noter que l'infusion d'*A. leucotrichus* a enregistré une forte teneur en polyphénols totaux qui est de l'ordre de $13,12 \pm 0,69$ mg EAG/g en comparaison avec les deux autres préparations. La préparation obtenue avec décoction présente la teneur en polyphénols la plus faible qui est $8,78 \pm 0,34$ mg EAG/g.

Il paraît clairement que l'eau chaude utilisé pour l'infusion est la préparation qui permet d'avoir une teneur en poly-phénols totaux plus élevé ce qui peut être expliqué par la lyse des cellules dans l'eau chaude et la libération d'un maximum des composés phénoliques (GOMEZ-CARAVACA et al., 2006; VUORELA, 2005). Aussi, La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également peut réagir encore avec les acides aminés aromatiques des protéines (surtout avec le tryptophane), les glucides réducteurs comme le glucose et le fructose et la vitamine C (problèmes d'interférences), donnant un taux phénolique apparent élevé (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006 ; GOMEZ-CARAVACA et al., 2006; TAWAHA et al., 2007).

2.2. Teneur en flavonoïdes

Les concentrations des flavonoïdes dans les différents extraits d'*A. leucotrichus*, représentée par la Figure 06, a été déterminée en utilisant la méthode spectrophotométrique avec du chlorure d'aluminium.

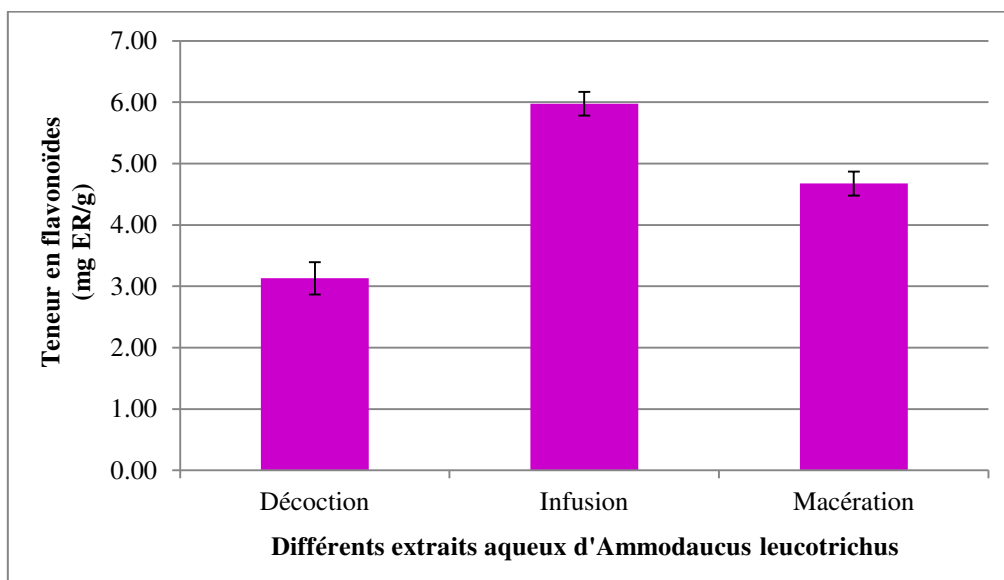


Figure 06 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits d'*A. leucotrichus*.

Les résultats, présentés dans la figure 06, ont montré que la concentration la plus importante des flavonoïdes est enregistrée pour l'infusion qui est $5,98 \pm 0,19$ mg ER/g, suivi de la macération ($4,67 \pm 0,19$ mg ER/g), alors que le taux faible des flavonoïdes est obtenu avec la décoction ($3,13 \pm 0,26$ mg ER/g).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante est liée à la solubilité. Cette solubilité dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (MOHAMMEDI and ATIK, 2011).

2.3. Teneur en acides phénols

La méthode d'Arnou a été utilisée pour quantifier les acides phénols dans les extraits. La teneur des acides phénols dans chaque extrait d'*A. leucotrichus* est représentée dans la figure 07.

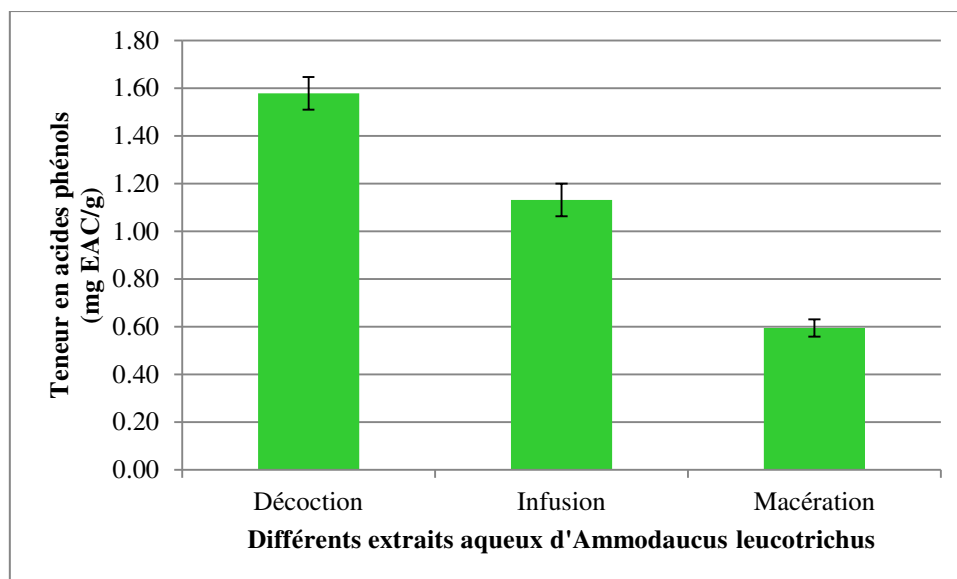


Figure 07 : Teneur des acides phénols dans les extraits d'*A. leucotrichus*.

D'après les résultats de figure ci-dessus, la plus grande quantité des acides phénols a été trouvée dans la décoction ($1,58\pm 0,07$ mg EAC/g) suivi par l'infusion ($1,13\pm 0,07$ mg EAC/g) et la macération ($0,59\pm 0,04$ mg EAC/g).

La solubilité des acides phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant sur l'extraction. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables de principes actifs qui ne délivrent que sous l'action prolongée de la chaleur (la décoction) surtout pour les parties dures et compactés (bois, écorces, tiges et racines). (GARICIA-SALAS *et al.*, 2010; KOFFI *et al.*, 2010)

2.4. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été réalisée par la méthode de la vanilline. La figure 08 présente la teneur en tanins condensés dans chaque extrait aqueux d'*A. leucotrichus*.

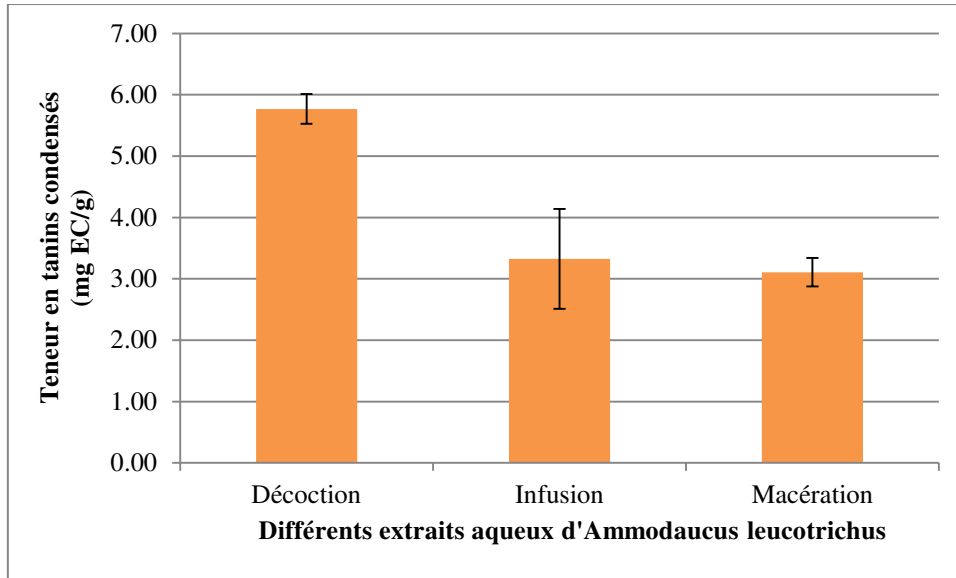


Figure 08 : Teneur des tanins condensés dans les extraits d'*A. leucotrichus*.

Les résultats obtenus (fig. 08) montrent que la décoction présente la teneur la plus élevée en tanins condensés à moyenne de $5,77 \pm 0,24$ mgEC/g par rapport aux autres extraits.

L'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires (CHAVAN *et al.*, 2001). L'augmentation de la température favorise d'une part la diffusion et la solubilité des substances extraites, d'autre part elle détruit certaines substances fragiles (JOKIC *et al.*, 2010). Cette augmentation des teneurs en tanins condensés dans les décoctés peut être expliquée par la destruction par la chaleur des poly-phénols oxydases (PPO) qui baissent la teneur en poly-phénols ; ainsi, la rupture de liaisons entre les poly-phénols et d'autres substances (protéines, polysaccharides...) menant à l'accessibilité à ces principes actifs peut expliquer de sa part cette abondance (LUTZ *et al.*, 2011).

3. Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante a été évaluée spectrophotométriquement par trois méthodes différentes : le test au DPPH, le test d'ABTS et la mesure du pouvoir réducteur FRAP. Les résultats sont exprimés en μM en équivalent de Trolox par g du poids sec.

3.1. Test d'ABTS

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par la technique de décoloration du radical cation ABTS. Les résultats ont été représentés dans la figure 09.

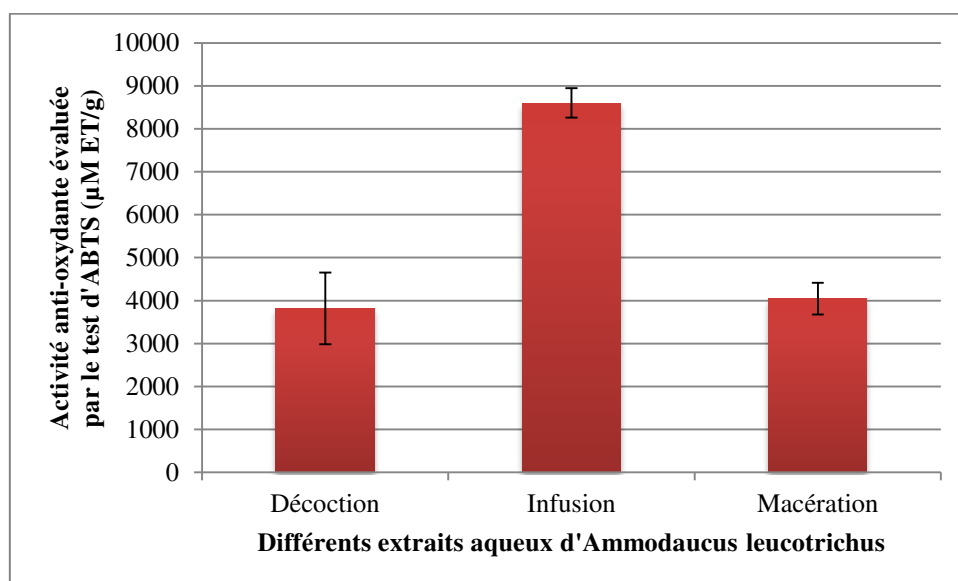


Figure 09 : Activité anti-oxydante mesurée par ABTS dans les extraits d'*A. leucotrichus*.

La capacité des extraits aqueux d'*A. leucotrichus* à inhiber le radical cation d'ABTS^{•+} a été déterminée (Fig. 09). Il ressort de ces résultats que l'infusion présente la meilleure activité inhibitrice de radical cation d'ABTS^{•+} qui est de l'ordre de 8603,62±339,75 µMET/g tandis que la décoction présente le pouvoir antioxydant le plus faible qui est 3818,13±837,59 µMET/g.

Il est évident que la forte activité des extraits est attribuée à leur richesse aux composés phénoliques, dont l'extrait par infusion possède la plus forte teneur en molécules dosés (poly-phénols et flavonoïdes) (DJEMAI ZOUGHLACHE, 2009). L'action de ces antioxydants est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (LE *et al.*, 2007).

3.2. Test au DPPH

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire par piégeage des radicaux libres a été quantifiée par spectrophotométrie. Le taux de piégeage de radicaux libres est indiqué par la figure 10.

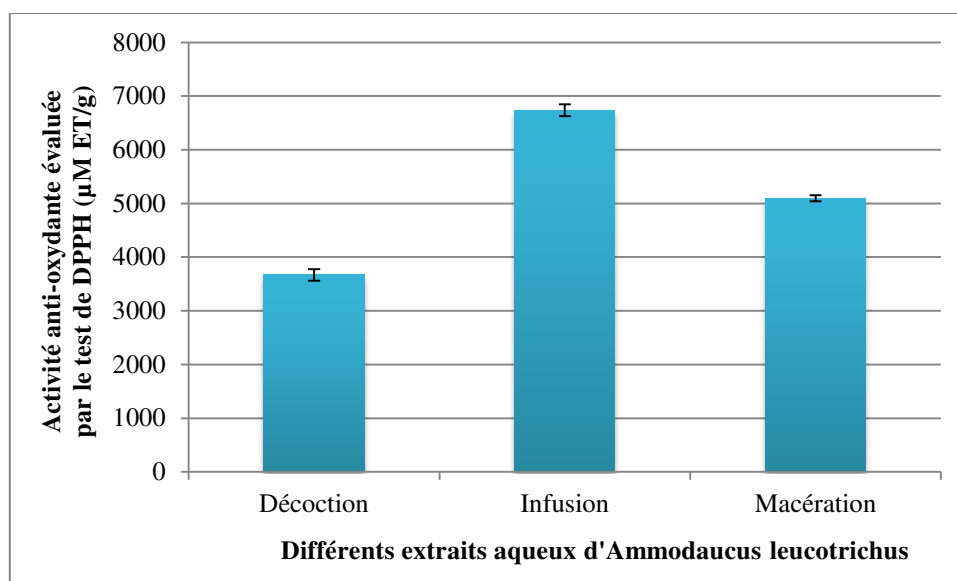


Figure 10 : Activité anti-oxydante mesurée par DPPH dans les extraits d'*A. leucotrichus*.

D'après les résultats de figure 10, l'extrait d'infusion est doté de capacité antiradicalaire la plus élevée est de $6736,28 \pm 108,07 \mu\text{MET/g}$, en comparaison à celle de la macération et de la décoction avec $5096,88 \pm 53,90 \mu\text{MET/g}$ et $3669,08 \pm 107,86 \mu\text{MET/g}$ respectivement.

Pour le mécanisme de piégeage de radical, la réaction entre l'antioxydant et DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent rapidement avec DPPH, réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupements hydroxyles (BONDET et al., 1997). Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (TALBI H. et al., 2015).

3.3. Test de FRAP

L'activité antioxydante des extraits d'*A. leucotrichus* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Elle est basée sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . La figure 11 représente le pouvoir réducteur des extraits de la plante.

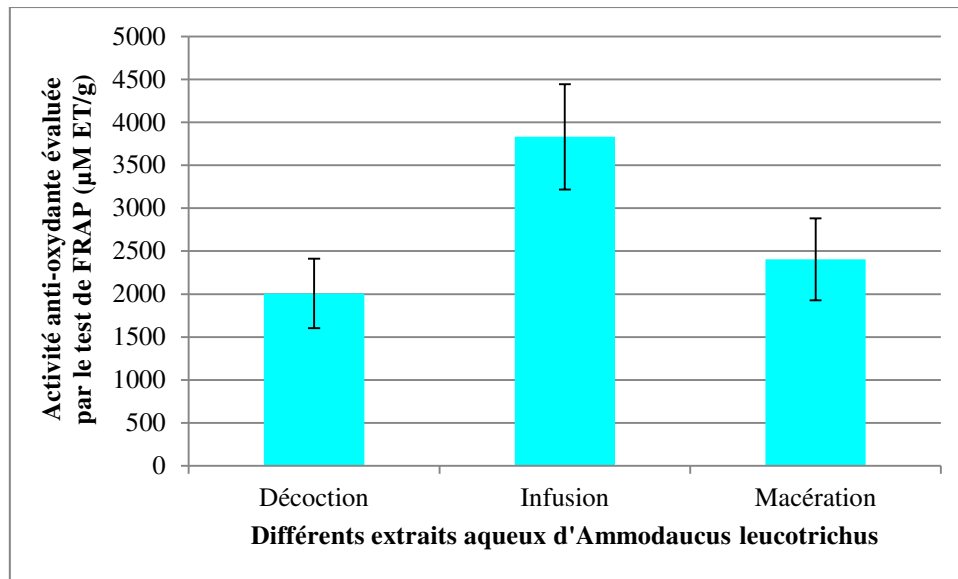


Figure 11 : Activité anti-oxydante mesurée par FRAP dans les extraits d'*A. leucotrichus*.

Selon les résultats trouvés par la figure 11, l'extrait par infusion présente le meilleur pouvoir réducteur qui est de $3830,71 \pm 613,30 \mu\text{MET/g}$, alors que la décoction représente la plus faible pouvoir réductrice avec $2007,45 \pm 404,68 \mu\text{MET/g}$.

Le pouvoir réducteur des extraits est probablement dû à la présence de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui jouent le rôle de donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (SIDDHURAJU et BECKER, 2007).

Egalement, le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle [33, 34] (JEONG et al., 2004 ; KUMARAN et KARUNAKARAN, 2007)

Par ailleurs, la plupart des activités antioxydantes non enzymatiques telles que le piégeage du radical libre et l'inhibition de la peroxydation est mis en place par la réaction rédox (ZHU et al., 2002).

4. Activité antimicrobienne

Lors de cette étude, nous avons testé l'action des extraits de la plante d'*A. leucotrichus* vis-à-vis de quelques souches bactériennes (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*) par la technique de diffusion sur l'agar (méthodes des disques).

Les résultats de l'évaluation antimicrobienne des extraits sont repris ci-dessous (tableau 03). Dans ce tableau, toutes les valeurs sont exprimées par moyennes de trois répétitions des diamètres en (mm) de zones d'inhibitions, représentant la grandeur du halo formé par les microorganismes inhibés par l'activité antimicrobienne.

Tableau 03 : Activité antimicrobienne des extraits aqueux d'*A. leucotrichus*.

	Moyen de diamètre des zones d'inhibitions en (mm).														
	Décoction					Infusion					Macération				
	10%	25%	50%	75%	100%	10%	25%	50%	75%	100%	10%	25%	50%	75%	100%
<i>Proteus mirabilis</i>	12.33	17.67	17	0	0	0	0	0	0	0	9.67	8.33	10.33	17.67	15.67
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Micrococcus luteus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9.33	12.33

D'après le tableau 03, En ce qui concerne l'activité antimicrobienne d'*A.leucotrichus* sur chaque germe, tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que la plante d'*A. leucotrichus* est douée de propriétés antimicrobiennes. Toutefois, les résultats ont révélé l'inefficacité de l'extrait par infusion contre l'ensemble des souches testées.

L'eau distillée (blanc) ne présente aucun effet inhibiteur contre les souches utilisées.

On trouve que les extraits testés présentant la meilleure action inhibitrice sur la souche *Proteus mirabilis* qui est très sensible sur la macération pour toutes les dilutions (100% , 75%, 50%, 25% et 10%) avec des zones d'inhibitions de 9.67, 8.33, 10.33, 17.67 et 15.67 mm respectivement (fig. 12). Aussi, la décoction ayant des diamètres de 12.33, 17.67 et 17 mm pour les concentrations 10%, 25% et 50%(fig. 13).

La souche *Escherichia coli* n'exprime aucune zone d'inhibition sur les trois extraits testés. Cela veut dire que la souche est résistante à ces extraits de la plante *A. leucotrichus*.

Pour la bactérie *Micrococcus luteus*, les effets inhibiteurs de la croissance sont manifestés par un seul extrait qui est la macération à partir d'une concentration de 75% et 100% avec des zones d'inhibition de 9.33 et 12.33 mm respectivement. Donc, la souche est sensible à l'extrait de macération.

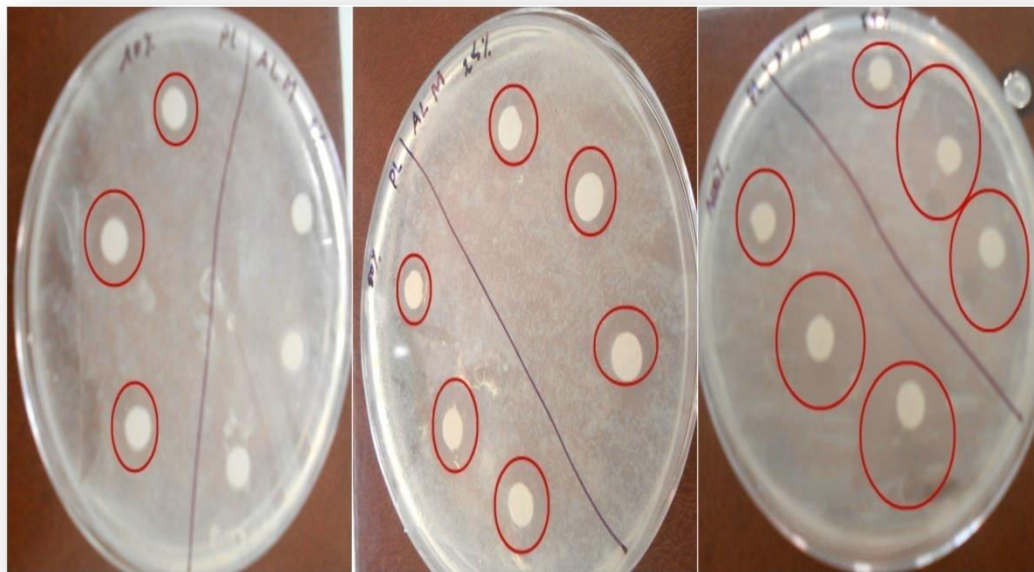


Figure 12 : Activité antimicrobienne de l'extrait de macération d'*A. leucotrichus* sur la souche *Proteus mirabilis*.

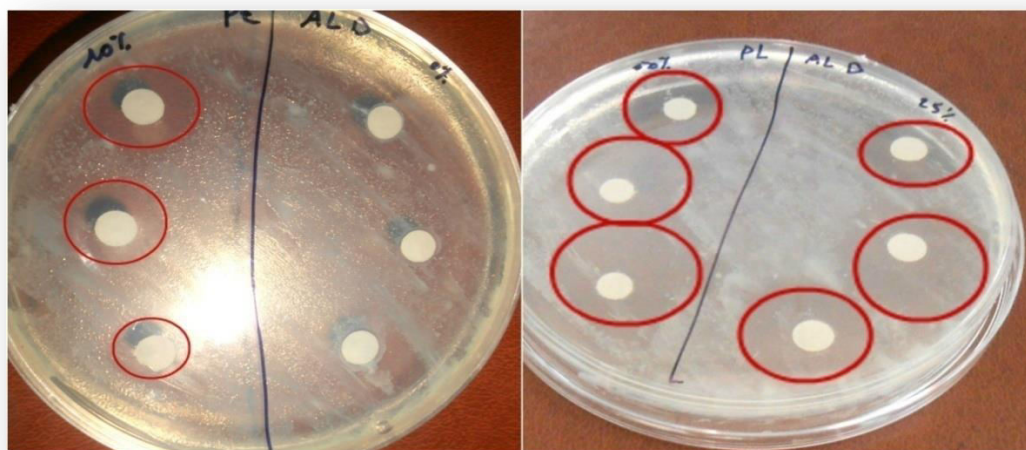


Figure 13 : Activité antimicrobienne de l'extrait de décoction d'*A. leucotrichus* sur la souche *Proteus mirabilis*.

Cette activité serait due au déroulement de la macération sous agitation pendant un temps étalé (24 h) et à température ambiante qui permet d'extraire le maximum de molécules bioactives avec une éventuelle protection contre les dénaturations (BOUKRI, 2014) ou modification probable par la température élevée. Néanmoins, l'extraction aqueuse à température élevée pour la décoction et par l'eau chaude pour l'infusion provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et

la solubilisation des molécules (ALBANO et MIGUEL, 2010). La chaleur peut, cependant, conduire à la dégradation des molécules thermolabiles (SEIDEL, 2005), c'est la raison pour laquelle, la décoction a été effectuée pendant un temps réduit de 5 min.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques, de nombreuses études ont montré une relation contradictoire entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir antimicrobien.

COWAN (1999) a rapporté que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes qui sont des substances antibactériennes importantes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par 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 (DHAOUADI et al., 2010).

Aussi, l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (ESSAWI et SROUR, 2000).

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique, l'altération des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (JUNGKIND, 1995).

Conclusion

Conclusion

Ce mémoire présente une étude sur les activités biologiques des extraits aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu., a pour objectif d'évaluer les propriétés antioxydante et antimicrobienne a concerné la plante, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction aqueuse des principes actifs a été faite traditionnellement par décoction, infusion et par macération à rapport de 1/20 : p/v.

Concernant le rendement, les résultats obtenus montrent que l'extrait de l'infusion a le meilleur rendement par rapport aux rendements de deux autres extraits étudiés.

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en acides phénols et en tannins condensés des extraits aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* ont été évalués dans le présent travail.

Les résultats montrent que l'extrait par infusion est riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes en raison de leurs solubilités plus élevé dans l'extrait. L'abondance en acides phénols et en tannins condensés est beaucoup plus dans l'extrait de décoction que les autres extraits.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante des extraits par le biais de trois méthodes (le test d'ABTS, DPPH et le test de FRAP). Par ailleurs, tous les extraits possèdent une activité antioxydante importante surtout pour l'extrait de l'infusion. Ils montrent une inhibition très importante vis-à-vis du radical DPPH, un puissant pouvoir réducteur et un excellent effet inhibiteur de radical cation d'ABTS⁺, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien des différents extraits aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* selon la méthode de diffusion disque vis-à-vis trois souches bactériennes. Les résultats indiquent que les extraits de décoction et de macération possèdent une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées sauf la souche *Escherichia coli* qui manifeste une résistance pour tous les extraits, tandis que l'extrait de l'infusion ne possède aucun effet antibactérien d'au moins sur les souches testées.

La plante *Ammodaucus leucotrichus* est une source prometteuse d'agents antioxydants et d'effet antimicrobien plus ou moins important selon le type d'extrait et de souche bactérienne. Ce qui est expliqué par la nature et la diversité quantitative et/ou qualitative des composés présents dans les extraits de cette plante.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests *in vivo* des activités antioxydantes et antimicrobiennes sur d'autres souches bactériennes ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **ADAMS R. P. (1995)**. Identification of essential oils components by gas chromatography-Mass spectroscopy. Allured publ. Illinois, II.
2. **Albano S. M. and Miguel M. G. (2010)**. Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 1-6.
3. **AYACHI A. (2014)**. Etudes chimique et biologique des extraits de trois *Daucus* (*D. crinitus*, *D. muricatus* et *D. carota* ssp *hispanicus*) de la région de Tlemcen. Doctorat en sciences. Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEM. 262p.
4. **AZZOUZ M. (2006)**. Etude ethnologique de la flore spontanée médicinale dans la région d'El Goléa (El meniaa). Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Agronomie Saharienne. Université Kasdi MERBAH Ouargla. 57p.
5. **BAHORUN T. (1997)**. Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*, p 83.
6. **BENBRINIS S. (2011)**. Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Magister en Biochimie. Université FERHAT Abbas-SETIF. 84p.
7. **BENZIE I. F. F. et STRAIN J. J. (1996)**. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
8. **BOIZOT N. et CHARPENTIER J. P. (2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, *Le cahier des Techniques de l'Inra*, p79-82.
9. **Boldi A.M. (2004)**. *Current Opinion in Chemical Biology*, Libraries from natural product-like scaffolds, 8, 281.
10. **BONDET V., WILLIAMS W.B., BERSET C. (1997)**. Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 30, 609-615.
11. **BOUKRI N. (2014)**. Contribution à l'étude photochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Université KASDI MERBAH Ouargla. MASTER en Biochimie Appliquée 67p.
12. **BRAND-Williams W., CUVELIER M. E., BERSET C. (1995)**. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food. Sci. Technol*, 28: 25.
13. **CAI Y., LUO Q., SUN M., CORKE H. (2004)**. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157-2184.
14. **CHAVAN U.D., SHAHIDI F. and NACZK M. (2001)**. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *J. Food Chem.* Vol. 75. pp. 509-512.
15. **CHEHMA A. (2005)**. Etude floristique et nutritive des parcours camelins du Sahara septentrional Algérien cas des régions d'OUARGLA et GHARDAIA. Thèse de DOCTORAT. Université d'Annaba. 178p.
16. **COWAN M. (1999)**. Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev.*, 12: 564-582.
17. **DHAOUADI K., RABOUDI F., ESTEVAN C., BARRAJO E., VILANOVA E., HAMDAROU M. and FATTOUCH S. (2010)**. Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian

- Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem*; 59: 402-406.
18. **DJEMAI ZOUGHLACHE S. (2009)**. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Magister en Biochimie Appliquée. Université EL HADJ LAKHDER BATNA 56p.
 19. **DURAFFOURD C., LAPRAZ J.C., CHEMLI R. (1997)**. La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222.
 20. **ESSAWI et SROUR (2000)**. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.*; 70: 343-349.
 21. **FILLIAT P. (2012)**. Les plantes de la famille des *Apaiquées* dans les troubles digestifs. Thèse de Docteur en Pharmacie. Université JOSEPH FOURIER.
 22. **GARICIA-SALAS P., MORALES-SOTO A., SEGURA-CARRETERO A. and FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2010)**. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*. Vol. 15. pp. 8813-8826.
 23. **GOMEZ-CARAVACA A. M., GOMEZ-ROMERO, M., ARRAEZ-ROMAN, D., SEGURA-CARRETERO, A., et FERNANDEZ-GUTIERREZ, A. (2006)**. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees, *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*; 411220-1234.
 24. **GULCIN I., HUYUT Z., ELMASTAS M. and ABOUL-ENEIN H. Y. (2010)**. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 43-53.
 25. **HARBORNE JB. (1998)**. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB). 203-214.
 26. **JACCOT et CAMPILLO (2003)**. Nutrition humaine. MASSON, Paris. 311.
 27. **JEONG S.M., KIM S.Y., KIM D.R., JO S.C., NAM K.C., AHN D.U., LEE S.C. (2004)**. Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 3389–3393.
 28. **JOKIC S., VELIC D., BILIC M., BUCIC-KOJIC A., PLAN INIC M. and Tomas S. (2010)**. Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *J. Food Sci.* vol. 28. pp. 206-212.
 29. **JUNGKIND DL. (1995)**. Antimicrobial resistance : a crisis in health care ; [based on the proceedings of the Eastern Pennsylvania Branch of the American Society of Microbiology Symposium on Antimicrobial Resistance: a Crisis in Health Care - Clinical Laboratory and Epidemiologic Considerations, held November 11-12, 1993, in Philadelphia, Pennsylvania]. Ed. Plenum Press, New York, NY [u.a.], p. 248.
 30. **KALLA A. (2012)**. Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Doctorat en Sciences. L'université MENTOURI – CONSTANTINE.137p.
 31. **KIM D.O., CHUN O.K., KIM Y. J., MOON H.Y., LEE C.Y. (2003)**. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.*, 51(22), 6509-6515.
 32. **KOFFI E., SEA T., DODEHE Y. and SORO. S. (2010)**. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *J. Animal& Plant Sci.* Vol. 5. pp. 550-558.

33. **KUMARAN A. et KARUNAKARAN R.J. (2007).** "In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India". *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, vol 40, pp.344–352.
34. **LAMAMRA M. (2010).** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. MAGISTER en Physiologie Végétale. Université FERHAT ABBAS-SETIF. 89p.
35. **LE K., CHIU F. and NG K. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105, 353-363.
36. **LI H B., CHENG K. W., WONG C. C., FANK W., CHEN F. and JIANG Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected *microalgae*. *Food Chemistry*, 102, 771-776.
37. **LUTZ M., HENRIQUEZ C., ESCOBAR M. (2011).** Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus* L.), raw and cooked. *J. of Food Compos. Anal.* Vol. 24. pp. 49-54.
38. **MAKHOLOUFI A. (2007).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse Doctorat en Biologie. L'université ABOUBAKER BELKAID 136p.
39. **MOHAMMEDI Z. and ATIK F. (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Inter. J. Pharma. Bio. Sci.* Vol. 2. (2011). pp. 609-615.
40. **NEWMAN D. J, CRAGG G. M. (2012).** *Journal of Natural Products*, Natural products as sources of new drugs over the period 1981 to 2010, 75, 2012, 311.
41. **OZENA P. (1997).** Flore de Sahara. 2ème édition du centre national de la recherche scientifique 15 quai Anatole-France-75700 Paris, 622.
42. **Ozenda, P. (2004).** Flore et végétation du Sahara. 3ème édition, CNRS Editions, Paris.
43. **PONCE A.G., FRITZ R., DEL VALLE C. & ROURA S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologic*, 36, 679-684.
44. **QUEZEL P. et SANTA S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS. Paris. 788-789.
45. **SEIDEL V. (2005).** Initial and Bulk Extraction. *In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I.* Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 27-37.
46. **SIDDHURAJU P., BECKER K. (2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1), 10-19.
47. **SINGLETON V.L et ROSSI J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-153.
48. **TALBI H. BOUMAZA A., EI-MOSTAFA K., Talbi J., Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Master. Environ. Sci.* 6 (4) (2015) 1111-1117 ISSN : 2028-2508 CODEN: JMESCN.
49. **TAWAHA K., ALALI F.Q., GHARAIBEH M., MOHAMMAD M., EI-EIIMAT T. (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem*, 104: 1372–1378.

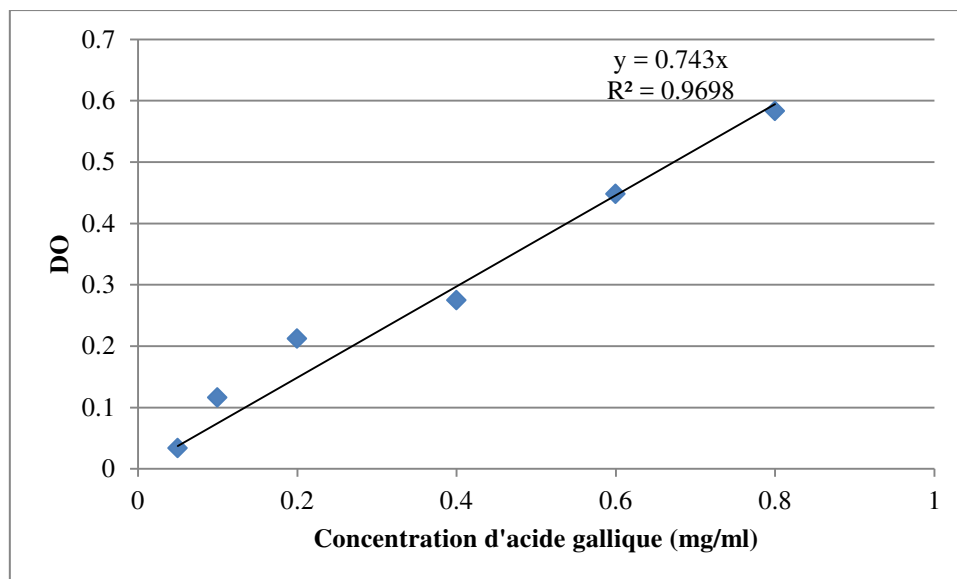
50. **TELLI A. (2009).** Extraction, identification et activité biologique des polyphénols des dattes (Phoenix d'actylifera) au cours des différents stades phénologiques (variétés ghars). Thèse de magistère. Kasdi merbeh-ouargla. Pp : 108.
51. **VALNET J. (1983).** Phytothérapie, traitement des maladies par les plantes. Edition de Maloine. S. A., Paris, 942p.
52. **VELASCO-NEGUERUEL A., PETREZ-ALONSO MJ., PEREZ de PAZ PL., PALA-PAUL J. et SANZ J. (2006).** Analysis by gaz chromatography-mass spectrometry of the volatiles from the eruits of ammodaucus leucotrichus subsp. Leucotrichus and subsp. Nanocarpus grown in North Africa and the Canary islands respectively. Elsiever journal of chromatography n°1108, 273-275.
53. **VUORELA S. (2005).** Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki, p. 76.
54. **ZHANG X. (1998).** Réglementation des médicaments à base de plantes La situation dans le monde Organisation mondiale de la Santé, Genève. WHO/TRM/98.1.
55. **ZHU Q.T., HACKMAN R.M., ENSUNSA J.L., HOLT R.R., KEEN C.L. (2002).** Antioxidative activities of oolong tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 6929–6934.
56. **ZOUBEIDI C. (2004).** Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus Officinalis. Labiatea*. Mémoire de Magister en chimie organique. Université d'Ouargla. 45p.

Annexes

Annexes

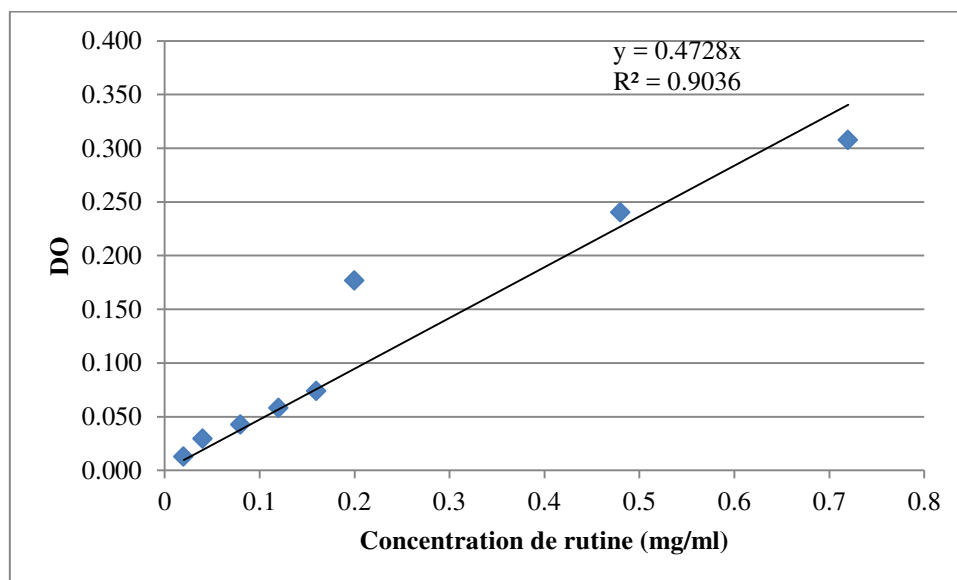
Les courbes d'étalonnage :

Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols



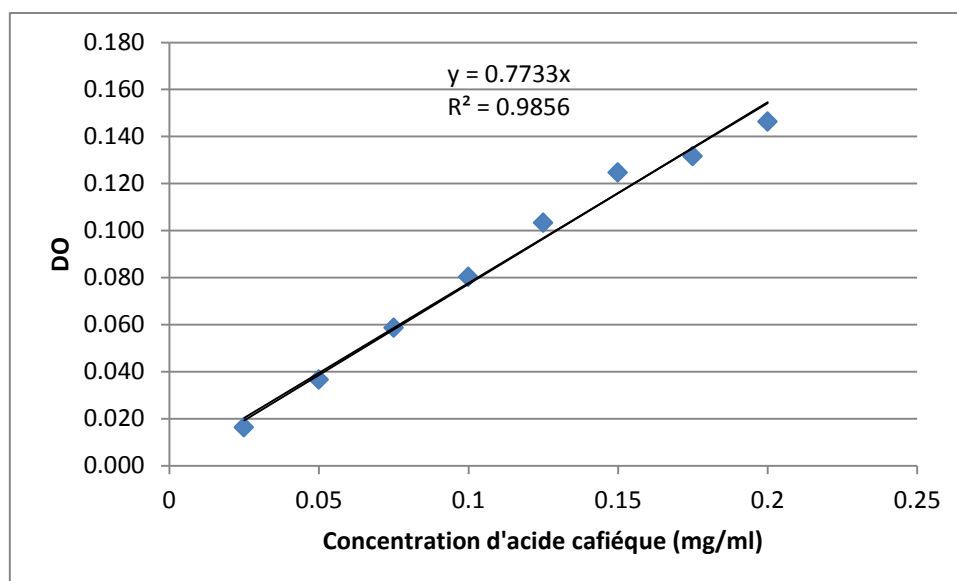
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Courbe d'étalonnage de rutine



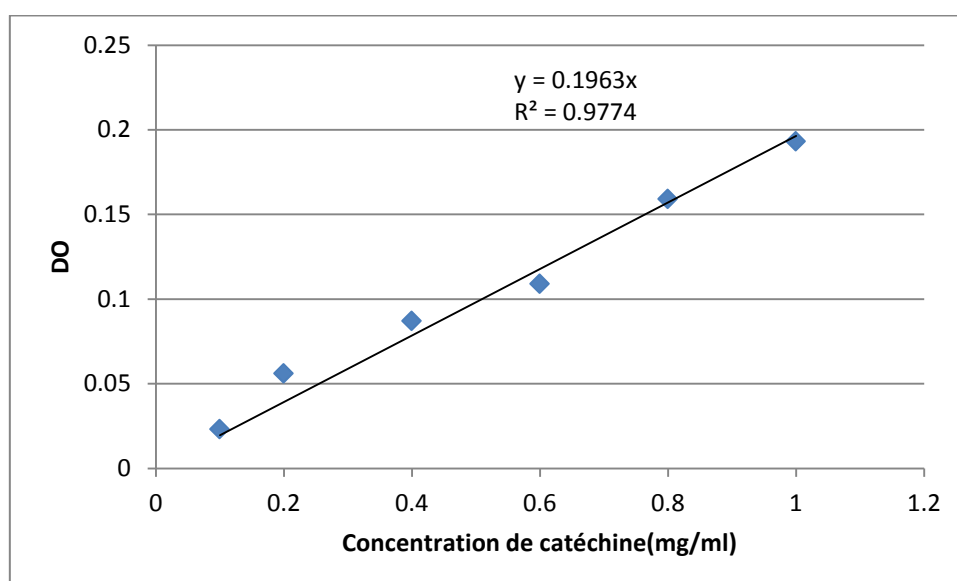
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de rutine

Courbe d'étalonnage d'acide caféique



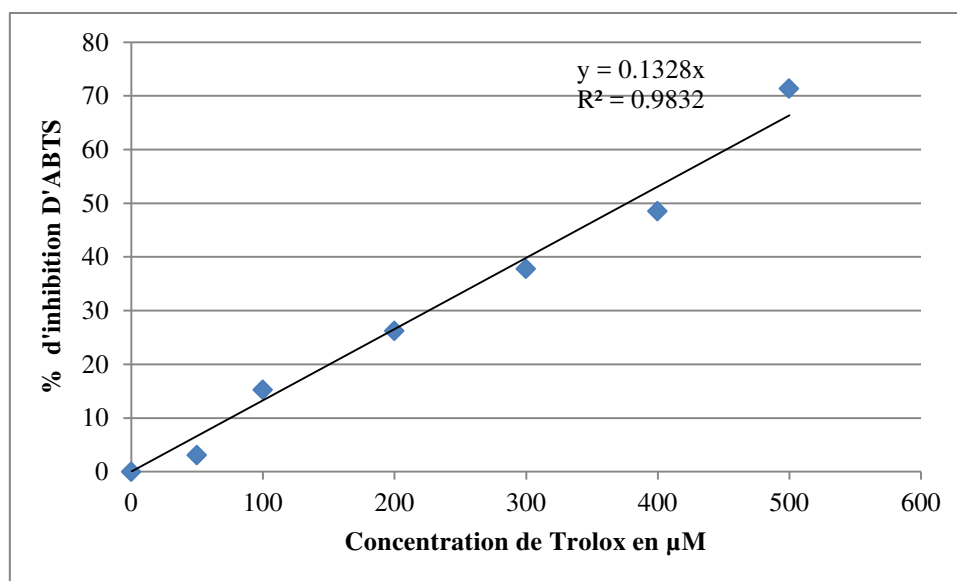
Annexe 3 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Courbe d'étalonnage de catéchine



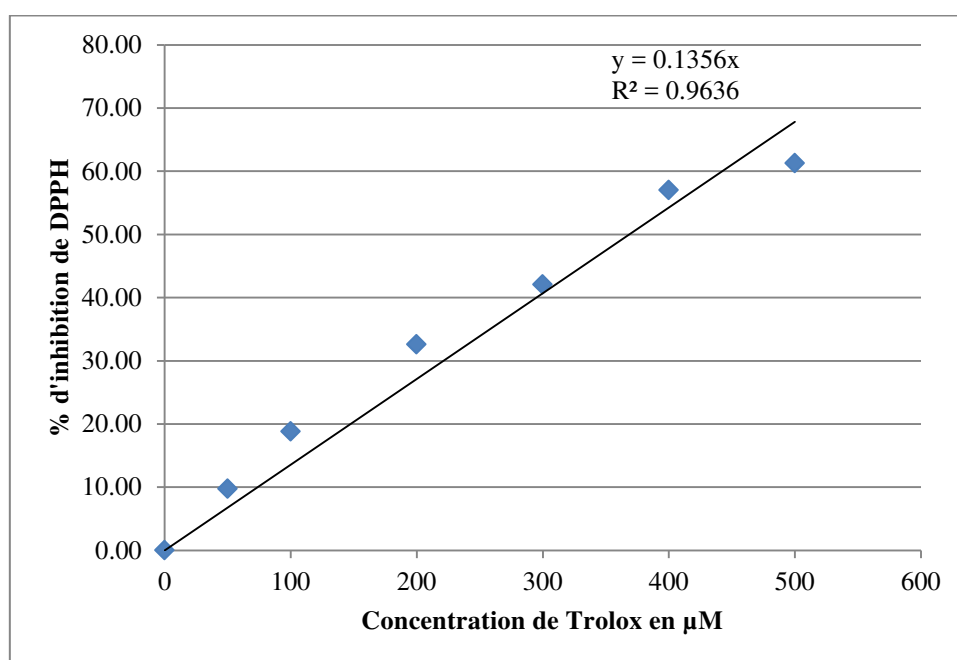
Annexe 4 : Courbe d'étalonnage de catéchine

Courbe d'étalonnage de Trolox pour l'ABTS

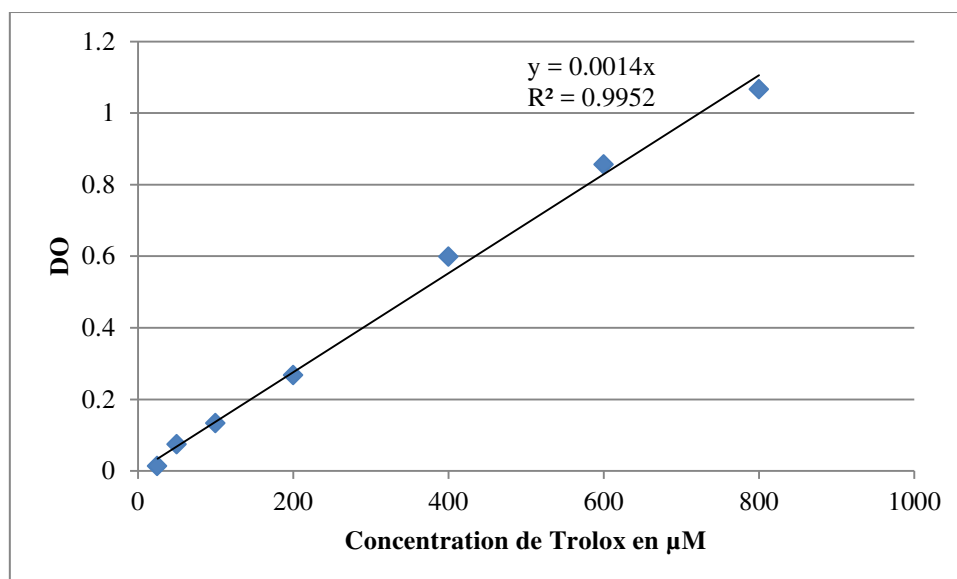


Annexe 5 : Courbe d'étalonnage d'inhibition de l'ABTS par le Trolox

Courbe d'étalonnage de Trolox pour le DPPH



Annexe 6 : Courbe d'étalonnage de l'inhibition de DPPH par le Trolox

Courbe d'étalonnage de Trolox pour le FRAP**Annexe 7 : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le FRAP**

Annexe 8 : Tableau des résultats des différents extrais aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Extrait	R(%)	PPT (mg EAG/g)	FLV (mg ER/g)	A.PH (mg EAC/g)	T.C (mg EC/g)	ABTs (μ MET/g)	DPPH (μ MET/g)	FRAP (μ MET/g)
Décoction	5,72 \pm 0,79	8,78 \pm 0,34	3,13 \pm 0,26	1,58 \pm 0,07	5,77 \pm 0,24	3818,13 \pm 83 7,59	3669,08 \pm 10 7,86	2007,45 \pm 40 4,68
Infusion	10,38 \pm 0,56	13,12 \pm 0,69	5,98 \pm 0,19	1,13 \pm 0,07	3,32 \pm 0,82	8603,62 \pm 33 9,75	6736,28 \pm 10 8,07	3830,71 \pm 61 3,30
Macération	7,59 \pm 0,85	10,39 \pm 1,23	4,67 \pm 0,19	0,59 \pm 0,04	3,11 \pm 0,23	4045,76 \pm 37 2,34	5096,88 \pm 53, 90	2405,31 \pm 47 7,34