

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE POLYTECHNIQUE  
LABORATOIRE SCIENCES ET TECHNIQUES DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire du projet de Fin d'Etudes  
pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en  
Génie de l'Environnement

**SUJET**

## **Activités Biologiques d'Extraits Végétaux**

Présenté par :

**Ait Ali Yahia Célia**

**Jury :**

Présidente : BOUTEKEDJIRET C. Professeur, ENP

Directrice : HELLAL A. Professeur, ENP

Co-directrice : BERTOUCHE S. ENP

Examinatrice: BENSIAMEUR K. MAA, USTHB

**Promotion JUIN 2012**

ENP 10, Avenue Hassen Badi, 16200 El Harrach, ALGER

## **Remerciements**

Je remercie tout d'abord ma promotrice Mme A. Hellal, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, pour m'avoir si bien suivi et encadré tout au long de mon travail.

Mes remerciements s'adressent également à ma co-directrice, Mme S. Bertouche qui m'a soutenu, suivi et aidé depuis le tout début.

J'exprime ma gratitude à la Présidente du jury Melle C. Boutekdjiret, ainsi qu'à Mme K. Bensiamer, pour avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui m'ont aidé et ont contribué à mon travail.

## Liste des figures

Figure 1 : <i>Cynara cardunculus</i> .....	4
Figure 2 : Dispositif d'extraction en batch.....	21
Figure 3 : Cinétique d'extraction des bractées des mois de Mars et d'Avril A : Bractées du mois de Mars B : Bractées du mois d'Avril.....	27
Figure 4 : Rendement des extractions des bractées en fonction du mois de cueillette.....	29
Figure 5 : Rendement de l'extraction de la concrète à partir des capitules.....	30
Figure 6 : Rendement de l'extraction de la concrète à partir des fleurs.....	30
Figure 7 : Comparaison des rendements des parties de <i>C. cardunculus</i> .....	31
Figure 8 : Evolution de la concentration des bractées en polyphénols en fonction des mois de cueillette.....	32
Figure 9 : Concentration des capitules et des fleurs en polyphénols.....	33
Figure 10 : Evolution de l'activité antioxydante des fleurs en fonction de la concentration.....	34
Figure 11 : Evolution de l'activité antioxydante des bractées en fonction des mois de cueillette.....	35
Figure 12 : Activité antioxydante des capitules.....	36
Figure 13 : Antibiogramme A : <i>Enteroccus faecalis</i> B : <i>Listeria monocytogenes</i> C : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> D : <i>Escherichia coli</i> .....	37
Figure 14 : Activité antimicrobienne des extraits de <i>C. cardunculus</i> A : Capitules <i>Saccharomyces</i> B : Bractées <i>Saccharomyces</i> C : Fleurs, <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Salmonella</i> D : Fleurs, <i>Streptococcus</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	38

# Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

## Chapitre I : Revue Bibliographique

I- <i>Cynara Cardunculus</i> .....	3
I-1- Description botanique .....	3
I-2- Utilisation de <i>Cynara</i> .....	6
I-3- Etudes antérieures .....	6
I-3-1- Composition en polyphénols et activité antioxydante.....	6
I-3-2- Activité antimicrobienne .....	7
II- Extraction solide-liquide .....	8
III- Généralités sur les polyphénols et les antioxydants .....	9
III-1- Les polyphénols.....	9
III-2- Les antioxydants.....	10
IV- Généralités sur les souches bactériennes étudiées.....	11
IV-1- <i>Listeria monocytogenes</i> .....	11
IV-2- <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
IV-3- <i>Micrococcus luteus</i> .....	13

IV-4- <i>Enterococcus faecalis</i> .....	13
IV-5- Généralités sur le genre <i>Streptococcus</i> .....	14
IV-6- <i>Escherichia coli</i> .....	14
IV-7- Généralités sur le genre <i>Salmonella</i> .....	15
IV-8- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
IV-9- <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	16
IV-10- <i>Aeromonas</i> .....	17
IV-11- <i>Citrobacter</i> .....	17
V- Généralités sur les levures et moisissures étudiées .....	18
V-1- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	18
V-2- <i>Candida albicans</i> .....	18
V-3- <i>Aspergillus niger</i> .....	19
V-4- <i>Rhizopus stolonifer</i> .....	19

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

I- Matériel végétal.....	20
II- L'échantillonnage.....	20
III- Extraction de la concrète.....	20
IV- Calcul du rendement en concrète.....	22
V- Dosage des polyphénols totaux.....	22

VI- Activité antioxydante .....	22
VII- Activité antimicrobienne .....	23
VII-1- Aromatogramme .....	24
VII-1-1- Méthode par diffusion.....	24
VII-1-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	24
VII-1-3- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	25
VII-2- Antibiogramme.....	25

### **Chapitre III : Résultats et Discussions**

I- Extraction de la concrète .....	27
I-1- Cinétique d'extraction.....	27
I-2- Extraction à partir des bractées .....	28
I-3- Extraction à partir des capitules .....	29
I-4- Extraction à partir des fleurs .....	30
I-5- Comparaison des rendements des différentes parties de la plante.....	31
I-5- Dosage des polyphénols totaux.....	32
I-5-1- Détermination des concentrations des concrètes en polyphénols.....	32
I-5-1-1- Bractées .....	32
I-5-1-2- Capitules et fleurs.....	33
I-6- Activité antioxydante .....	33

I-6-1- les fleurs.....	33
I-6-2- Résultats des bractées .....	35
I-6-3- Résultat des capitules.....	35
I-7- Antibiogramme .....	36
I-8- Activité antimicrobienne.....	38
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>42</b>

*Introduction*

*générale*

De tous temps, les plantes ont été utilisées pour leurs vertus thérapeutiques ; du grand empire du milieu jusqu'en Egypte, les guérisseurs se servaient des plantes pour soigner tous les maux de la population, et ce n'est que progressivement que l'homme a commencé à percer les secrets de guérison des plantes médicinales. En effet, lorsqu'une plante réalise l'opération de photosynthèse c'est-à-dire lorsqu'elle absorbe le rayonnement solaire et qu'elle fixe le carbone contenu dans le dioxyde de carbone atmosphérique ainsi que l'eau et les éléments minéraux par le biais des racines, elle produit tout d'abord des métabolites primaires. Ce sont des sucres indispensables à la croissance de la plante. A partir de ces glucides, la plante va former d'autres composés tels les sucres complexes et les acides gras. Il va également se former des métabolites secondaires et les recherches ont montré que ce sont ces derniers qui confèrent à certaines plantes des propriétés médicinales.

Il n'y a pas qu'en médecine qu'on emploie les plantes à propriétés biologiques ; au fil du temps, les champs d'application se sont étendus à l'agriculture, à l'alimentaire, à la cosmétologie,... et les méthodes d'exploitation se sont industrialisées pour accroître le rendement des plantes. Il y a donc clairement un intérêt grandissant pour les produits phytopharmaceutiques et ceci s'explique par le fait de la découverte de virus et de bactéries de plus en plus résistants aux antibiotiques chimiques classiques. La recherche se focalise à présent sur l'activité antioxydante et antimicrobienne des plantes à fort potentiel biologique qui permettent d'avoir une grande efficacité tout en évitant la toxicité engendrée par les produits chimiques.

Le principal intérêt de la recherche de plantes à pouvoir antioxydant est que les substances tirées sont naturelles, peu coûteuses, sans effets secondaires et d'une efficacité remarquable.

Dans notre étude, nous allons nous intéresser à une plante qui pousse très facilement dans notre climat méditerranéen et qui ne nécessite aucun entretien puisqu'il s'agit d'une plante spontanée, il s'agit de *Cynara cardunculus* (ou cardon sauvage).

Notre objectif est de caractériser les activités antioxydante et antimicrobienne des différentes parties de la plante cueillie à des périodes différentes, dans le but de valoriser son utilisation dans le domaine de l'agroalimentaire.

# *Chapitre I :*

## *Revue Bibliographique*

## ***I- CYNARA CARDUNCULUS***

*Cynara* est un genre de plantes vivaces à port de chardon de la famille des *Asteraceae*, originaire de la région Méditerranéenne (Europe méridionale, Afrique du Nord) et des îles Canaries, Ce genre comprend une quinzaine d'espèces.

Parmi les espèces de ce genre figurent :

- *Cynara cardunculus*, spontané ou cultivé, utilisé comme légume dont on consomme les « côtes » charnues.
- *Cynara humilis*, plante épineuse sauvage du sud de l'Europe et de l'Afrique du Nord, est traditionnellement consommée par les Berbères. Comme *Cynara cardunculus*, elle peut aussi être employée pour la fabrication du fromage.
- *Cynara scolymus*, l'artichaut, cultivé comme légume dont on consomme le réceptacle floral. Il diffère de *Cynara cardunculus* par les feuilles et les bractées internes de l'involucre moins épineuses.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés au genre *Cynara cardunculus*.

### **I-1- Description botanique**

*Cynara cardunculus* est une plante non domestiquée robuste, pérenne, caractérisée par sa rosette de grandes feuilles épineuses, ainsi que par les tiges fleuries et ramifiées se terminant par des fleurs de couleur bleu-violet. Comme l'artichaut, le tournesol et le carthame, elle appartient à la famille des *Astéracées*, de la tribu *Cynara* et est originaire du bassin méditerranéen, où elle colonise les zones sèches et paisibles. Elle est allogame et se propage par les semences, dont la plupart tombent près de la plante mère. Les fleurs sont produites de Mars à Juillet à différents stades de maturité de la plante et, en général par des plantes âgées de 2 ans [1].



**Figure 1 : *Cynara cardunculus***

Le cycle de croissance de la plante est comme suit [1-3] :

- ❖ Au cours des premières pluies après l'été : la germination des graines (même si la germination peut se produire toute l'année dans des conditions favorables).
  
- ❖ Au cours de l'automne: période d'émergence.
  
- ❖ Pendant l'hiver : la rosette de feuilles apparaît.
  
- ❖ Au cours du printemps : période de maturité akène.
  
- ❖ Pendant l'été : la partie aérienne des plantes sèche, et elle peut être récoltée, tandis que la partie souterraine commence un nouveau cycle.

*C. cardunculus* possède un système racinaire vertical, capable d'explorer le sol à plusieurs mètres de profondeur. Il présente habituellement plusieurs racines en circulation, qui sont originaires de la racine primaire. Dans la partie supérieure du système racinaire, le diamètre des racines principales est assez grand. La branche principale donne naissance à plusieurs autres branches qui sont de plus en plus minces et fibreuses. Il a été montré que les racines principales peuvent atteindre plus de 7 m de profondeur dans le sol à la fin de la première

année de croissance. Les racines secondaires et leurs branches poussent de façon horizontale à différentes profondeurs du sol, donnant lieu à une masse de racines enchevêtrées. Au début du deuxième cycle et des autres cycles de développement, plusieurs bourgeons végétatifs apparaissent sur la partie de base de la plante, celle-là même qui relie les racines aux pousses. La croissance de ces bourgeons donne naissance à de nouvelles pousses, c'est la raison pour laquelle la partie supérieure du système racinaire devient de plus en plus large. Après plusieurs années de croissance, il se forme une sorte de moignon qui peut atteindre 20-30 cm de diamètre [3].

Les feuilles basales forment une rosette, à base large, avec parfois des épines marginales, et avec des côtes fraîches et évidentes, elles sont très grandes et peuvent atteindre 80 cm de longueur et 35 cm de largeur. Les jeunes feuilles développées par les plantules sont simples, entières ou irrégulièrement lobées ; les feuilles adultes sont pennatifides avec un nombre indéterminé de segments ; un individu peut développer des feuilles avec un nombre très différent de segments [3].

Au printemps, *Cynara* développe une longue tige (2-3 m de haut), en fait une hampe florale, qui est souvent richement ramifiée, densément à légèrement laineuse, nervurée, et parfois avec des épines. Les feuilles caulinaires (feuilles sur la tige) sont décurrentes, pennatifides et semblables aux feuilles basales [3].

À maturité, les têtes de *Cynara* contiennent de nombreux fruits. Une couronne plumeuse de poils, les aigrettes, pièce pour la dispersion des fruits- est fixée au-dessus de chaque fruit. Le genre du fruit est l'akène (une seule graine de fruits secs), le même que le tournesol ; le fruit est communément connu sous le nom «graine» même si elle est un vrai fruit. L'akène de *Cynara* est comprimé latéralement, de 6 à 8 mm de long, et de 3 à 4 mm de large. Sa structure est également semblable à la fleur de tournesol, il a un mur sec de deux pièces- péricarpe sec-

brun grisâtre à brun foncé, qui représente environ 45% (p / p) du fruit et contient une seule graine, le «noyau», riche en huile et en protéines sous forme de composés de stockage pour la germination des graines. Les fruits entiers contiennent de l'huile (environ 25%) et 18 à 20% de protéine. Les antioxydants ont été également trouvés dans la graine, ils aident à préserver l'huile ainsi que la viabilité de la graine. La capacité des semences à germer peut se prolonger pendant 5-7 ans [3].

## **I-2- Utilisation de *Cynara***

La principale utilisation de *C. cardunculus* est en cuisine, en effet les côtes de cardon se cuisinent généralement en sauce, le goût se rapproche de celui de l'artichaut. Le capitule est aussi parfois consommé en remplacement des artichauts.

Par contre, son utilisation comme plante médicinale est très limitée, et des études récentes se centrent sur ses activités antioxydante et antimicrobienne pour démontrer son potentiel encore mal connu.

## **I-3- Etudes antérieures**

### **I-3-1- Composition en polyphénols et activité antioxydante**

Plusieurs études portant sur l'activité antioxydante du genre *Cynara* ont été réalisées et se sont le plus focalisées sur *C. scolymus* (artichaut) : **Mulinacci et al. [5]** ont trouvé que la plus importante classe de polyphénols contenus dans *Cynara scolymus* est représentée par la famille des dérivés de l'acide caféique. En effet, il a été démontré que les feuilles et les têtes d'artichauts étaient riches en composés mono et dicaféoylquinique, ainsi qu'en flavonoïdes [5-10].

L'espèce à laquelle nous consacrons notre étude, *C. cardunculus*, n'est pas en reste puisque différentes parties de la plante ont subi des investigations dans le but de mettre en évidence son pouvoir antioxydant et antimicrobien :

C'est ainsi que **Pinelli et al. [8]**, **Valentao et al. [11]**, ont pu identifier au moyen de l'HPLC la présence d'acides caféoylquinique et de glycosides de lutéoline et d'apigénine dans les feuilles de *Cynara Cardunculus* ; ces deux derniers étant de puissants antioxydants [12,13] dont les propriétés ont prouvé être efficaces contre l'oxydation des lipoprotéines de basse densité [14].

Des recherches poussées portant sur l'identification de la composition en polyphénols de *C. cardunculus* ont permis de déterminer très précisément les molécules responsables du pouvoir antioxydant de la plante. C'est ainsi que l'on retrouve dans les bractées : le  $\beta$ -sitostérol, le sitosteryl-3 $\beta$ -glucoside, le sitosteryl-3 $\beta$ -acétate, le taraxastérole, le taraxastéryl-3 $\beta$ -acétate, l'apigénine, l'apigénine 7-glucoside, la lutéoline, la lutéoline 7-glucoside, l'apigénine 7-rutinoside, la lutéoline 7-rutinoside, l'apigénine 7-méthylglucuronide, la scopoline, la scopolétine, le cynarin, les cynarasaponins A et H et leurs dérivés méthylés, et les cynarasaponins B et K et l'acide chlorogénique qui est l'un des acides phénoliques les plus abondants dans les différents extraits de plantes, mais aussi le constituant antioxydant le plus actif [15-17]. De plus, une étude japonaise a prouvé que l'acide chlorogénique et les dérivés de l'acide caféoylquinique, ont inhibé la peroxydation des lipides et ont montré des activités neuroprotectives [18]

### **I-3-2- Activité antimicrobienne**

Concernant l'activité antimicrobienne, c'est *C. scolymus* à laquelle les chercheurs se sont le plus intéressés. En effet, il a été déjà prouvé que des extraits au dichlorométhane de feuilles de *C. scolymus* ont complètement inhibé la croissance, avec un effet bactéricide, de

*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* ; et cela à une concentration de 5 mg/ml [19]. D'autre part, différents extraits de têtes et de tiges d'artichaut ont montré une activité antifongique et antibactérienne qui après isolement ont trouvé leur origine dans certains polyphénols : l'apigénine, l'apigénine-7-glucoside, la lutéoline, l'acide chlorogénique, le cynarin, la lutéoline-7-rutinoside et le cynaroside, ces quatre derniers ayant montré une activité antimicrobienne supérieure aux premiers [20-22].

Il n'y a eu qu'une seule étude qui s'est penché sur l'éventuel pouvoir antimicrobien de *Cynara cardunculus* et qui a conclu que des extraits des bractées ont des activités avec des CMI, CMB et CMF allant de 0,03 à 0,10 mg/ml [17].

## **II- EXTRACTION SOLIDE-LIQUIDE**

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but, d'extraire, de séparer ou de dissoudre par immersion dans un liquide ou par arrosage par un liquide, un ou plusieurs composants (solide ou liquide) mélangés à un solide. C'est une opération très ancienne, utilisée pour récupérer des plantes ou de certains organes animaux un produit alimentaire, médicinal, colorant ou odoriférant en vue de la production de breuvage, drogues, teintures ou parfums [23].

L'extraction par solvant volatil est aujourd'hui la méthode la plus usitée, ce procédé est utilisé pour l'extraction des concrètes ou oléorésine de résinoïde et d'absolues, quand une partie de l'arôme ou du parfum n'est pas volatile ou peu entraînable par la vapeur d'eau. Son principe consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants généralement à température ambiante par un solvant volatil. Le mélange solvant-extrait, appelé miscella est ensuite séparé du solvant par évaporation sous vide afin d'éviter la dégradation thermique des molécules odorantes [23].

La macération, l'infusion et la décoction sont des méthodes d'extraction solide-liquide en discontinu. Pour des extractions en continue, on utilise des appareils plus efficaces, les extracteurs de Soxhlet et de Kumagawa [23].

### **III- GENERALITES SUR LES POLYPHENOLS ET LES ANTIOXYDANTS**

#### **III-1- Les polyphénols**

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé [24]. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer [25], des maladies inflammatoires [26], cardiovasculaires [27] et neurodégénératives [28]. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [29].

Il existe différents groupes de polyphénols ; le tableau ci-dessous en regroupe les différentes classes :

**Tableau 1 : Composés phénoliques[30]**

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	hydroquinone	Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide parahydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique	Tomates, ail
	Coumarines	Ombélliférone	Carottes, coriandre
C6-C4	Naphtoquinones	Juglon	Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-resvératrol	Raisin
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol	Fraises
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines	-	Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tanins condensés	Procyanidol	Raisins, kaki

### III-2- Les antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydo-réduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les antioxydants sont capables de stopper ces

réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux libres et annihilant ainsi leur action. Ces propriétés se trouvent beaucoup dans les familles des thiols et des phénols.

Les antioxydants sont utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour éviter le rancissement des corps gras et dans l'industrie chimique pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.

Plusieurs études ont fait état de la composition en polyphénols ainsi que de l'activité antioxydante de *Cynara*.

#### **IV- GENERALITES SUR LES SOUCHES BACTERIENNES ETUDIEES**

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à plusieurs souches bactériennes. Dans ce qui suit, nous allons établir un descriptif pour chacune des souches testées.

##### **IV-1- *Listeria monocytogenes***

*Listeria monocytogenes* est un bacille à Gram positif, ubiquitaire, c'est-à-dire qu'elle est très répandue dans la nature et particulièrement dans le sol et l'eau. Elle se transmet par l'alimentation et a un pouvoir pathogène sur de nombreuses espèces animales : les mammifères, les poissons, les crustacés, les insectes, etc. [31].

Son pouvoir pathogène touche aussi l'homme chez qui elle peut provoquer des avortements chez la femme enceinte, des méningites chez l'adulte de plus de 60 ans, des septicémies ainsi que des méningites chez le nouveau-né dont la mère a été infectée ; mais le plus souvent, cela se manifeste par des infections inapparentes ou des syndromes pseudo-grippaux chez l'homme normal. *Listeria monocytogenes* est un germe à multiplication intracellulaire qui pousse à 4°C ; c'est ce qui le rend dangereux et hautement pathogène [31].

La contamination par *Listeria monocytogenes* peut survenir de deux façons [31] :

- Contamination alimentaire : tous les aliments conservés au froid peuvent être contaminés (légumes, poissons fumés, gâteaux à la crème, fromages fermentés en cave, etc.)
- Contamination direct : contamination des agriculteurs et des vétérinaires par les produits d'avortement des bovins.

#### **IV-2- *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* est un cocci (coque) à Gram positif qui se trouve sous forme d'amas. C'est un germe ubiquitaire très résistant, il se trouve dans l'environnement ; dans l'air, l'eau, le sol et dans les aliments ; chez l'homme et les animaux : la peau et les muqueuses (nasale, périnée, oropharynx) [31]. En outre, il y a 25% de porteurs sains permanents chez l'homme et 25% de porteurs occasionnels. Il se transmet de trois façons [31] :

- Par manuportage,
- Transmission indirecte : matériels hospitaliers, stéthoscopes,
- Par l'alimentation.

*S.aureus* peut provoquer [31] :

- Des lésions suppuratives et nécrotiques : peau et muqueuse (furoncle), os (ostéomyélite), arthrites, tissus.
- Des septicémies et des endocardites.
- Des pneumopathies secondaires ou nosocomiales.
- Des intoxications alimentaires dues aux entérotoxines.

- Le syndrome toxique (toxic shock syndrome).

#### **IV-3- *Micrococcus luteus***

*Micrococcus luteus* est une bactérie Gram-positif, sphérique, de 0,5 à 3,5 µm de diamètre, immobile, ubiquitaire, formant des amas irréguliers, parfois des tétrades. Elle est généralement anaérobie stricte et peut réduire le nitrate en nitrite [32].

Très fréquent dans le sol, souvent comme germe procaryote majoritaire, *M. luteus* est présent dans tous les types de sol, dans l'air, dans les eaux, dans les poussières et dans les lieux jusqu'à très acides ou à forte salinité. Il a été également isolé sur la peau de l'homme et d'animaux, où il fait partie de la flore, ainsi que dans les produits laitiers et la bière [32].

Bien que *M. luteus* soit un germe non pathogène et qu'il cause rarement des infections, il est considéré comme pathogène émergent opportuniste des patients immunodéprimés. Les patients avec un système immunitaire compromis présentent des infections cutanées chroniques, chocs et arthrites septiques, endocardites, méningites et des pneumonies causées par cette bactérie [33].

#### **IV-4- *Enterococcus faecalis***

*E. faecalis* est un cocci à Gram positif en diplocoque et est sous forme d'une très courte chaîne. C'est une bactérie commensale, présente dans l'intestin [31]. Elle peut provoquer [31] :

- Des infections urinaires
- Des endocardites (dans 10% des cas)
- Des septicémies chez le neutropénique

- Des infections pluri-microbiennes souvent associées à des bactéries anaérobies
- Des abcès péritonéaux.

#### **IV-5- Généralités sur le genre *Streptococcus***

Le genre *Streptococcus* regroupe de nombreuses espèces coccus à Gram positif en diplocoque et chaînette et qui sont aéro-anaérobies avec des métabolismes fermentatifs. Les bactéries du genre *Streptococcus* se trouvent dans plusieurs habitats : muqueuse respiratoire, intestins et peau. Ce sont des hôtes normaux ou pathologiques de l'homme et des animaux [31].

#### **IV-6- *Escherichia coli***

*Escherichia coli* est un bacille gram négatif asporulé, souvent mobile de la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un hôte normal ou pathologique de l'homme et des animaux, il est très résistant dans le milieu extérieur et c'est un indicateur de pollution fécale [31].

Il se transmet le plus souvent par [31] :

- Contamination alimentaire et par les produits à usage humain
- Manuportage en milieu hospitalier.

*E.coli* pathogène provoque [31] :

- Des infections extra-intestinales : infections urinaires (chez la femme), infections abdominales, infections méningées néo-natales et des septicémies avec choc septique.
- Des infections intestinales : diarrhées infectieuses, notamment les épidémies de gastro-entérites infantiles dans les pays sous-développés.

#### **IV-7- Généralités sur le genre *Salmonella***

Ce sont des bacilles à Gram négatif asporulés. Les bactéries du genre *Salmonella* sont des hôtes pathologiques de l'homme (exclusivement pour *Salmonella* majeures), mais il existe des porteurs sains. Ils peuvent également être des hôtes normaux de l'intestin des animaux [31].

Le germe se transmet par [31] :

- Contamination alimentaire pour les salmonelloses mineures.
- Contamination par voie orale et souvent hydrique (eau de boisson) pour les salmonelloses majeures.

Les bactéries du genre *Salmonella* provoque [31] :

- Des fièvres typhoïdes
- Des septicémies à point de départ digestif : les bactéries traversent la muqueuse intestinale jusqu'aux ganglions mésentériques puis passent dans le sang.
- Diarrhées et vomissements.

#### **IV-8- *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa*, communément appelé bacille pyocyanique est un bacille à Gram négatif mobile. C'est une bactérie qui est répandue dans la nature, vivant dans l'eau et dans le sol, on les retrouve également dans les hôpitaux : dans les endroits humides, siphons de lavabos notamment. Elles font aussi partie de la flore de transit de l'homme (on les retrouve dans le tube digestif) [31].

Concernant la transmission, la colonisation humaine se fait par l'eau et par le manutentionnement à partir des colonisations digestives [31].

C'est une bactérie pathogène opportuniste, responsable d'infections nosocomiales pouvant revêtir une allure épidémique ; les malades immunodéprimés, les patients avec une maladie grave sous jacente (cancer, hémopathie) et les brûlés y sont particulièrement sensibles. Les plaies opératoires, les voies urinaires et les voies respiratoires sont des portes d'entrée fréquentes. Les trachéotomies, la respiration assistée, les perfusions intra veineuses et les cathéters urétraux sont aussi des causes favorisantes. Il est à noter également que les souches muqueuses (produisant une capsule épaisse) colonisent l'arbre respiratoire des patients atteints de mucoviscidose ou de dilatation des bronches [31].

#### **IV-9- *Klebsiella pneumoniae***

*Klebsiella pneumoniae* est le principal représentant du genre *Klebsiella*. Ce sont de gros bacilles à Gram négatif, en forme de bâtonnet court de 1 à 2µm sur 0,3, ils sont polymorphes, parfois cocciformes, immobiles, entourés d'une capsule et appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* [32].

Les *Klebsiella* sont très répandues dans la nature. On les retrouve dans l'eau, le sol, la poussière. Ce sont aussi des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux [34].

*Klebsiella pneumoniae* est responsable d'infections opportunistes chez des malades hospitalisés [34] :

- Infections broncho-pulmonaires en réanimation qui évoluent parfois sur un mode épidémique.
- Infections urinaires souvent consécutives à des manœuvres instrumentales.
- Infections généralisées (septicémies ou bactériémies), qui peuvent être responsables d'un choc endotoxinique. Le taux de mortalité est alors élevé.
- Infections méningées post-traumatiques ou post-chirurgicales.

#### **IV-10- *Aeromonas***

Le genre *Aeromonas* appartient à la famille des *Aeromonadaceae*. Ce sont des bacilles droits à extrémités arrondies, à coccoïdes, à coloration Gram négatif, mobiles, anaérobies facultatifs [35].

Ces bactéries sont présentes dans les eaux douces, les eaux d'égouts, les sédiments. Leur multiplication est fonction de la température, du pH et de la teneur en éléments nutritifs. Les *Aeromonas* sont présents chez de nombreux animaux comme les sangsues, les grenouilles, les poissons, les reptiles, les oiseaux qui peuvent contaminer l'eau et les aliments. La présence d'*Aeromonas* est signalée dans divers aliments : huîtres, moules, coquillages, crevettes, volailles, viandes, lait cru, crèmes glacées et crudités, contaminés par le portage intestinal de l'animal ou par les eaux souillées [35].

Elles peuvent être pathogènes chez l'homme chez qui elles provoquent des gastro-entérites [35].

#### **IV-11- *Citrobacter***

Les bactéries du genre *Citrobacter* sont des bacilles droits appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bactéries à Gram négatif. Elles peuvent être présentes dans l'eau, les égouts, les aliments et le tube digestif des humains et des animaux. Ces derniers constituent donc les hôtes de ces bactéries [36].

Toutes les espèces, à l'exception de *Citrobacter rodentium*, peuvent être isolées de prélèvements cliniques chez l'homme, elles sont considérées comme des bactéries pathogènes opportunistes et la plupart de ces infections sont d'origine nosocomiale [36].

## **V- GENERALITES SUR LES LEVURES ET MOISSISSURES ETUDIEES**

### **V-1- *Saccharomyces cerevisiae***

*Saccharomyces cerevisiae*, appelée « levure de boulanger » ou « levure de bière » est une levure (cellule eucaryote) formant des cellules libres et ovalaires de 1 à 6  $\mu\text{m}$  de large pour 7 à 50  $\mu\text{m}$  de long [32].

Elle forme 1 à 4 spores, peut assimiler 95% de sucre (glucose) selon l'unique voie de la glycolyse en anaérobiose. Son activité fermentaire est maximale à pH compris entre 4,5 et 5 [32].

### **V-2- *Candida albicans***

*Candida albicans* est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. Elle se présente sous forme de cellules ovales ou rondes de 3 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, non sporulées, bourgeonnantes, parois minces [32]

Organisme vivant à l'état naturel sur la peau, dans la bouche et le tube digestif de l'être humain [32], *C. albicans* est une levure saprophyte des muqueuses, qui en diverses occasions (modification du pH local, déséquilibre de la flore banale par antibiothérapie), peut devenir pathogène. Les manifestations sont très variables : cutanées, digestives, pulmonaires, urinaires, cardiaques, au niveau des muqueuses (muguet) et parfois provoque des septicémies graves [37].

### **V-3- *Aspergillus niger***

*Aspergillus niger*, champignon Ascomycète, est une moisissure à thalle mycélien cloisonné dont les nombreux conidiphores dressés et non ramifiés, sont souvent terminés en vésicules. Contaminant banal et très répandu, cette moisissure est porteuse de conidies [32].

La multiplication d'*Aspergillus niger* chez l'homme entraîne l'aspergillose. La maladie est cosmopolite, le champignon se trouvant sur de nombreux végétaux et parasitant de nombreux animaux. L'homme est contaminé par inhalation du champignon ou par inoculation par piqûre. L'aspergillose est surtout une maladie pulmonaire, survenant d'emblée ou secondaire à une lésion préexistante [37].

### **V-4- *Rhizopus stolonifer***

*Rhizopus stolonifer* est une moisissure (Zygomycètes) Mucorale du sol (cultivé essentiellement) et de nombreux milieux des régions tempérées dont la croissance du thalle est particulièrement rapide. Elle forme des stolons ; sporanges sphériques dressés ; spores rondes ; rhizoïdes [32].

*Rhizopus stolonifer* est un agent de toxicoses, il donne aux produits alimentaires colonisés un aspect cotonneux parsemés de sporanges noirs [38].

## *Chapitre II :*

### *Matériel et méthodes*

## **I- Matériel végétal**

La matière végétale utilisée a été cueillie à différents stades de développement, à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger.

## **II- L'échantillonnage**

La méthode utilisée pour échantillonner la matière végétale est la méthode du quartage. Elle consiste à étaler le lot de plante sur une surface de sorte à former un carré auquel on tracera ses diagonales. Il en résultera quatre (04) triangles ; ensuite on prend les triangles opposés qu'on va ré-étaler en formant un carré et ainsi de suite jusqu'à obtenir la masse de matière végétale souhaitée.

## **III- Extraction de la concrète**

Avant de parler de l'extraction, définissons d'abord ce qu'est une concrète :

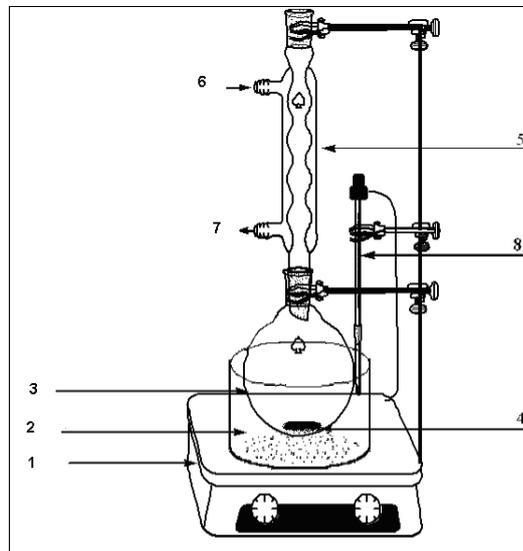
Une concrète est ce que l'on obtient à partir de l'extraction des matières végétales par solvant volatile, à chaud ou à froid. Elle se présente sous un aspect pâteux et coloré. Les concrètes sont composées de plusieurs sous-produits, dont les cires, les tannins et les colorants.

L'extraction de la concrète à l'éthanol a été réalisée en charge dispersée (batch), à l'aide d'un appareillage composé d'un ballon thermostaté à deux cols qui repose sur une plaque d'agitation magnétique et surmonté d'un réfrigérant (figure 2).

Suite à l'étude de la cinétique d'extraction, la durée de tous les essais a été fixée à 3 heures. La masse de matière végétale utilisée est égale à 10 g, immergée dans un volume de 300 ml d'éthanol.

Il est à noter que la matière végétale a été préalablement séchée à température ambiante à l'abri du soleil et de l'humidité.

Après extraction, la concrète est récupérée après évaporation de l'éthanol à l'aide d'un évaporateur rotatif.



**Figure 1 : Dispositif d'extraction en batch**

- 1- plaque agitatrice
- 2- bain-marie
- 3- ballon + matière végétale + solvant
- 4- barreau magnétique
- 5- réfrigérant
- 6- entrée d'eau de refroidissement
- 7- sortie d'eau de refroidissement
- 8- thermomètre.

#### **IV- Calcul du rendement en concrète**

Le rendement en concrète est défini comme étant le rapport entre la masse de concrète obtenue après extraction et la masse de matière végétale sèche utilisée. Il est calculé par la relation suivante :

$$R_C = \frac{M_C}{M_S} 100 [47]$$

MC : la masse de concrète (g)

MS : la masse de matière végétale sèche (g)

$$M_S = (1-H)M_H$$

H : le taux d'humidité de la plante (%), déterminé par la méthode de distillation au xylène.

M<sub>H</sub> : la masse humide de la plante (g)

#### **V- Dosage des polyphénols totaux**

Il a été procédé au dosage des polyphénols totaux en utilisant la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés. La mesure de cette dernière se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm.

#### **VI- Activité antioxydante**

Le pouvoir antioxydant de nos extraits a été testé par la méthode du DPPH (diphénylpicrylhydrazyl). C'est un radical coloré commercial très commode pour une

première estimation de la capacité d'un antioxydant à transférer des atomes H labiles vers une espèce radicalaire.

## **VII- Activité antimicrobienne**

Les tests antibactériens et antifongiques ont été réalisés sur des souches provenant du laboratoire Sciences et Techniques de l'Environnement de l'Ecole Nationale Polytechnique. Elles étaient conservées sur gélose inclinée ; nous avons procédé à des repiquages sur bouillon nutritif en tubes. Voici la liste des bactéries et des champignons utilisées :

### **Bactéries Gram+ :**

- *Listeria monocytogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- *Micrococcus luteus*
- *Enterococcus faecalis*
- *Streptococcus faecalis*

### **Bactéries Gram- :**

- *Escherichia coli*
- *Escherichia coli*
- *Salmonella typhimurium*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Aeromonas*
- *Citrobacter youngae*

### **Levures :**

- *Saccharomyces cerevisiae*
- *Candida albicans*

### **Moisissures :**

- *Aspergillus niger*

- *Rhizopus stolonifer*

## **VII-1- Aromatogramme**

L'aromatogramme, est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Cet examen est donc l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles.

### **VII-1-1- Méthode par diffusion**

Afin de tester l'activité antimicrobienne de nos extraits, nous procédons à la méthode par diffusion selon le protocole décrit par Meena et Sethi (1994).

On réalise également l'ensemencement d'une culture témoin pour chaque souche bactérienne ; on procède de la même façon sauf pour l'extrait qui est remplacé par du méthanol.

L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle de mesure qui classe le pouvoir antimicrobien en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 4 classes [40] :

Fortement inhibitrice :  $D > 28\text{mm}$ .

Modérément inhibitrice :  $16 < D < 28\text{mm}$ .

Légèrement inhibitrice :  $10 < D < 16\text{mm}$ .

Non inhibitrice :  $D < 10\text{mm}$ .

### **VII-1-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la concentration de concrète la plus faible à laquelle il n'y a pas de croissance visible.

Ainsi, la CMI est la concentration de concrète solubilisée dans le premier tube ne présentant pas de croissance visible. C'est le paramètre le plus souvent utilisé car c'est avec lui que les corrélations cliniques ont été les mieux établies [41].

### **VII-1-3- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) est la concentration de concrète la plus faible à laquelle il n'y a que 0,1 ou 0,01% de bactéries survivantes [41].

### **VII-2- Antibiogramme**

L'antibiogramme a été effectué en ensemençant 100 µl de suspension bactérienne sur boîtes de Pétri et on y déposant stérilement les disques d'antibiotiques. Les disques ont été disposés de sorte à former un triangle et ce afin d'éviter le chevauchement des diamètres de chacun.

La lecture se fera après la période de 24 heures d'incubation et, comme pour la méthode des puits, il faudra effectuer une mesure de diamètres d'inhibition qui permettra de déterminer les sensibilités de chaque souche vis-à-vis des antibiotiques employés.

Après avoir noté les résultats des diamètres d'inhibition, nous comparerons ceux-ci aux diamètres mesurés sur l'aromatogramme et ce afin de déterminer le pouvoir qu'a notre concrète à inhiber la croissance des micro-organismes.

Voici la liste des antibiotiques utilisés :

Antibiotique	Abréviation
Pénicilline	PEN
Amoxicilline	AMX

Colistine	CS
Streptomycine	S
Ampicilline	AM
Métronidazole	MTR

# *Chapitre III :*

## *Résultats et Discussion*

## I- Extraction de la concrète

### I-1- Cinétique d'extraction

Afin de pouvoir déterminer la meilleure durée d'extraction, c'est-à-dire celle qui nous donne le meilleur rendement, nous avons procédé à une cinétique d'extraction discontinue avec les bractées du mois de Mars et celles du mois d'Avril pour confirmation. Ensuite, nous avons tracé les courbes d'évolution du rendement en fonction de la durée. Rappelons que le rendement est le rapport entre la masse de concrète obtenue après évaporation et la masse de matière végétale sèche.

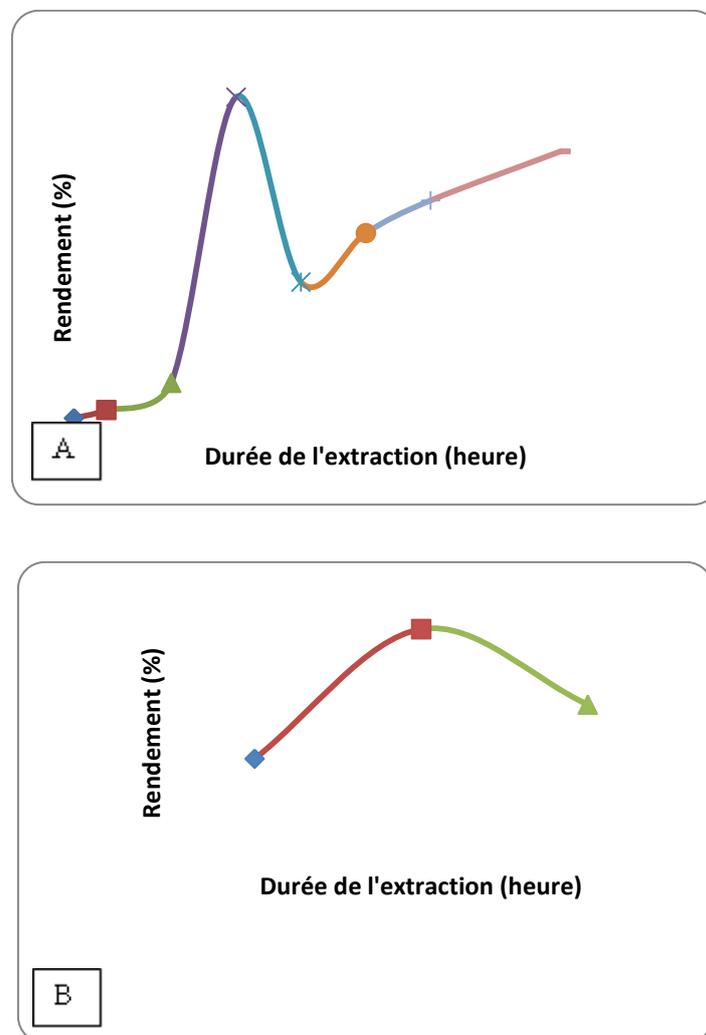


Figure 1 : Cinétique d'extraction des bractées des mois de Mars et d'Avril

A : Bractées du mois de Mars B : Bractées du mois d'Avril

Nous observons que dans les deux cas, le rendement le plus élevé est obtenu pour une durée d'extraction égale à 3 heures. Ceci s'explique par le fait qu'au début, on a une nette augmentation du rendement car la concrète est extraite des sites situés en surface de la plante. L'augmentation continue et correspond à la diffusion de l'huile à l'intérieur des pores, lesquels ont été remplis de solvant.

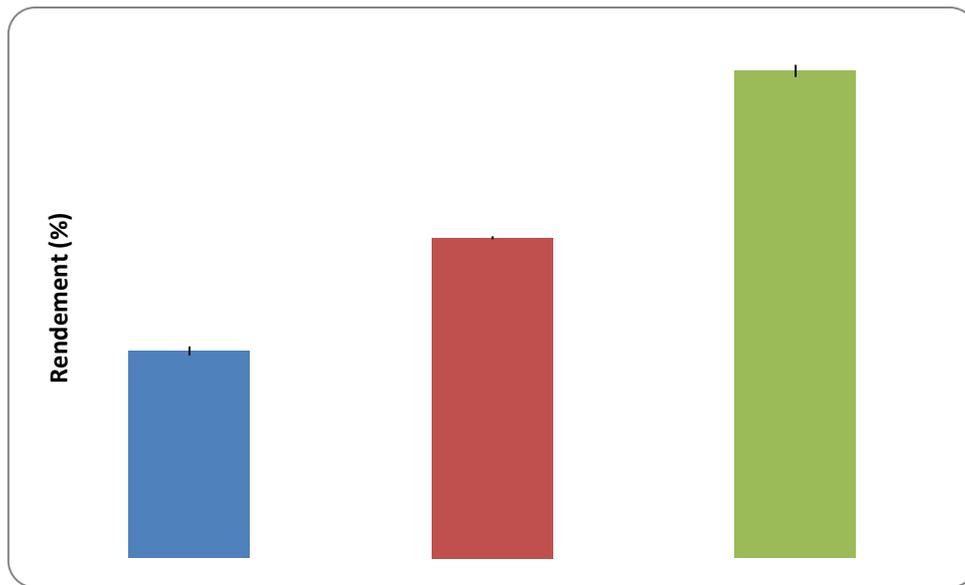
Après deux heures d'extraction, l'accroissement du rendement se fait de moins en moins prononcé jusqu'à atteindre un point d'équilibre à 3 heures. Au cours de cette étape, l'écoulement du solvant contenu dans les pores capillaires est très lent, du fait de leurs dimensions très petites, et par conséquent c'est cet écoulement qui impose sa loi de vitesse au processus durant cette étape et non la diffusion.

Au-delà de trois heures, nous observons une inversion de la force motrice du processus, ceci peut être dû à des transformations importantes au sein du milieu végétal.

Ce schéma a été de nombreuses fois retrouvé et c'est **Benyoussef [42]** et **Angelidis [43]** qui l'illustrent le mieux.

## **I-2- Extraction à partir des bractées**

La figure 5 représente l'évolution des rendements d'extraction des concrètes en fonction des mois où les bractées ont été cueillies.



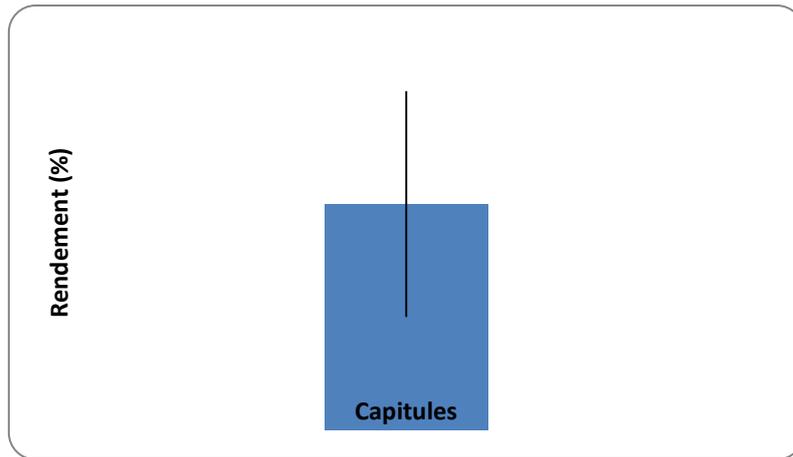
**Figure 2 : Rendement des extractions des bractées en fonction du mois de cueillette**

Nous remarquons que le rendement évolue de façon croissante d'un mois à l'autre avec un pic à 3,27% au mois de Mai. Cela s'explique par le fait que les bractées se développent au fur et à mesure du cycle de croissance de *C. cardunculus* : au mois de Mars, on a à faire à des bractées petites, chétives et grises. Alors qu'au mois d'Avril, elles sont un peu plus verdoyantes et épaisses, d'où la légère augmentation du rendement.

Par contre, au mois de Mai, la plante atteint presque son stade de croissance final, avec la formation des capitules. On observe que les bractées sont vertes et charnues. Ce stade de développement correspond donc à un rendement maximum d'extraction de concrète.

### **I-3- Extraction à partir des capitules**

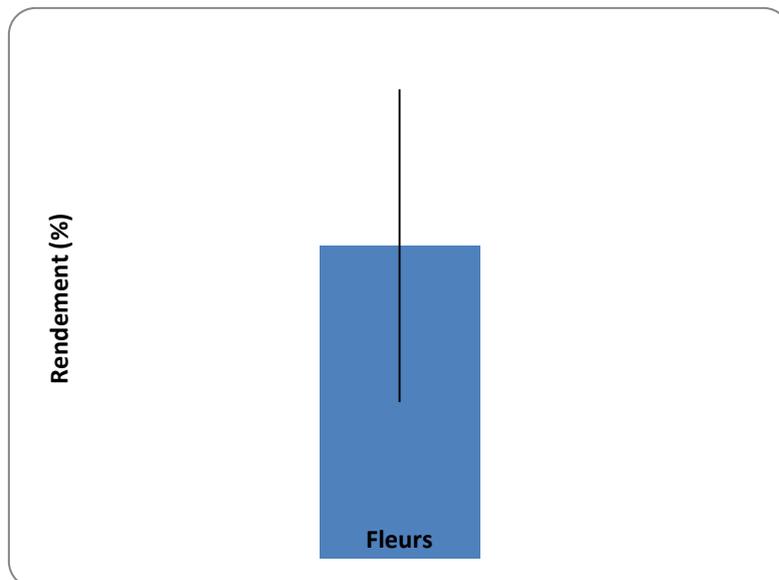
Les capitules, c'est-à-dire les têtes d'artichaut sauvage qui se trouvent au bout des cardons ont subi une extraction suivant le même protocole que les bractées, et qui est décrit en chapitre 2.



**Figure 3 : Rendement de l'extraction de la concrète à partir des capitules**

A une même durée d'extraction (3 heures), nous remarquons que le rendement des capitules qui est de 1,22% est plus faible que celui des bractées.

#### **I-4- Extraction à partir des fleurs**

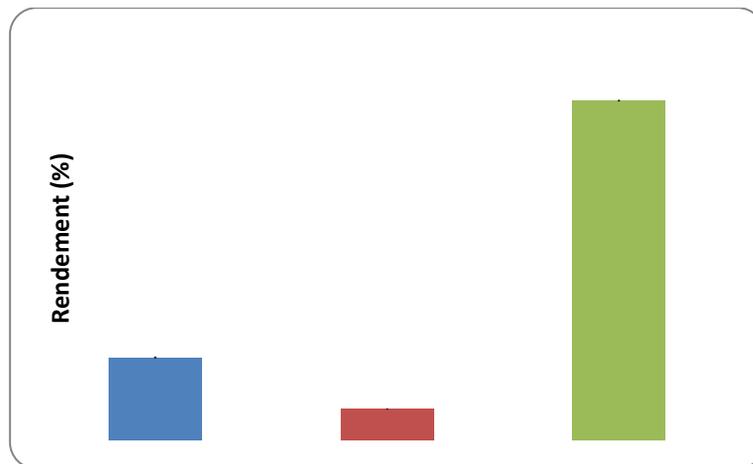


**Figure 4 : Rendement de l'extraction de la concrète à partir des fleurs**

Les fleurs ont donné un rendement bien supérieure à 10% (13,48% plus exactement) et beaucoup plus de concrète que les bractées et les capitules, cela était très nette au moment de récupérer la concrète. En effet, après évaporation complète de l'éthanol des extraits, nous avons obtenu une pâte consistante que l'on a pu récupérer avec du méthanol ; alors qu'avec

les bractées et les capitules, nous n'avons eu qu'un très léger résidu sur les parois des ballons d'évaporation (que l'on a également récupéré avec du méthanol). On en conclut que la fleur est la partie de la plante la plus riche en concrète.

#### I-5- Comparaison des rendements des différentes parties de la plante



**Figure 5 : Comparaison des rendements des parties de *C. cardunculus***

Si l'on compare les résultats obtenus et qui sont mis en évidence dans la figure 7, nous constatons que la fleur donne 4 fois plus de concrète que les bractées et 13 fois plus que les capitules.

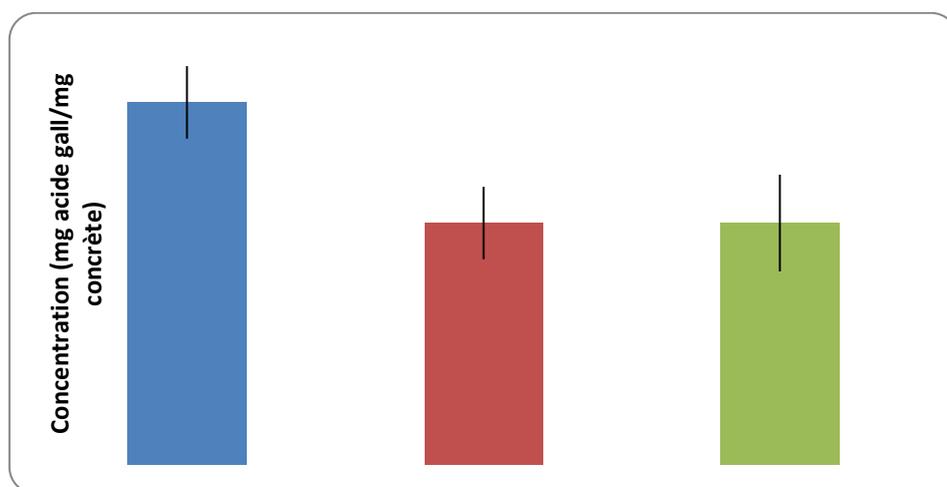
Cette différence notable de rendements serait liée au nombre de sites actifs plus élevé dans les fleurs que les bractées et les capitules. Il y a aussi la structure des différentes parties ; en effet, les sites sécréteurs des fleurs doivent être plus accessibles que ceux des bractées et des capitules, et donc plus faciles à détruire lors de l'extraction par macération en batch.

## I-5- Dosage des polyphénols totaux

### I-5-1- Détermination des concentrations des concrètes en polyphénols

Avant de présenter les résultats, rappelons que les polyphénols sont des molécules organiques présentes dans les plantes ; ce sont des métabolites secondaires qui sont des antioxydants naturels.

#### I-5-1-1- Bractées

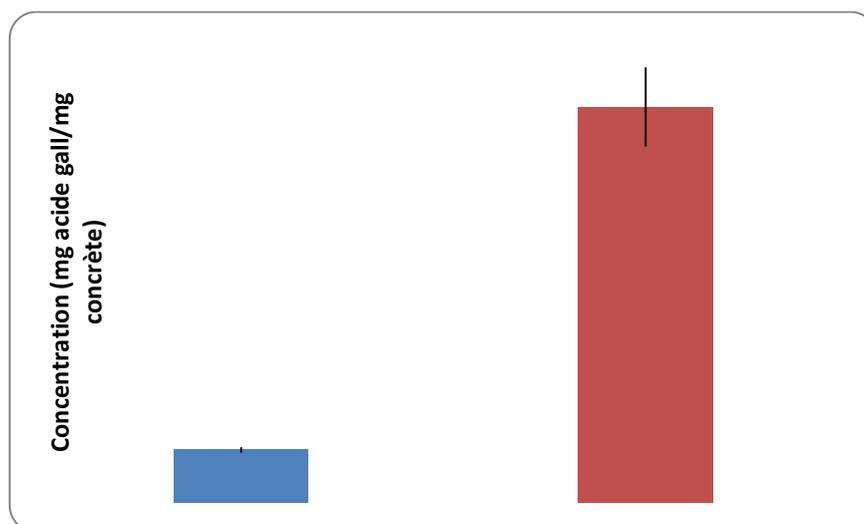


**Figure 6 : Evolution de la concentration des bractées en polyphénols en fonction des mois de cueillette**

Nous observons sur la figure 9 que l'évolution des concentrations des bractées en polyphénols n'est pas très importante, avec un meilleur rendement pour les bractées du mois de Mars.

Ces résultats concordent avec ceux trouvés par **Kukic et al.[17]** qui ont mené leurs investigations sur les bractées de *C. cardunculus*. En effet, après avoir effectué le dosage des polyphénols par le même réactif (Folin-Ciocalteu), une quantité de 0,026 mg d'acide gallique/mg de concrète a été trouvée.

### I-5-1-2- Capitules et fleurs



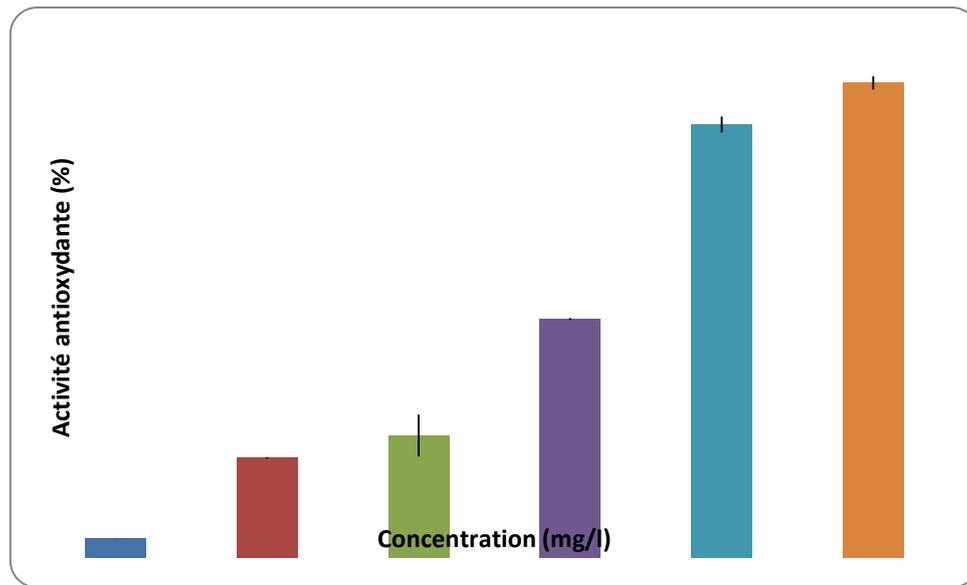
**Figure 7 : Concentration des capitules et des fleurs en polyphénols**

Les résultats montrent que les capitules sont moins concentrés en polyphénols que les bractées et les fleurs. Cela est tout à fait normal, puisque pour le dosage des polyphénols, nous avons utilisé des échantillons à 14 g/l pour les capitules, c'est-à-dire beaucoup moins concentrés que les bractées. Malgré une concentration de 1 g/l pour les fleurs, on trouve qu'elles ont autant de polyphénols que les bractées qui sont à 25 g/l ; ceci peut être expliqué par le fait que les fleurs contiennent plus de polyphénols que les autres parties de *C. cardunculus*.

### I-6- Activité antioxydante

#### I-6-1- les fleurs

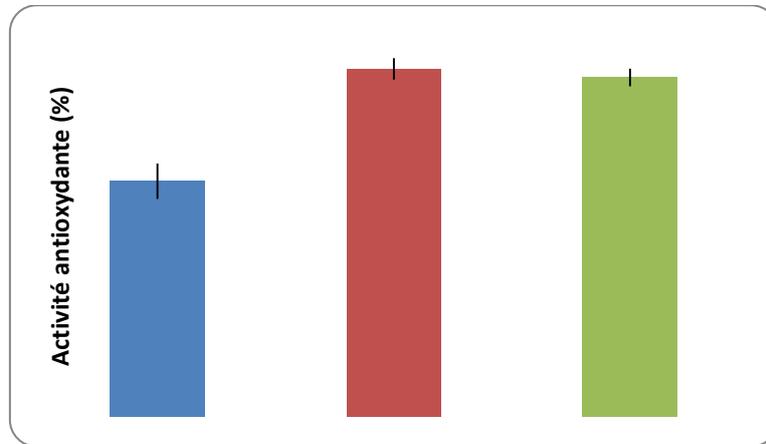
Afin de déterminer l'activité antioxydante des différentes parties de *C. cardunculus*, nous avons procédé à la méthode du test au DPPH. Les résultats sont illustrés par la figure 10.



**Figure 8 : Evolution de l'activité antioxydante des fleurs en fonction de la concentration**

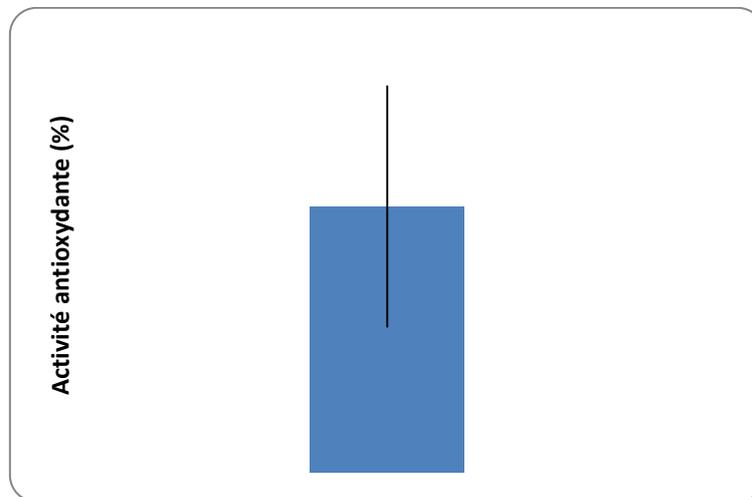
Les résultats obtenus concernant l'activité antioxydante des fleurs sont très bas. En effet, avec un rendement maximum de 36,46% les fleurs de *C. cardunculus* se classent très loin sur l'échelle des plantes à vertus antioxydantes. Pour exemple, l'huile essentielle de lavande, à une concentration de 1000 mg/l, a une activité antioxydante égale à 63,01% [44], et l'huile essentielle de thym en est à 91% avec une concentration de 1000 mg/l [45]. Autre exemple, celui du cumin, qui après une série d'extractions au méthanol, puis au butanol a montré une activité de 94,55% [46]. Il n'est pas exclu que cette faible activité antioxydante obtenue serait liée au solvant d'extraction utilisé.

### I-6-2- Résultats des bractées



**Figure 9 : Evolution de l'activité antioxydante des bractées en fonction des mois de cueillette**

### I-6-3- Résultat des capitules



**Figure 10 : Activité antioxydante des capitules**

L'activité antioxydante des fleurs est relativement supérieure à celle des capitules et des bractées, car le rendement de 36,46% des fleurs n'a été obtenu qu'avec une concentration d'échantillon de 1g/l, alors que pour les bractées et les capitules, des résultats maximum de

35,51 et 25,48% ont été trouvés avec des concentrations d'échantillons de respectivement 25 et 14g/l.

Cela montre aussi que les polyphénols contenus dans les fleurs jouent un rôle plus important dans l'activité antioxydante que ceux qui sont présents dans les bractées et les capitules.

Il est clair, après avoir comparé avec les activités d'autres plantes, que *C. cardunculus* montre une activité antioxydante très faible et cela est certainement dû à l'extraction à l'éthanol. En effet, la plante a indéniablement un potentiel, mais nous avons constaté que les huiles qui ont donné d'excellents résultats ont été extraites par une succession de solvants organiques volatiles et non pas par un seul [17].

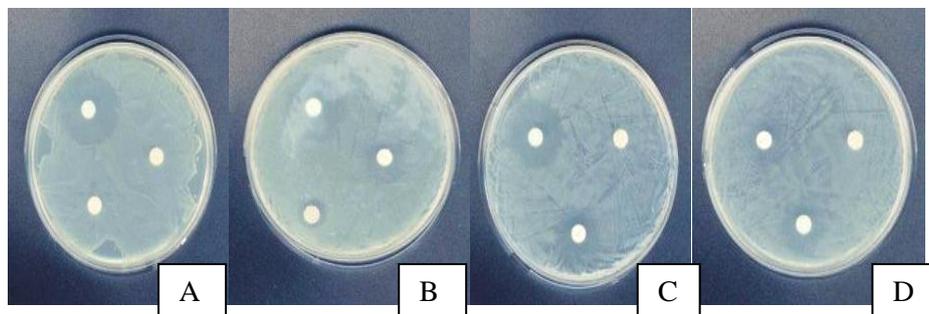
### I-7- Antibiogramme

A titre de comparaison, chaque souche a subi les tests avec les six antibiotiques que l'on retrouve en Annexe 5. Après incubation nous avons mesuré les diamètres moyens des zones d'inhibition de chaque antibiotique afin de pouvoir les comparer aux activités antimicrobiennes de nos extraits.

**Tableau 2 : Antibiogramme**

	Souche bactérienne	Diamètres moyen d'inhibition (mm)					
		P	AMX	MTR	S	AM	Cs
Bactéries Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	20 ± 0	25,33±1,52	6±0	8,33±0,5 7	6±0	6±0
	<i>Micrococcus luteus</i>	22,66±3,21	27,00±1,73	6±0	7±0	23±1	6±0

	<i>Enterococcus faecalis</i>	15,33±0,57	29±1	6±0	10±0	25±3	6±0
	<i>Streptococcus faecalis</i>	12,33±0,57	19,33±1,54	6±0	8,66±0,5 7	21,66±0,57	6±0
Bactéries Gram -	<i>Escherichia coli</i>	13,66±0,57	15,66±0,57	6±0	10,6±0,5 7	19,33±1,15	7±0
	<i>Escherichia coli</i> <i>Ala</i>	9±0	6±0	9±0	7±0	6±0	7±0
	<i>Salmonella typhimurium</i>	11,33±0,57	23±1	6±0	9,33±0,5 7	19,66±0,57	8±0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23,33±0,57	22,66±3,21	6±0	10±0	25±1	6±0
	<i>Citrobacter</i>	8,33±1,15	23,66±1,15	10±0	9±0	17±0	7,66±0,57
	<i>Aeromonas</i>	6±0	16,33±1,15	6±0	10,66±0, 57	6±0	8,33±0,57
	<i>Klebsiellapneumoniae</i>	6±0	6±0	6±0	18±1	6±0	6±0



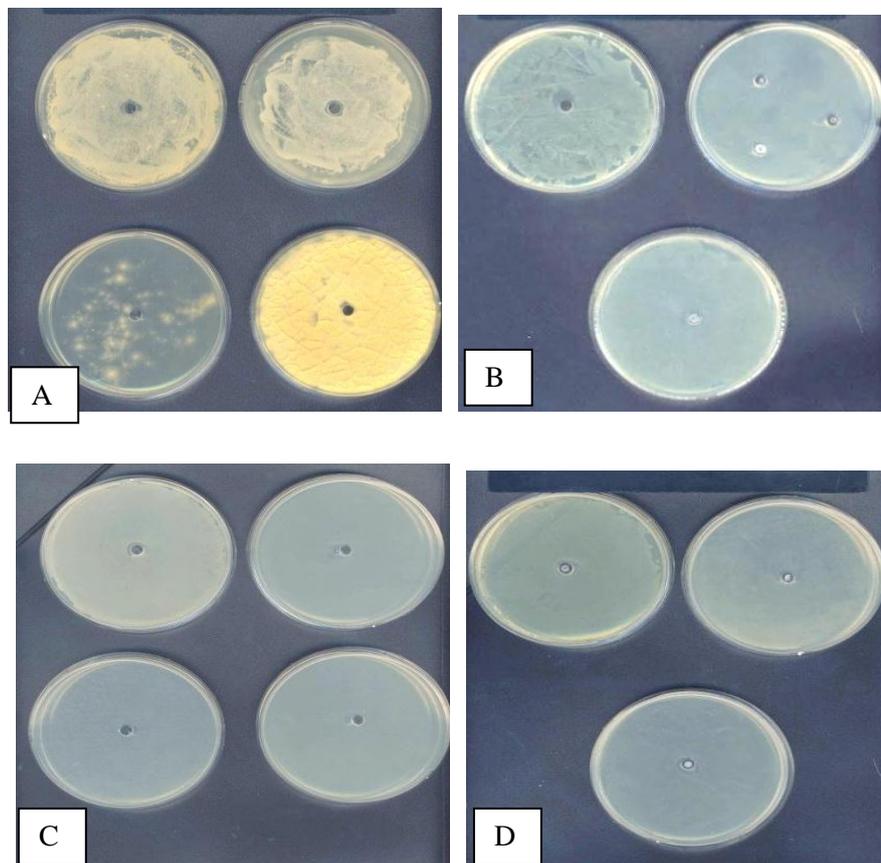
**Figure 11 : Antibiotogramme A : *Enterococcus faecalis* B : *Listeria monocytogenes* C :**

***Pseudomonas aeruginosa* D : *Escherichia coli***

Le tableau 2 regroupe tous les diamètres d'inhibition qui ont été trouvés à l'issue de l'antibiogramme. Ce que l'on remarque est que la Pénicilline et l'Amoxicilline ont un effet modérément inhibiteur sur presque toutes les souches bactériennes testées et que la Colistine n'a pratiquement aucun pouvoir inhibiteur sur les bactéries.

### I-8- Activité antimicrobienne

Chaque partie de *C. cardunculus* a été testée par la méthode des puits suivant le protocole énoncé dans le chapitre 2, et mis à part une petite activité contre *Saccharomyces cerevisiae*, aucun extrait n'a montré d'inhibition vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques testées.



**Figure 12 : Activité antimicrobienne des extraits de *C. cardunculus* A : Capitules *Saccharomyces* B : Bractées *Saccharomyces* C : Fleurs, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Salmonella* D : Fleurs, *Streptococcus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa***

La figure 14 nous montre qu'il n'y a aucune zone d'inhibition, que ce soit pour les moisissures ou les bactéries et quel que soit l'extrait utilisé.

L'absence totale de pouvoir antimicrobien s'explique par le procédé d'extraction employé. En effet, la simple extraction batch par macération dans l'éthanol ne semble pas extraire les composés clés qui permettent d'obtenir des effets d'inhibition, voire des effets bactéricides contre certaines souches microbiennes. Cette explication est confirmée par l'étude menée par **Kukic et al. [17]** qui, eux, ont constaté que les extraits des bractées ont une activité antimicrobienne inhibitrice et même bactéricide à des concentrations allant de 0,03 à 0,10 mg/ml de concrète, et dans ce cas l'extraction à l'éthanol a été suivie par un fractionnement avec de l'acétate d'éthyle, du butanol et du chloroforme.

# *Conclusion générale*

Il y a de nos jours un intérêt grandissant pour l'utilisation des matières naturelles et biologiques, surtout dans le secteur de l'agroalimentaire. De plus en plus, l'homme tente de retourner à ses racines et de peu à peu abandonner l'artificiel, qui de jour en jour révèle ses défauts et ses effets secondaires pouvant entraîner des gênes, voire des maladies graves.

A grands renforts de publicités tapageuses et de slogans bien faits, les entreprises s'engouffrent dans le business du « bio » et tentent de proposer des produits aussi fidèles que ceux fabriqués auparavant avec des produits chimiques, mais avec des éléments naturels qui ont poussé sans l'utilisation d'engrais organiques.

C'est dans cette optique qu'un bon nombre d'études se sont faites ces dernières années et qui ont pour objectif la mise au point de tels produits sans qu'il y ait des manquements aux normes qu'elles soient qualitatives ou sanitaires.

L'objectif de notre étude était l'évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des différentes parties de *C. cardunculus* dans le but de trouver une valeur ajoutée à son utilisation en tant qu'agent de coagulation du lait.

Nous avons trouvé que les extraits des fleurs, des bractées et des capitules n'avaient pas d'activité antimicrobienne. Quant à l'activité antioxydante, elle était de l'ordre de 25-36% avec une valeur maximale attribuée aux extraits des fleurs

Le travail que nous avons réalisé nous a également permis de tirer des conclusions concernant les perspectives d'avenir pour *C. cardunculus*. En effet, le potentiel antioxydant et antimicrobien de cette plante est indéniable ; (plusieurs études ont observé une activité antimicrobienne) et ce que nous proposons pour développer et enrichir ce travail est de faire non plus une simple extraction à l'éthanol mais une série d'extractions avec plusieurs solvants volatiles et ce afin de récupérer des composés plus actifs biologiquement. Il faudrait également procéder à une analyse par chromatographie des constituants obtenus après

extraction pour avoir une meilleure idée des polyphénols qui interviennent dans les activités biologiques.

*Références  
bibliographiques*

- [1] E. Portis, A. Acquadro, D. Lee, P. Donini, S. Lanteri, Development and characterization of microsatellite markers in *Cynara cardunculus* L. 2005.
- [2] J. Gominho, H. Pereira, An overview of the research on the pulping aptitude of *Cynara cardunculus* L. 2001.
- [3] J. Fernandez, M.D. Curt, State of the art of *Cynara cardunculus* L. as an energy crop, 2006.
- [4] J. Fernandez, M.D. Curt, P.L. Aguado, Industrial applications of *Cynara cardunculus* L. for energy and other uses. *Industrial Crops and Products*, 24, 222–229, 2006.
- [5] N. Mulinacci, D. Prucher, M. Peruzzi, A. Romani, P. Pinelli, C. Giaccherini, Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34, 349-357, 2004.
- [6] M.C. Alamanni, M. Cossu, Antioxidant activity of the extracts of the edible part of artichoke var spinoso sardo, *Italian Journal of Food Science*, 15, 187-195, 2003.
- [7] F. Fratianni, M. Tucci, M. De Palma, R. Pepe, F. Nazzaro, Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke, *Food Chemistry*, 104, 1282-1286, 2007.
- [8] P. Pinelli, F. Agostini, C. Comino, S. Lanteri, E. Portis, A. Romani, Simultaneous quantification of caffeoyl esters and flavonoids in wild and cultivated cardoon leaves, *Food Chemistry*, 105, 695-1701, 2007.
- [9] K. Schutz, D. Kammerer, R. Carle, A. Schieber, Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke, heads, juice and pomace by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4090-4096, 2004.
- [10] M. Wang, J.E. Simon, I. Fabiola Aviles, K. He, Q.Y. Zheng, Y. Tadmor, Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

51, 601-608, 2003.

[11] P. Valentao, E. Fernandes, F. Carvalho, P.B. Andrade, R.M. Seabra, M.L. Bastos, Antioxidative properties of cardoon infusion against superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4989-4993, 2002.

[12] Y.S. Kwon, E.Y. Kim, W.J. Kim, W.K. Kim, C.M. Kim, Antioxidant constituents from *Setaria viridis*, *Archives of Pharmacal Research*, 25, 300-305, 2002.

[13] S.D. Müller, S.B. Vasconcelos, M. Coelho, M.W. Biavatti, LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37, 399-403, 2005.

[14] J.E. Brown, C.A. Rice-Evans, Luteolin-rich artichoke extract protects low-density lipoprotein from oxidation in vitro, *Free Radical Research*, 29, 247-255, 1998.

[15] P. Mucaji, M. Bukovsky, D. Grancai, M. Nagy, Anticomplement activity of saponins from *Cynara cardunculus* L. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 52, 306-309, 2003.

[16] D. Grancai, P. Mucaji, M. Nagy, K. Ubik, Constituents of *Cynara cardunculus* L. IV. Flavonoid glucosides, *Farmaceuticky obzor*, 65, 255-256, 1996.

[17] J. Kukic, V. Popovic, S. Petrovic, P. Mucaji, A. Ciric, D. Stojkovic, M. Sokovic, Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts, *Food Chemistry*, 107, 861-868, 2008.

[18] Y. Nakajima, M. Shimazawa, S. Mishima, H. Hara, Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions, *Life Sciences*, 80, 370-377, 2007.

[19] A.J. Mossi, S. Echeverrigaray, Identification and characterization of antimicrobial components in leaf extracts of globe artichoke, *Acta Horticultrae*, 501, 111-114, 1999.

- [20] X. Zhu, H. Zhang, R. Lo, Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke and their antimicrobial activities, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7272-7278, 2004.
- [21] X. Zhu, H. Zhang, R. Lo, Y. Lu, Antimicrobial activities of *Cynara scolymus* L. leaf, head and stem extracts, *Journal of Food Science*, 70, M149-M152, 2005.
- [22] I. Aljancic, V. Vajs, N. Menkovic, I. Karadzic, N. Juranic, S. Milosavljevic, Flavones and sesquiterpene lactones from *Achillea atrata* subsp. *multifida*: antimicrobial activity, *Journal of Natural Products*, 62, 909-911, 1999.
- [23] Leybros, P. Frémeaux, « Extraction solide-liquide ». Technique de l'Ingénieur. Aspect théorique. J2780-2782, 1-21, Paris, 1990.
- [24] F. Stanley, M.D. Wainapel, M.P.H. Avital, M.D. Fast, Antioxidants and the Free Radical Theory of Degenerative Disease, *Alternative Medicine and Rehabilitation*, 2003.
- [25] D. Chen, K.G. Daniel, D.J. Kuhn, A. Kazi, M. Bhuiyan, L. Li, Green tea and tea polyphenols in cancer prevention, *Front Biosci*, 9, n° 2618, 2004.
- [26] L. Bezanger-Beauquesne, M. Pinkas, M. Torck, F. Trotin, Plantes médicinales des régions tempérées. Éd. Maloine, 1990.
- [27] M. Frankel, J. Laughton, *Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine*, *Lancet*, 341, 454-457, 1993.
- [28] C.W. Bamforth, *Beer haze*, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 57, 81-90, 1999.
- [29] P. M. Dewick, *The Biosynthesis of Shikimate Metabolites*, *Natural Product Reports*, 12, 579-607, 1995
- [30] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p. 2006.

- [31] Cours de Bactériologie, DCEM1, Faculté de Médecine de Nantes, 2007.
- [32] M. Bugnicourt, Dictionnaire de microbiologie générale. Ellipses édition marketing SA, 1995.
- [33] K.J. Smith, R. Neafie, J. Yeager, H.G Skelton, Micrococcus folliculitis in HIV-1 disease, British Association of Dermatologists, *British Journal of Dermatology*, 141, 558-561, 1999.
- [34] J.L. Fauchère, J.L. Avril, Bactériologie générale et médicale, Ellipses Marketing, 2002.
- [35] Les bactéries pathogènes d'origine hydrique : micro-organismes préoccupants courant et émergents, Santé Canada, 2008.
- [36] J.P Euzéby, Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire, 2000.
- [37] A. Domart, J. Bourneuf, Nouveau Larousse Médical, Edition Larousse, France, 1985.
- [38] A. Iguer, Etude comparative des activités antimicrobiennes de quelques extraits végétaux, Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 2009.
- [39] M.C. Beghdad, Etude Phytochimique et Activité Antioxydante de Quelques Espèces Végétales du Nord-Ouest Algérien, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, 2010.
- [40] M.R. Meena, V. Sethi, Antimicrobial activity of the essential oils from spices, *Journal of Food Sciences and Technology Mysore*, 31, 68-70, 1994.
- [41] P. Courvalin, R. Leclercq, E. Bingen, Antiobiogramme, Edition ESKA, 2006.
- [42] M.E.H Benyoussef, Etude du Procédé d'Extraction du Bois de Cèdre de l'Atlas Algérien par l'Hexane, Contribution à l'Etude Analytique des Extraits Obtenus, 1990.
- [43] O.M. Angelidis, Revue des oléagineux, n°8,9 Aout Sep 1968.
- [44] I. Laib, Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs, Université Mentouri de Constantine, 2011.

- [45] S. Bertouche, N. Sahraoui, C. Boutekdjiret, Extraction of Thyme (*Thymus pallecens* de Noé) essential oil by steam-distillation steam-diffusion and Hydro-distillation processes: Optimization of Operating Conditions and Antioxidant Activity, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2012.
- [46] S. Athamena, I. Chalghem, A. Kassah-Laouar, S. Laroui, S. Khebri, Activités Antioxydante et Antimicrobienne d'Extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11, 1, 2010.
- [47] S. Bertouche, Optimisation des procédés de récupération d'extraits naturels d'origine végétale, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, 2009.

## ملخص

كرس هذا العمل لتحديد الانشطة المضادة للاكسدة و المضادة للمكروبات للخرشف العربي من اجل تعزيز استخدامها في مجال التغذية. لقد تم في هذا العمل استخراج المستخلصات من عينات من الاوراق و الفواكه و الزهور.

قد اثبتت مستخلصات الزهور الاكثر فعالية ضد اكسدة المواد الدسمة ذلك ما يبرر استخدامها في مجال صناعة الجبن التقليدي.

الكلمات المفتاحية الخرشف العربي الاستخلاص بالمذيب الانشطة المضادة للاكسدة الانشطة المضادة للمكروبات.

## Résumé

Ce travail a été consacré à la détermination des activités antioxydante et antimicrobienne du cardon sauvage dans le but de valoriser son utilisation alimentaire. Nous avons extrait les concrètes des fleurs, des capitules, ainsi que des bractées qui ont été cueillies en Mars, Avril et Mai. Ces concrètes ont ensuite subi des tests afin de déterminer leur pouvoir antimicrobien et antioxydant. Les concrètes des fleurs se sont révélées les plus efficaces, ce qui a permis de conclure que les fleurs avaient une valeur ajoutée par rapport à leur emploi dans la production de fromage traditionnel, car les antioxydants contenus dans les extraits de fleurs constituent un agent de protection du produit contre le rancissement.

Mots clés : cardon sauvage, extraction par solvant, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

## Abstract

This work has been devoted to the determination of antioxidant and antimicrobial activities of wild cardoon in order to enhance its alimentation use. We extracted the concrete of flowers, capitula, and bracts that were picked in March, April and May. The concrete were then tested to determine their antioxidant and antimicrobial potency. Concrete flower have proven most effective, which concluded that the flowers had an added value to their use in the production of traditional cheese, because the antioxidants in the extracts of flowers are a protection agent for the product against rancidity.

Key words: wild cardoon, solvent extraction, antioxidant activity, antimicrobial activity.