



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجية الخلوية و الجزئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie / Nutrition Moléculaire et Santé

Intitulé :

Potentiel polyphénolique et applications Biologiques de *Corchorus
olitorius* Linn

Présenté et soutenu par :

Le : 24/05/2017

BENABID Nahla ET BENDAL Meriem

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr Necib Y.

Pr. UFM Constantine1

Rapporteur: Mme Mouas T. N.

MCA. UFM Constantine1

Examineur : Mlle Falek O.

MAA. INATAA. UFM Constantine 1

Année universitaire

2016-2017

Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier **DIEU tout puissant**, qui en son nom et avec sa protection, nous avons réussi à réaliser ce travail.*

*Nous souhaitons remercier Madame **Mouas Toma Nardjes** pour nous avoir accueilli au sein du département de Biochimie de l'Université des Frères Mentouri pour effectuer ce travail de recherche et le valoriser au mieux.*

*Nous remercions le professeur **Necib.Y** et Mlle **Falek O.** de nous faire l'honneur de juger ce travail.*

*Un merci bien particulier adressé également à **Monsieur Khlelifi. D**, professeur à l'université Frères Mentouri, Constantine, pour nous avoir accueillies dans son laboratoire GBBV.*

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions jusqu'à l'obtention du diplôme de master.

Nous finissons par remercier nos chers parents pour l'aide qu'ils nous ont apporté tout au long de notre vie.

Benabid Nahla

Bendal Meriem

Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire :

*À mes très chers parents en remerciant Dieu de les
avoir protégé pour être témoins de ma réussite.*

À mes frères : Anis et Chouaib.

A mes amies qui étaient toujours présentes quand j'avais besoin d'elles

*A mes tantes : Salima et Yesmina qui ont été un soutien morale généreux
et précieux pendant toutes mes années d'études.*

À toute la famille Benabid et Kebbache

Nehla

Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire :

*À mon très cher papa en remerciant Dieu de l'avoir
protégé pour être témoin de ma réussite.*

À mon frère : Lamine, et mes sœurs : Khaoula et fouzia

*A mes amies Ahlem, Khouloud, Rayane, Khadidja, qui étaient toujours
présentes quand j'avais besoin d'elles*

*A tous ceux qui ont été un soutien morale généreux et précieux pendant
toutes mes années d'études.*

À toute la famille Bental

Meriem

Sommaire	I
Liste des abréviations.....	II
Liste des tableaux	III
Liste des figures	IV
Intoduction.....	1

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Noms vernaculaires.....	3
2. Caractéristiques de la Plante	3
2.1. Origine historique et répartition géographique de la corète potagère	3
2.2. Usage	4
2.3. Taxonomie	4
2.4. Aspect botanique	5
2.4.1. Description	5
2.4.2. Parties utilisées	7
3. Aspects Phytochimiques	7
3.1. Composition de la corète potagère	7
3.1.1. Teneurs en nutriments, vitamines et micronutriments	7
3.1.2. <i>Corchorusolitorius</i> Linn, une source très riche en oméga 3.....	8
3.1.3. Teneur en métabolites secondaires.....	9
3.2. Mode de cuisson	10
3.3. Potentiel nutritionnel	10
3.4. Apports nutritionnels conseillés (ANC) et apport en énergie (Kcal).....	11
4. Aspects Pharmacologiques.....	12
5. Méthodes d'Analyses	13
5.1. Etude Phytochimique.....	13
5.1.1. Collecte.....	13
5.1.2. Séchage.....	13
5.1.3. Extraction	13
6. Les métabolites Secondaires	14
6.1. Les polyphénols.....	15
6.1.1. Les acides phénoliques	16
6.1.2. Flavonoides.....	17
6.1.3. Les tanins.....	19

6.2. Composés terpéniques	20
6.2.1. Les saponines	21
6.2.2. Les Caroténoïdes.....	22
6.3. Alcaloïdes.....	23
7. Etudes Physico-chimiques	23
7.1 Profile Chromatographique	23
7.1.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	23
8. Etude de l'Activité Antioxydante	24
8.1. Reaction entre le radical libre le DPPH et l'antioxydant.....	25
8.2. Le stress oxydant.....	26
8.2.1. Les radicaux libres	26
8.2.2. Stress oxydant et pathologies	28
8.3. Les composés phénoliques en tant qu'agents antioxydants.....	29
8.3.1. Les acides phénoliques.....	29
8.3.2. Les flavonoïdes.....	29
9. Etude de l'activité antimicrobienne.....	30
9.1. L'antibiogramme.....	30
9.2. L'aromatogramme.....	30
9.3. Méthode de dilution.....	30
10. Les Microorganismes Testés.....	31
10.1. Bactérie Gram (+).....	31
10.2. Bactérie Gram (-).....	31
10.3. Champignons.....	32

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel d'étude.....	33
1.1. Matériel Végétal.....	33
1.2. Matériel Biologique.....	33
1.3. Matériel de Laboratoire.....	34
2. Méthode d'étude.....	34
2.1. Extraction	34
2.1.1. Broyage.....	34
2.1.2. Extraction par Soxhlet	34

2.1.3. Evaporation	35
2.2. Analyse qualitative.....	36
2.2.1. Criblage chimique des contenus d'extrait des grains et des feuilles de <i>Corchorusolitorius</i> Linn par chromatographie liquide sur couche mince	36
2.3 Analyse quantitative.....	37
2.3.1. dosage des polyphénols totaux.....	37
2.3.2. dosage des flavonoides.....	37
3. Activité antioxydante.....	38
3.1. effet scavenger du radical DPPH.....	38
4. Activité antimicrobienne.....	39
4.1. Préparation des dilutions de la Mouloukhia.....	39
4.2. Ensemencement des souches microbiennes	39
4.3. Application des extraits végétaux sur les disques	39

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Calcul des ANC	40
1.1.Calcul de la valeur énergétique de la corète potagère.....	40
1.2.Pourcentage de couverture énergétique de la corète potagère.....	40
2. Extraction	41
2.1. Broyage.....	41
2.2 Extraction par soxhlet.....	41
2.3.Evaporation	41
2.3.1. Le rendement	41
3. Analyse qualitative.....	42
3.1. criblage chimique des contenus d'extraits de grains et de feuilles de <i>Corchorus olitorius</i> Linn par chromatographie liquide sur couche mince	42
3.2 Révélation	43
3.2.1. Révélation par l'éthanol + acide sulfurique pour les saponines	43
3.2.2. Révélation par la vanilline sulfurique pour les flavonoides.....	43
4. Analyse quantitative.....	44
4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	44
4.2. Dosage des flavonoides.....	46
5. Activité antioxydante.....	47
5.1. Détermination d'IC50.....	48

6. Activité antimicrobienne	49
CONCLUSION	53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE S.....	54
ANNEXES.....	
Résumé.....	
ABSTRACT	
الملخص	
RESUME.....	

Liste des abréviations :

Abs :	Absorbance.
ABTS :	2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique.
ADN :	Acide desoxyribonucléique.
AFSSA :	Agence française de sécurité sanitaire des aliments.
ALA :	Acide α Linoléique.
AlCl₃ :	Trichlorure d'aluminium.
Alk :	Alkaloïd.
AMC :	Amoxicillin.
ANC :	Apport Nutritionnel Conseillé.
Anth :	Anthocyane.
APR :	Pouvoir anti radicalaire.
C :	Concentration.
CCM :	Chromatographie sur couche mince.
CFT :	Concentration des flavonoïdes totaux.
CMI :	Concentration minimal d'inhibition.
CO₂ :	Dioxyde de Carbone.
CPT :	Concentration des polyphénols totaux.
CTX :	Cefotaxine.
D :	Dilution
d :	Distance
Da :	Dalton.
DO :	Densité optique.
DPPH :	Diphenyl-picrylhydrazyle.
EAG :	Equivalent d'acide gallique.
EC :	Concentration efficace.
ECh :	Echantillon.
EQ :	Equivalent quercétine.
ERN :	Espèce réactive de nitrogène.
ERO :	Espèce réactive d'oxygène.
F :	Fraction.
Flav :	Flavonoid.
FRAP :	Ferric ion Reducing antioxydant parameter.

G:	Graine.
GN:	Gentamicine.
H:	Hydrogène.
H₂O :	Eau.
H₃PMO₁₂O₄ :	Acide phosphomolybdique.
H₃PW₁₂O₄₀ :	Acide phosphotungstique.
Hep :	Hépatocyte.
IC :	Concentration d'inhibition.
IMC :	Indice de masse corporel.
IPM :	Imipenème.
Kcal :	Kilo calorie.
M :	Masse.
MH :	Mueller-Hinton.
MO₈O₃ :	Molybdène.
N :	Azote.
NA :	Nalidixine.
NAP :	Niveau d'activité physique.
OCH₃ :	Groupement méthoxy.
OH :	Groupement hydroxyl.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
ORAC :	Oxygen Radical Absorbance Capacity.
PC:	Potentiele nutritionnel.
Phe:	Phénol.
PKC:	Protéine Kinase C.
Rf:	Rapport frontal.
RL :	Radical libre.
RMN :	Résonance magnétique nucléaire.
ROO :	Groupement peroxyde.
Sap :	Saponine.
SM :	Solution mère.
Sr :	Spiromycine.
Ster :	Stéroïde.
Tan :	Tanins.
Terp :	Terpènes.

TRAP : Total Radical Absorbance Capacity.
UV : Ultraviolet.
UV-Vis : Ultraviolet visible.
V : Volume.
Vit : Vitamine.
W₈O₂₃ : Tungstène.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Taxonomie de <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	5
Tableau 2 : Propriétés des feuilles d'el Mouloukhia <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	6
Tableau 3 : Composition de la Corète potagère pour 100g de partie comestible.....	8
Tableau 4 : Les différents type d'acide gras identifiés dans la Mouloukhia.....	9
Tableau 5 : Représentation qualitative des métabolites secondaires identifié dans <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	9
Tableau 6 : Représentation quantitative des caroténoïdes identifiés dans <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	10
Tableau 7 : Apports nutritionnels conseillés pour les adultes entre 20 et 60 ans, dans le cadre des activités habituelles pour la majorité de la population.....	12
Tableau 8 : Les différentes classes des composés phénoliques.....	15 -16
Tableau 9 : Système testés pour l'élution en CCM.....	37
Tableau 10 : Rendement, aspects et couleurs des extraits de feuilles et de graines de la Mouloukhia.....	41
Tableau 11 : Révélation chimiques et rapports frontaux des extraits de <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	44
Tableau 12 : Teneur en polyphénols totaux dans les feuilles et graines de <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	45
Tableau 13 : Teneur en flavonoides totaux dans les feuilles de <i>Corchorus olitorius</i> Linn...	46
Tableau 14: Valeurs des concentrations efficaces et activités antiradicalaire <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	48
Tableau 15 : Activité antimicrobienne de l'extrait de <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	50
Tableau 16 : Les résultats de l'Antibiogramme.....	51

Liste des figures :

Figure 1 : Feuilles de la Corète potagère <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	5
Figure 2 : Fleurs de la corète potagère <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	6
Figure 3 : Fruits de la corète potagère <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	6
Figure 4 : Grains de la corète potagère <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	7
Figure 5 : Pourcentage de couverture des apports nutritionnel conseillés (ANC) des 23 nutriments qualifiants la Mouloukhia dans une portion de 153g.....	11
Figure 6: Quelques phénols et acides phénoliques.....	16
Figure 7 : Structure chimique des flavonoïdes.....	17
Figure 8 : Anthocyanidines : pélargonidine (R=H), cyanidine (R=OH).....	18
Figure 9 : Structure des flavonols.....	18
Figure 10 : Structure des chalcones et auronnes.	19
Figure 11 : Structure des tanins.....	19
Figure 12 : Structure des saponines.....	21
Figure 13 : Exemple d'élution en CCM.....	24
Figure 14 : Structure chimique du radical libre DPPH* (2,2 DiPhenyle - 1 - Picryl - Hydrazyle).....	25
Figure 15 : Exemples des radicaux libres.....	27
Figure 16 : Feuilles séchées de <i>Corchorus olitorius</i> Linn.....	33
Figure 17: Broyage des feuilles de <i>Corchorus olitorius</i> Linn à l'aide d'un broyeur classique.....	34
Figure 18 : Extraction par Soxhlet.....	35
Figure 19 : Evaporation et pesé de l'extrait brute sec.....	36
Figure 20 : Ensemencement des souches microbiennes sur boites de pétries.....	39
Figure 21 : Chromatogramme obtenus avec le 1 ^{er} système solvant avant et après visualisation sous lampe UV.....	42
Figure 22 : Chromatogramme obtenus avec le 2 ^{ème} système solvant avant et après visualisation sous lampe UV.....	42
Figure 23 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique (mg/ml) moyenne \pm SD de trois essais..	45
Figure 24 : Droite d'étalonnage de la quercétine mg/ml.....	46
Figure 25 : Test antioxydant de <i>Corchorus olitorius</i> Linn sur le radical libre DPPH.....	47
Figure 26 : Effet antiradicalaire de l'extrait de <i>Corchorus olitorius</i> Linn sur le radical libre DPPH.....	48
Figure 27 : Effet antiradicalaire de l'acide ascorbique sur le radical DPPH.....	49
Figure 28 : Effet de l'extrait de <i>Corchorus olitorius</i> Linn sur les différentes souches microbiennes testées.....	50

INTRODUCTION

En général, le corps humain est bien mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapeutique exclusivement chimique. L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives. La ligne de démarcation entre les propriétés nutritives et les propriétés curatives n'est pas toujours très nette. Le citron, la papaye, l'oignon et l'avoine sont-ils des aliments ou des médicaments ? En réalité, ils sont les deux à la fois. Le citron (*Citrus limon*) prévient les infections ; la papaye (*Carica papaya*) est parfois utilisée comme vermifuge; l'oignon (*Allium cepa*) prévient les affections des bronches ; l'avoine (*Avena sativa*) augmente l'énergie...etc. De fait, la phytothérapie prend tout son sens lorsque la frontière entre aliments et médicaments disparaît. Le fait d'ignorer les vertus des aliments que l'on mange, n'empêchera pas ceux-ci d'augmenter la résistance de notre corps, d'assurer le bon fonctionnement de notre système nerveux, de nous procurer des vitamines et de faciliter la digestion et beaucoup d'autres choses encore (**Iserin., 2001**).

La phytothérapie est une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. Elle provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». On peut distinguer deux types de phytothérapie :

- Une pratique traditionnelle, très ancienne. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.
- Une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes. Cette pratique conduit aux phytomédicaments, on parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (**Gahbiche., 2009**).

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Ci certaines pratiques médicales paraissent étranges et révèlent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées et plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et améliorer la santé des hommes (**Iserin., 2001**).

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur

l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Iserin., 2001**). Parmi ces composés on retrouve, les saponines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes, caroténoïdes et les flavonoïdes.

Ces composés bioactifs jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et l'oxydation des lipides, cela explique leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation (**Bruneton., 1999**).

Ainsi, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail à savoir l'étude du genre *Corchorus olitorius* Linn et d'estimer la teneur de cette espèce végétale en composés actifs essentiels, et d'en évaluer le pouvoir biologique *in vitro* ; car d'après de récentes études ethnobotaniques, cette espèce n'est utilisée en Algérie que dans le domaine culinaire et elle reste inconnue dans plusieurs régions en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques (**Benarba et al., 2015**).

Pour mener à bien nos objectifs, nous nous sommes consacrées dans ce mémoire à présenter un screening du contenu et de la richesse en métabolites secondaires de différents extraits de notre plante, leur identification ainsi que leur quantification afin d'évaluer leur pouvoir antioxydant et antimicrobien. Pour ce faire nous avons divisé notre mémoire en trois grandes parties :

- Une première partie bibliographique qui portera sur des notions d'histoire et d'origine de *Corchorus olitorius* Linn, les travaux phytochimiques, les principes des méthodes de criblage et quantification utilisées, ainsi que les souches microbiennes testées.
- Une deuxième partie matériel et méthodes où nous établirons les différents protocoles nécessaires à : l'extraction, l'identification, la quantification, l'évaluation de l'activité antioxydante et enfin l'évaluation du spectre antimicrobien comparé à celui d'un antibiogramme.
- Une troisième partie qui discutera les résultats obtenus, tout en les commentant, afin d'aboutir à une conclusion générale sur cette première approche d'étude, tout en projetant d'autres perspectives de recherche pour l'avenir.

Chapitre 1 :

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. Noms vernaculaires :

Corchorus olitorius Linn est également connue sous ses noms vernaculaires français: « corète potagère », et « mauve des Juifs » (c'est une malvacée) (**Kiebre et al., 2016**).

Elle a d'autres noms, comme : bush okra, nalta jute, jute mallow, jew's mallow, ewedu, Melokhia, Monoheiya, coreté, caruru de bahia, mlenda, krinkrin, craincrain, jute potagère (**Loumerem et Alercia., 2016**).

2. Caractéristiques de la plante :

2.1. Origine historique et répartition géographique de la Corète potagère :

La corète potagère *Corchorus olitorius* Linn est une espèce de plantes dicotylédones de la famille des *Tiliaceae* (**Kiebre et al., 2016**) (tableau 1). Son origine géographique était souvent controversée, car on la cultive depuis des siècles tant en Asie qu'en Afrique, et elle est présente à l'état sauvage sur les deux continents. Certains auteurs considèrent l'Inde ou la région indo-birmane comme le centre d'origine de *Corchorus olitorius* Linn et de plusieurs autres espèces de *Corchorus* (**Bonnet., 2015**).

Cependant, la présence en Afrique d'un plus grand nombre d'espèces sauvages de *Corchorus* et la plus grande diversité génétique intra spécifique de *Corchorus olitorius* indique que l'Afrique serait le premier centre d'origine du genre, avec un centre secondaire de la diversité dans la région indo-birmane. Mais selon une étude plus récente (**Loumerem et Alercia., 2016**), ont confirmé que *Corchorus olitorius* Linn est une plante originaire d'Inde ou la région indo-birmane. Actuellement, *Corchorus olitorius* est largement répandu dans toutes les régions tropicales, et il est probablement présent dans tous les pays d'Afrique tropicale (**Bonnet., 2015**).

En Afrique tropicale, il est signalé comme légume sauvage ou cultivé dans de nombreux pays. C'est un légume-feuilles important en Côte d'Ivoire, au Bénin, au Nigeria, au Cameroun, au Soudan, au Kenya, en Ouganda et au Zimbabwe. La corète potagère est également cultivée comme légume-feuilles dans les Caraïbes, au Brésil, en Inde, au Bangladesh, en Chine, au Japon, en Egypte et au Proche-Orient. Elle est cultivée pour la production de jute en Asie (Inde, Bangladesh, Chine) comme *Corchorus capsularis* L., mais en Afrique elle ne joue aucun rôle en tant que plante à fibres ; même si on peut faire un usage domestique de cette fibre, en France elle a été utilisée jusqu'au XVIII^e siècle avant d'être abandonnée (**Bonnet., 2015**).

2.2. Usage :

La corète potagère est utilisée comme légume-feuilles mucilagineux. Dans plusieurs pays d'Afrique, elle est consommée sous forme de soupe visqueuse, ou ajoutée au ragout pour sa richesse en fibre, vitamines et minéraux (Loumerem et Alercia., 2016).

Le jute a été pendant plus de 100 ans la fibre la plus utilisée pour l'emballage grâce à sa solidité et à sa durabilité, ses faibles coûts de production, sa facilité de fabrication et sa disponibilité en grandes quantités homogènes. Néanmoins, la production de jute est insignifiante en Afrique. Les types de *Corchorus olitorius* utilisés comme légumes-feuilles sont assez différents de ceux utilisés pour la production de jute. Les tiges entières de jute sont adaptées à servir de matériel de base pour la pâte à papier. Cependant, lorsque le jute est utilisé pour la pâte, c'est normalement sous forme de chutes de la fabrication de toile d'emballage, de sacs à sucre anciens et d'autres emballages. La pâte qui en résulte est transformée en papier épais et dur, adapté aux cartes et étiquettes. Le cœur central ligneux ('stick') qui reste après l'enlèvement du libre peut également être transformé en papier, carton et cellulose.

Des lamelles de racines de corète potagère sont utilisées au Kenya pour traiter les maux de dents une décoction de racine sert de tonique, les pousses feuillées servent contre les troubles cardiaques au Congo, une infusion de feuille est absorbée contre la constipation en Tanzanie, et les graines servent de purgatif et de fébrifuge au Nigeria (Bonnet., 2015). On la cultive dans le sud de l'Europe comme plante textile (Kiebre et al., 2016).

2.3. Taxonomie :

D'un point de vue étymologique, le mot « mouloukhia » vient du mot « Mlouk » qui signifie « roi » ce nom désigne un plat royal sacré de l'Égypte antique (Kiebre., 2016).

Tableau 1 : Taxonomie de *Corchorus olitorius* Linn.
D'après Kiebre (2015).

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Malvales</i>
Famille	<i>Tiliaceae</i>
Genre	<i>Corchorus</i>
Nom binominal	<i>Corchorus olitorius</i> Linn

2.4. Aspect botanique :

2.4.1. Description :

La Mouloukhia est une plante annuelle, qui pousse en aout – septembre - octobre dans les régions tropicales, subtropicales et chaudes. Il existe environ 50-60 espèces répartis dans le monde, principalement en : Tanzanie, sud d’Afrique et Ethiopie, Asie et Amérique Latine. Elle occupe la tête de liste des plantes utilisées en Cote d’Ivoire, Benin, Nigeria, Cameroun, Zimbabwe, Uganda, Kenya, Soudan. (Loumerem et Alercia., 2016).

La corète potagère mesure environ 2m40 de hauteur, ses feuilles (6-10cm de hauteur et 3.5-6 cm de largeur (Mahmoud et al., 2016) sont de couleur verte, et de forme lancéolée et finement crantée (Loumerem et Alercia., 2016), avec une pointe piquante, une base aigue et une texture légèrement épineuse. Leurs tige est droite, les branches sont de taille moyenne (Oswaru et al., 2012) (figure 1).



Figure 1 : Feuilles de la corète potagère *Corchorus olitorius* Linn d’après Oswaru et al (2012)

Tableau 2 : Propriétés des feuilles d’el Mouloukhia *Corchorus olitorius* Linn (Bonnet., 2015).

	Mouloukhia « Feuilles »
Partie végétale utilisée	Feuilles
Couleur	Verte
Goût	Proche du goût des épinards
Odeur	Typique au henné
Rendement	5-15 t/ha (ou bien 20-25kg / 10m ²)

Les fleurs sont hermaphrodites, pollinisées par les insectes, mesurant 2-3 cm de diamètre, elles sont jaunes et contiennent 5 pétales (figure 2).



Figure 2 : Fleurs de la corète potagère *Corchorus olitorius* Linn.

Les fruits sont sous forme de capsule verte ou marron clair mesurant environ 7cm de long et remplis de grains sous forme de triangle noir (figure 3). Les graines sont non comestibles et très toxiques (**Mahmoud et al., 2016**) (figure 4).

Cette plante favorise les sols sablonneux et argileux, elle prospère bien dans les sols acides, neutres, alcalins, et ne peut pas tolérer les sols humides (**Loumerem et Alercia., 2016**).



Figure 3 : Fruits de la corète potagère *Corchorus olitorius* Linn.



Figure 4 : Graines de la corète potagère *Corchorus olitorius* Linn.

2.4.2. Partie utilisée :

Les feuilles de la corète potagère sont utilisées en cuisine dans de nombreux pays d'Afrique de l'Ouest, du Maghreb et du Moyen-Orient, à la base du plat du même nom (*mloukhiya*) dans les cuisines algérienne, tunisienne, égyptienne, syrienne, libanaise, levantine, ou dans la cuisine ivoirienne (*kplala, nanounkoun*) ou encore togolaise et malienne. Au nord du Mali, les sonrais (The Songhai people) l'appellent *fakouhoy* et le plat est devenu très répandu à travers le pays.

La plante et ses feuilles sont appelées *mulūkhiyya* (ملوخية) en arabe (parfois translittéré *mulukhiyah, molokhia, mulukhiyya, malukhiyah*) et au Togo, elles portent le nom d'*adèmè*). Elles sont aussi consommées en Asie, notamment au Japon, où elles sont nommées en cuisine *shimatsunaso*. Les feuilles séchées et moulues sont utilisées comme épices (Kiebre., 2016).

3. Aspect phytochimique :

3.1. Composition de la corète potagère :

3.1.1. Teneur en nutriments, vitamines et micronutriments :

D'après Loumerem et Alercia (2016), les feuilles de *Corchorus olitorius* Linn sont très riches en nombreux composants (tableau 3).

Tableau 3: composition de la corète potagère pour 100g de partie comestible (Loumerem et Alercia., 2016).

Nutriments	Valeurs nutritionnelles /100g
H2O	85-87 g
Protéines	5.6 g
Cabohydrates	5 g
Lipides	0.7 g
Fibres	1.5 g
Calcium	250-266 mg
Fer	4.8 mg
Vitamine A	1.5 mg
Thiamine (Vit B1)	0.1 mg
Riboflavine (Vit B2)	0.3 mg
Nicotinamide (Vit B3)	1.5 mg
Acide ascorbique (Vit C)	53-100 mg

3.1.2. « *Corchorus olitorius* Linn », une source très riche en *oméga 3* :

Omega 3 (acide α linoléique ALA) et *oméga 6* (acide linoléique) sont des acides gras polyinsaturés essentiels, que le corps ne peut pas synthétiser. Ils interviennent dans la régulation de la pression artérielle, dans le bon fonctionnement du système immunitaire, et aussi dans le développement normal de la rétine et du cerveau pour les enfants prématurés, ils sont connus également pour leurs diverses propriétés : anti inflammatoires, anti thrombotiques, hypotriglycéridémiants.

Selon une étude récente (Mahmoud et al., 2016), « *Corchorus olitorius* Linn » est une plante très riche en *omégas 3* avec une concentration égale à 49,5% (extrait d'origine d'Egypte) ; elle est supérieure aux concentrations des *omégas 3* dans plusieurs aliments : les poissons, huile de soja, grains de Lin, fruits de mer, huile de Colza, grains de Chia, grains de citrouille, grains de tournesol, huile de grains de coton, noix et certains légumes (laitue et choux...) La concentration des *omégas 3* reste élevée pour un extrait d'origine du Liban.

Elle contient également plusieurs types d'acides gras comme : l'acide palmitique (C16 :0) 23%, acide stéarique (C18 : 0) inférieur à 4% (tableau 4).

Tableau 4 : Les différents types d'Acide gras identifiés en % dans la Mouloukhia (Mahmoud et al., 2016).

Composants identifiés	Extrait (Egypte)	Extrait (Liban)
Acide Myristique (C14 :0)	1,37 \pm 0,01	1,19 \pm 0,01
Acide Palmitique(C16 :0)	23,36 \pm 0,60	23,08 \pm 1,48
Acide Palmitoléique(C16 :1) (Z)-7	0,53 \pm 0,15	0,50 \pm 0,02
Acide Palmitoléique(C16 :1) (Z)-9	1,36 \pm 0,01	1,79 \pm 0,02
Acide Stéarique (C18 :0)	2,68 \pm 0,00	3,10 \pm 0,04
Acide Oléique (C18 :1)	3,12 \pm 0,06	4,29 \pm 0,08
Acide Linoléique « oméga 6 » (C18 :2)	15,18 \pm 0,55	17,94 \pm 1,75
Acide Linoléique « oméga 3 » (C18 :3)	49,50 \pm 2,53	46,23 \pm 0,84
Acide Arachidique(C20 :0)	0,54 \pm 0,00	0,66 \pm 0,01
Acide béhénique(C22 :0)	1,44 \pm 0,01	1,21 \pm 0,01

3.1.3. Teneur en métabolites secondaires :

D'après **Mibei et al., (2012)** , l'analyse phytochimique de *Corchorus olitorius* Linn a montré la présence de plusieurs types de métabolites secondaire :(tableau 5)

Tableau 5 : Représentation qualitative des métabolites secondaires identifiés dans *Corchorus olitorius* Linn. (**Mibei et al., 2012**)

	Flav	Alka	Sap	Tan	Phe	Anth	Ster	Terp
<i>Corchorus olitorius</i> <i>Linn</i>	+	+	+	+	+	±	±	-

3.1.3.1. Teneur en caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont un groupe de molécules connus pour leurs divers bienfaits pour la santé, capable de préserver les tissus épithéliaux ou le système immunitaire mais aussi sont très bon pour la vision.

D'après (**Steiner et al., 2014**), les feuilles de *Corchorus olitorius* Linn sont riches en caroténoïdes (β Carotène, Lutein, Zeaxanthin) à des valeurs exprimées en mg/100g de plante fraîche (tableau 6).

Tableau 6 : Représentation quantitative des caroténoïdes identifiés en mg / 100 g de *Corchorus olitorius* Linn (**Steiner et al., 2014**)

<i>Corchorus olitorius</i> Linn			
Caroténoïdes totaux mg/100g.	β -Carotène	Lutein	Zeaxanthine
670.18 \pm 0.05	196.32 \pm 0.08	112.75 \pm 0.05	16.32 \pm 0.16

3.2. Mode de cuisson :

D'après **Uthayakumar (2014)**, la réalisation d'un plat à base de poudre fine de la corète potagère se fait avec les ingrédients suivants : Matière grasse (huile d'olive), la viande (agneau, lapin, veau), la poudre de corète, la tomate concentrée, les condiments (épices, sel, oignons, ail, etc) et l'eau.

La cuisson a une durée moyenne de 2h30. Par ailleurs de nombreux ajouts d'eau sont effectués, au cours du procédés, afin d'éviter de brûler la préparation et faciliter son homogénéisation.

3.3. Apport nutritionnel :

A fin d'étudier le potentiel nutritionnel du plat de la Mouloukhia, les pourcentages de couverture des 23 nutriments qualifiants le plat ont été calculés. Pour cela il est nécessaire de connaître les ANC (apports nutritionnels conseillés) pour chaque nutriment (annexe 6). La figure 5 présente un classement de ces PC, par ordre décroissant, pour une portion moyenne de 153 g de Mouloukhia consommée. Le fer qui a un PC de 80 %, les autres minéraux ont des valeurs comprises entre 12 et 25%. En ce qui concerne les vitamines, la B12, E, B3 et B6 ont respectivement des PCs de 84 et 48.5, 26,5 et 14.5 %, les vitamines A, B2, B1 et B9 ont des valeurs comprises entre 2,5 et 4 % et sont quasiment nulles pour les vitamines C et D. La corète étant séchée et réduite en poudre au préalable, il n'est pas surprenant que sa teneur en vitamine C soit si faible, vu ses propriétés thermosensible et oxydable. (Uthayakumar., 2014).

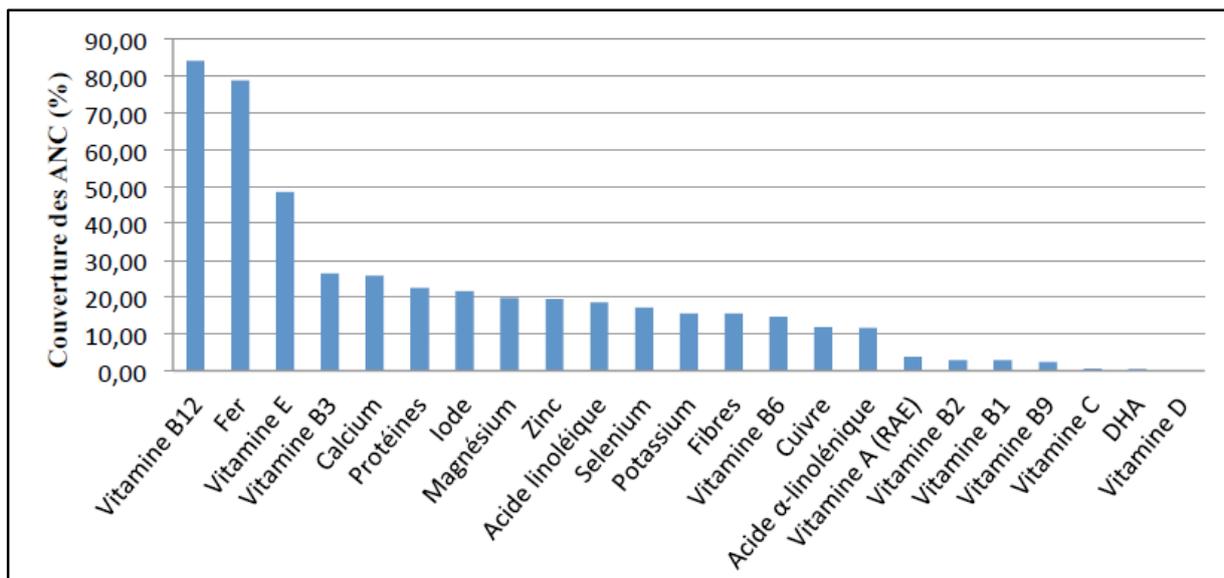


Figure 5 : Pourcentage de couverture des apports nutritionnels conseillés (ANC) des 23 nutriments qualifiants la Mouloukhia dans une portion de 153g (Uthayakumar., 2014)

3.4. Apports nutritionnels conseillés (ANC) et apport en énergie (Kcal):

Les apports nutritionnels conseillés ou ANC représentent la quantité de macro- et micronutriments nécessaire à la couverture de l'ensemble des besoins physiologiques. Ils correspondent aux besoins nutritionnels moyens. Ils sont estimés à partir de données

scientifiques et répondent à des règles fixées par l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA).

Les apports énergétiques

Les besoins énergétiques d'un individu sont définis comme étant "la quantité d'énergie nécessaire pour compenser les dépenses et assurer une taille et une composition corporelle compatibles avec le maintien à long terme d'une bonne santé et d'une activité physique adaptée au contexte économique et social".

Les apports nutritionnels conseillés en énergie

Les apports énergétiques sont évalués en fonction de l'importance des dépenses énergétiques journalières classées en fonction de 6 niveaux d'activité physique (NAP). Cette donnée pouvant être croisée avec l'âge et l'IMC.

Tableau 7 : Apports nutritionnels conseillés pour les adultes entre 20 et 60 ans, dans le cadre des activités habituelles pour la majorité de la population.

Âge	20 - 40 ans	41 - 60 ans
Hommes	2 700 kcal	2 500 kcal
Femmes	2 200 kcal	2 000 kcal

L'équilibre entre les dépenses et les apports énergétiques permet d'assurer une stabilité du poids corporel, ce qui est indispensable pour le maintien d'un bon état de santé.

Répartition des apports en glucides, lipides et protéines

La contribution des macronutriments à l'apport énergétique total devrait être de :

- 15 % pour les protéines : 1 gramme de protéines fournit 4 kcal
- 45-50 % pour les glucides : 1 gramme de glucides fournit 4 kcal
- 35-40 % pour les lipides : 1 gramme de lipides fournit 9 kcal

4. Aspect pharmacologique :

Du fait du grand nombre de ses propriétés, la corète potagère est indiquée dans un grand nombre de pathologies ou de désordres organiques et fonctionnels.

En Inde, Pakistan et Bangladesh la Mouloukhia est cultivée pour l'importance de ses fibres. Pour les Egyptiens elle a été symbole de leur patrie. Plusieurs parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle.

Les feuilles ont un effet émollient, diurétique, purgatif, fortifiant (**Mahmoud et al., 2016**), antipyrétique et antimicrobien. Elles agissent contre les blennorragies (maladies infectieuses et inflammatoires de la muqueuse de l'urètre), contre les troubles touchant les enfants prématurés (**Marandi et Britto., 2015**), contre l'anémie en raison de leur richesse importante en Fer et contre les insuffisances en acide folique, mais aussi pour purifier le sang (**Borokini et Omotayo., 2012**). Elles peuvent également traiter le gonflement, apaiser les douleurs d'estomac (**Mahmoud et al., 2016**).

Les grains sont utilisés pour leur effet laxatif, contre la constipation, inflammation de la vessie, les difficultés à uriner (**Borokini et Omotayo., 2012**).

Les racines peuvent restaurer l'appétit et la force, et apaiser les douleurs dentaires, les tiges sont utilisées pour la thérapie contre les désordres cardiovasculaires (**Loumerem et Alercia., 2016**).

D'après **Li et al., (2012)**, *Corchorus olitorius* Linn intervient dans l'induction de l'apoptose des cellules (Hep G2) responsables sur un hépatocarcinome via la voie « mitochondrie-dépendante ».

5. Méthodes d'analyses :

5.1. Etude phytochimique :

5.1.1. Collecte :

Dans l'objectif de réaliser une étude phytochimique, les quantités des items à analyser doivent être importantes. En effet, même si les molécules responsables des activités ont un effet puissant, leur concentration dans l'extrait brut est le plus souvent très faible et l'élucidation structurale nécessite plusieurs milligrammes de la molécule active. Photos, herbiers en duplicate, et dessins doivent accompagner la récolte afin de faciliter l'identification botanique et de pouvoir éventuellement suivre la production des molécules intéressantes (**Benalileche et Benalileche., 2016**).

5.1.2. Séchage :

Après réduction en fragments de la partie de plante récoltée permettant un séchage optimal, les items récoltés sont placés sur des étagères ajourées permettant la circulation de l'air à l'abri impératif du soleil, des insectes et des rongeurs à une température inférieure à 35

°C. Les plantes doivent être retournées pour éviter les moisissures d'abord plusieurs fois par jour puis au moins tous les jours jusqu'à séchage complet. Un séchage complémentaire peut être réalisé dans des étuves ventilées (**Benalileche et Benalileche., 2016**).

5.1.3. Extraction :

Les échantillons séchés sont broyés puis extraits et la solution filtrée correspond à l'extrait brut. Les solvants d'extraction (méthanol, acétate d'éthyle, eau...) sont choisis en fonction du type de molécules qu'on souhaite isoler ou du protocole d'extraction systématique comparative des activités biologiques des différentes parties de plantes étudiées. Les solutions obtenues sont évaporées à sec sous vide et les extraits bruts sont stockés à l'abri de la lumière et à une température inférieure à 4 °C (**Benalileche et Benalileche., 2016**).

✓ Les différentes techniques d'extraction :

- **La filtration.** Elle date de la préhistoire et permet, par exemple, au travers d'un lit de sable ou de mousse de rendre une eau boueuse limpide.
- **Le pressage.** Par exemple, il s'agit d'exercer une pression sur une orange pour obtenir le jus, ou d'écraser des fleurs pour extraire les arômes comme le faisaient les égyptiens.
- **La décoction.** On place la racine ou l'écorce d'une plante dans de l'eau froide ; le tout est porté à ébullition et les constituants se dissolvent dans l'eau. Cette méthode est très ancienne.
- **L'enfleurage.** Les fleurs fragiles (violette ou jasmin) sont posées sur des châssis enduits de graisse animale très pure et inodore qui absorbe le parfum des fleurs au contact ; en fin de séchage, les graisses sont imprégnées de substances odorantes que l'on extrait avec de l'alcool.
- **L'infusion.** On verse de l'eau bouillante sur les feuilles ou les fleurs finement hachées puis on les laisse tremper pour dissoudre les principes actifs. Le thé en est un exemple.
- **La macération.** Une substance séjourne à froid dans un solvant organique pour en extraire les constituants solubles dans ce solvant.
- **Entraînement à la vapeur ou hydro-distillation.** Les parfums de la plante (huiles parfumées ou huiles essentielles) sont entraînés par de la vapeur d'eau. Cette technique date de l'Egypte ancienne.

. Extraction par Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté

dans la matière première (**Penchev., 2010**). La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de l'appareil appelé Rotavap (voir annexe1).

6. Les métabolites secondaires :

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé.

Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire) : ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense, rôle de résistance.

Les composés du métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes :

- Les composés aromatiques ou poly phénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins), et les quinones.
- Les terpenoïdes et leurs dérivés.
- Et enfin les alcaloïdes.

Ces molécules très diversifiées, illustrent l'extraordinaire richesse métabolique des plantes supérieures. (**Merghem., 2009**).

6.1. Les polyphénols :

Les poly phénols se constituent en un ensemble de molécules très largement répandue dans le règne végétal localisé depuis les racines jusqu'aux fruits. Ces composés correspondent à une grande variété de substances possédant un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle. Dans cette catégorie on trouve de nombreuses substances :

- Les noyaux simples en (C6-C1).
- Les polyphénols propanoïdes en (C6-C3).
- Les flavonoïdes en (C6-C3-C6).

Cela est récapitulé dans le tableau 7 qui présente les différentes classes.

Tableau 8 : Les différentes classes des composés phénolique (Boutaghane., 2015; Merghem., 2009).

N de Carbone	Squelette de base	Classe	Exemples / origine
6	C6	Phénols simple	Hydroquinine, catechol.
7	C6-C1	Acide phénolique	Acide salicylique, Acide p(OH) benzoïque
8	C6-C2	Acétophénone	
9	C6-C3	Acide cinnamique Coumarines Phénylpropènes	Acide caféïque, férulique (café, pomme) Esculétine, scopolétine (citron) Eugéno (Giroflier)
10	C6-C4	Naphtoquinone	Noix
13	C6-C1-C6	Xanthone	
14	C6-C2-C6	Stilbene	Resveratrol (Vigne)
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes Anthocyanes	Apigénine, lutéoline, quercétine (fruits) Génistéine (soja, pois) Pélagonidine, cyanidine et delphinidine (fleurs ; fruits rouge).
18	(C6-C3) ₂	Lignane	Pinorésinol (pin)
N	(C6-C3) _n	Lignines	Bois, noyau des fruits.
30	(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoïdes	Amentoflavone
N	(C6-C3-C6) _n	Proanthocyanes (tanins condensés)	Procyanidines, prodelphinidines (raisin rouge)

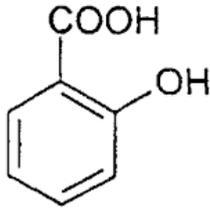
6.1.1. Les acides phénoliques :

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acides benzoïque et de l'acide cinnamique. Les acides hydroxy benzoïque et hydroxycinnamiques existent rarement sous forme libres, mais sont généralement trouvés sous formes conjuguées d'esters et de glycosides.

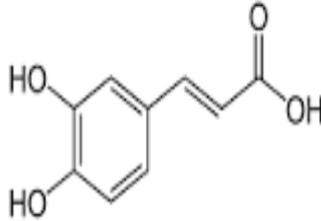
Les acides phénoliques participent directement aux réactions de stress environnementaux ; comme les attaques par les ravageurs et contribuent au processus de guérison de la plante par la lignification des tissus endommagés(Khelfallah., 2013).

Ils possèdent plusieurs propriétés pharmacologique antiradicaline, antioxydante, antimicrobienne, antiviral, anti cholestérolémiant, inhibiteur in vitro des systèmes

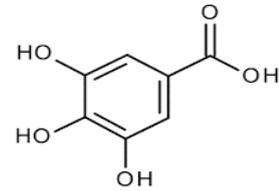
enzymatique (élastase, collagénase), antiulcéreuse. (chez les souris), anti inflammatoire, antiallergique (Boutaghane., 2015).



Acide benzoïque



Acide caféique



Acide gallique

Figure 6 : Quelques phénols et acides phénoliques

6.1.2. Flavonoïdes :

Le terme flavonoïde dérive du mot grec « flavus » qui veut dire jaune. Cette catégorie de substance naturelle forme une grande partie des métabolites secondaire d'un grand nombre de variétés de plantes supérieures. Ce sont des composés naturels appartenant à la famille poly phénols formant ainsi l'ensemble des substances les plus répandues, ils possèdent une diversité structurale très importante. En effet, plus de 6500 structures ont été identifiées.

Ces diverses structures se rencontrent aussi bien sous la forme libre aglycone (génine) que sous forme de glycoside. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes.

La structure chimique des flavonoïdes est basée principalement sur un squelette de 15 atomes de carbone constitué de deux noyaux benzoïque (a) et (b) relié par une chaîne en 3 carbones « C3 » (Boutaghane., 2015).

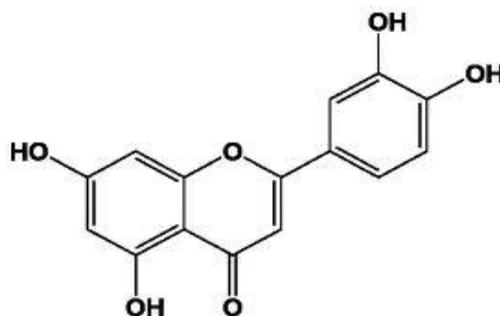


Figure 7 : Structure chimique des flavonoïdes.

Certains flavonoïdes ont des propriétés fongicides et insecticides qui protègent la plante contre l'attaque des champignons et des insectes.

Au niveau des feuilles et fleurs, les flavonoïdes ont un rôle attractif pour les abeilles ou répulsif sur les insectes herbivores entraînant ou non la consommation de feuillage.

Les flavonoïdes constituent une part non négligeable des phytoconstituants – principe actif – solubles dans l'eau, de nombreuses plantes médicinales ayant une grande importance en phytothérapie actuelle. Les principes actifs sont divisés en nombreux sous-groupes : flavonols, flavones, flavanes, flavonones, catéchines...**(Merghem., 2009)**.

Chez *Corchorus olitorius* Linn, il existe 4 sous classe appartenant à la classe des flavonoïdes :

6.1.2.1. Les anthocyanes :

Le terme « anthocyanes » a une valeur générale désignant, soit les formes naturelles glycosylées, soit les molécules non glycosylées.

Chez les anthocyanes, en plus de la position 3 qui est toujours glycosylée, il y a aussi préférentiellement la position 5 qui est aussi glycosylée.

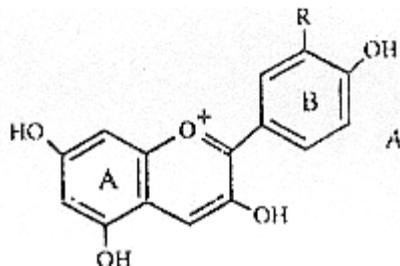


Figure 8: Anthocyanidines: pélagonidine (R=H),cyanidine (R=OH).

Les anthocyanes sont caractérisés par leurs propriétés antioxydantes, elles sont favorables à notre santé et notamment en ce qui concerne le vieillissement cellulaire : elles améliorent l'élasticité et la densité de la peau. Les anthocyanes évitent aussi les rougeurs en renforçant la résistance des petits vaisseaux sanguins de l'épiderme, améliorent la vision nocturne et l'acuité visuelle en général **(Benalileche et Benalileche., 2016)**.

6.1.2.2. Flavonols :

Ils représentent 80% des flavonoïdes connus, le noyau A est substitué par 2 hydroxyl phénolique en C5 et C7 libre ou estérifiés.

Le noyau B est dans 80% des cas substitué en position 4' ou distribué en position 3',4' et 5'. Les positions 2', 6', ne sont pas exceptionnellement substituées. Les substituants sont des groupes OH ou bien OCH₃ (hydroxyl ou méthoxy). (**Boutaghane., 2015**)

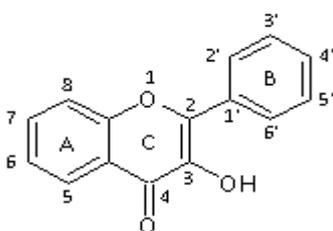


Figure 9 : structure des flavonols.

6.1.2.3. Chalcones et aurones :

Les chalcones sont dépourvues d'hétérocycle central. Elles sont caractérisées par la présence d'un chaînon tricarboné cétonique. Le noyau B est assez fréquemment non substitué. Les aurones sont caractérisés par une structure : 2-benzylidène-coumaranone. (**Boutaghane., 2015**).



Chalcone

Aurone

Figure 10 : Structures des chalcones et aurones.

6.1.3. Les tanins :

Le mot « tanin » fait référence à un large groupe de composés phénoliques naturellement produits par les plantes. Ces composés se caractérisent par la capacité de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les

stéroïdes et les alcaloïdes pour former avec eux des complexes stables. Ce sont des molécules assez volumineuses avec un poids moléculaire généralement compris entre 500 et 3000 Da.

L'importance des tanins est liée à la propriété qu'ils ont de transformer la peau fraîche en un matériel imputrescible (le tannage). Le tanin va impliquer l'établissement des liaisons entre les fibres de collagènes de la peau d'où la résistance à l'eau et à la chaleur et à l'abrasion. (**Benalileche et Benalileche., 2016**)

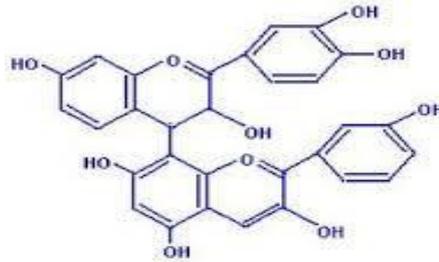


Figure 11: Structure des tanins.

Les tanins ont plusieurs propriétés biologiques (**Boutaghane., 2015**), citons :

- Action astringente qui correspond à la précipitation des glycoprotéines.
- Action anti diarrhée.
- Propriétés vitaminique P qui correspondent à des propriétés veinotonique commune à tout les poly phénols.
- Effet vasoconstricteur notamment au niveau des vaisseaux superficiels.
- Action antiseptique qui se traduit par des effets antibactériens et antifongiques.
- Piégeur des radicaux libres comme tout les poly phénols (propriétés antioxydante). En effet ils vont inhiber la formation d'ions peroxyde et surtout la peroxydation des lipides et ils vont également inhiber la formation des ions superoxydes.
- Pouvoir cicatrisant, ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielle.
- Inhibe des activités enzymatique de la : protéine kinase C (PKC) ; la 5 lipooxygénase enzyme impliqué dans le processus inflammatoire ; enzyme de conversion de l'angiotensine qui est impliqué dans la régulation de la pression artérielle.
- En particulier le gallate d'épicatéchol stimule la thermogénèse.
- Les catéchols : catéchine et épicatechine exercent une activité cardio-protectrice et anti inflammatoire.

6.2. Composés terpéniques :

Avec les polyphénols, les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux.

Les terpènes peuvent être considérés comme étant les dérivés de l'isoprène d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel ils sont parfois désignés.

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les mono terpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les di terpènes (C20), les tri terpènes (C30), les tétra terpènes (C40), les poly terpènes (C4000).

Les stéroïdes rentrent dans le groupe des terpénoïdes et les caroténoïdes sont des tétra terpènes(**Merghem., 2009**).

6.2.1. Saponines :

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs leur conférant la propriété de former des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau. Ils peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique.

Les génines stéroïdiques possèdent un squelette en C27 et six cycles. Les saponosides stéroïdiques sont rencontrés dans de nombreuses plantes, mais ils sont aussi caractéristiques des étoiles de mer.

Certains ont servi pendant un temps à la synthèse des stéroïdes (diosgénines des *Dioscorea*), ainsi, la sarsapogénine, provenant de l'hydrolyse du sarsaparilloside, a été utilisée comme matière première de synthèse des stéroïdes.

Les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Les interactions mises en jeu avec les stérols de la membrane ont pour conséquence des propriétés hémolytiques de certaines molécules. Elles sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques. Certaines drogues à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés antitussives (rhizome de la réglisse), mais aussi anti-oedémateuses (cotylédons de la graine de Marronnier d'Inde) ou encore analgésiques (*Platycodon grandiflorum*), Les plantes contenant des saponines peuvent dissoudre les parois des globules rouges, si bien qu'on ne doit jamais les injecter dans le sang. Prises oralement, elles sont à peine absorbées à travers un intestin intact et favorisent la digestion et l'absorption des minéraux tels que le calcium et le silicium. Certaines comme le marronnier d'Inde, ont

6.2.2.2. Lutéine :

La lutéine (du latin *luteus*, jaune) ($C_{40}H_{56}O_2$) est un des 600 caroténoïdes connus. On la trouve dans le jaune d'œuf, les légumes jaunes (maïs, carotte) ou à feuilles vertes (épinards, oseille) et des fleurs comestibles telles que l'œillet d'Inde (*Tagetes*) (**Boutaghane., 2015**).

6.2.2.3. Zeaxanthine :

La zéaxanthine $C_{40}H_{56}O_2$ est un pigment de la famille des xanthophylles (caroténoïde) qui donne sa couleur jaune aux grains de maïs. C'est un isomère de la lutéine. On la retrouve notamment dans les choux-fleurs. L'adjonction d'une huile végétale augmente sa biodisponibilité pour l'organisme humain. Elle est souvent associée à la lutéine dans le jaune d'œuf, le jus d'orange ou les épinards.

Elles s'accumulent au niveau de la macula de la rétine pour filtrer une partie de la lumière bleue et des ultraviolets, et pour éliminer les radicaux libres. (**Boutaghane., 2015**).

6.3. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes est un composé d'origine naturel (le plus souvent végétal), azoté, plus ou moins basique. Ils constituent un autre groupe plus vaste de substances dites secondaires. On connaît actuellement plus de 5500 alcaloïdes et leur liste s'allonge continuellement.

Tous les alcaloïdes contiennent de l'azote « N » le plus souvent inclus dans un hétérocycle. La plus part de ces composés ont une réaction alcaline à l'état naturel. Ils sont généralement, salifiés par des acides organiques (tartrates, malates) ou combinés à des tanins.

On distingue :

- Les pseudo-alcaloïdes : ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale.
- Les proto-alcaloïdes : l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acide aminés (éphédrine).

Les alcaloïdes peuvent jouer un rôle protecteur vis-à-vis des prédateurs de des herbivores, peuvent être des produits d'excrétion du métabolisme azoté. Les alcaloïdes jouent chez les plantes le rôle de l'urée ou l'acide urique chez les animaux. Ils peuvent également servir de réserves d'azotes (**Merghem., 2009**).

7. Etude physico-chimique :

7.1. Profil chromatographique :

7.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie est une méthode physique de séparation dans laquelle les composés à séparer ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe (usuellement du gel de silice, de l'oxyde d'aluminium ou de la cellulose) à laquelle on ajoute souvent un pigment fluorescent pour permettre une détection des produits à la lumière ultraviolette à 254 nm ou 366 nm , l'autre mobile se déplace dans une direction définie. La CCM est une technique considérée comme technique très pratique vu l'économie de solvant et d'échantillons réalisés en même temps que l'obtention de plusieurs informations sur la composition chimique des extraits et les conditions opératoires optimisées (**Griffiths., 1958**).

On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile. La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser.

Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (R_f) :

$$R_f = \frac{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et la tache du produit A}}{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et le front du solvant B}}$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du R_f avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques; même R_f) (**Benalileche et Benalileche., 2016**).

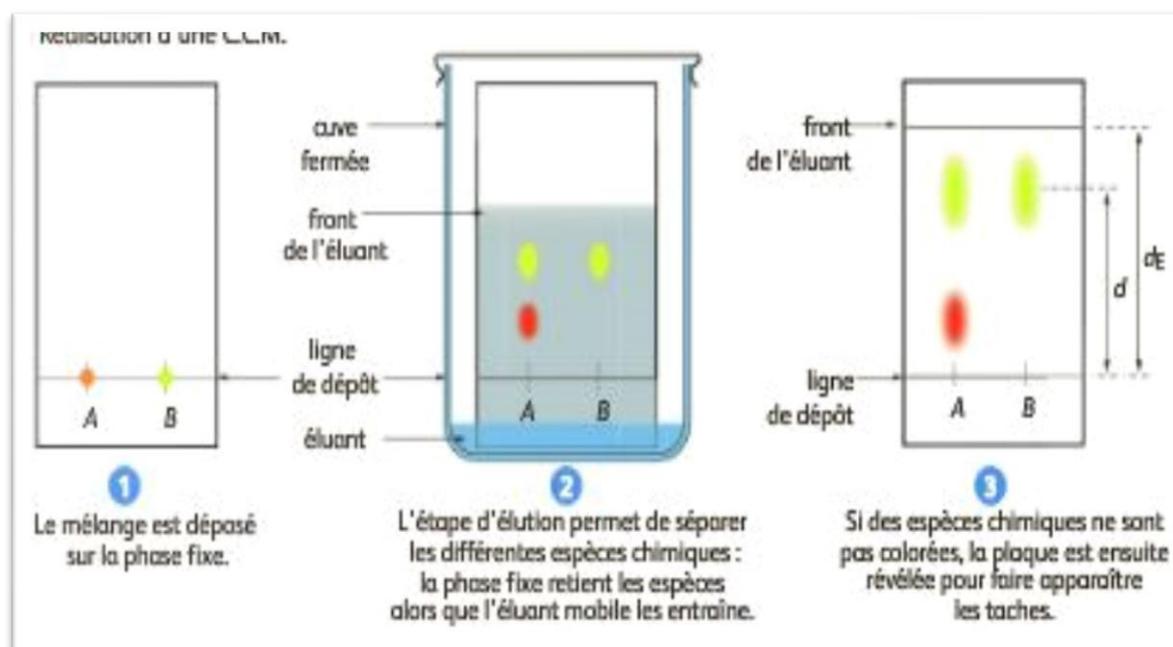


Figure 13 : Exemple d'éluion en CCM (Benalileche et Benalileche., 2016).

8. Etude de l'activité antioxydante :

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes $\text{ROO}\cdot$ par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter); ou les radicaux $\text{ABTS}\cdot$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-

ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphenyl-picrylhydrazyle) (Popivici et al., 2009).

8.1. Réaction entre le radical libre DPPH• et l'antioxydant :

Le composé chimique 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Fig.14). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

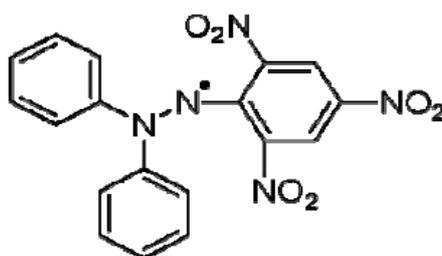
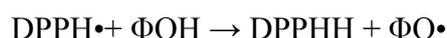


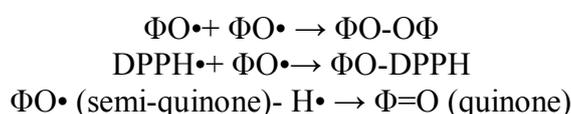
Figure 14 : Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) (Popovici et al., 2009).

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes: (i) la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques) ; (ii) la libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycosylées et des anthocyanes).

Dans le cas des composés phénoliques (Φ -OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transforme en une molécule stable DPPHH :



Plusieurs voies réactionnelles sont alors possibles qui forment des structures plus ou moins stables :



La capacité anti-radicalaire (capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne) ne peut être mesurée directement, mais par contrôle de l'effet de la réactivité. Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier (Popovici *et al.*, 2009).

8.2. Le stress oxydant :

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Il semble que la vraie origine d'un stress oxydant ne soit pas la génération d'ERO elle-même, mais le déséquilibre spatiotemporel entre la production d'ERO et leur élimination. L'équilibre peut être rompu lorsque la production est trop importante ou lorsque les systèmes de détoxification sont trop peu présents ou mal localisés (Khelfallah., 2013).

8.2.1. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électron (s) libre (s), non apparié (s) sur leur couche externe. Les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant ou prenant un électron : ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants.

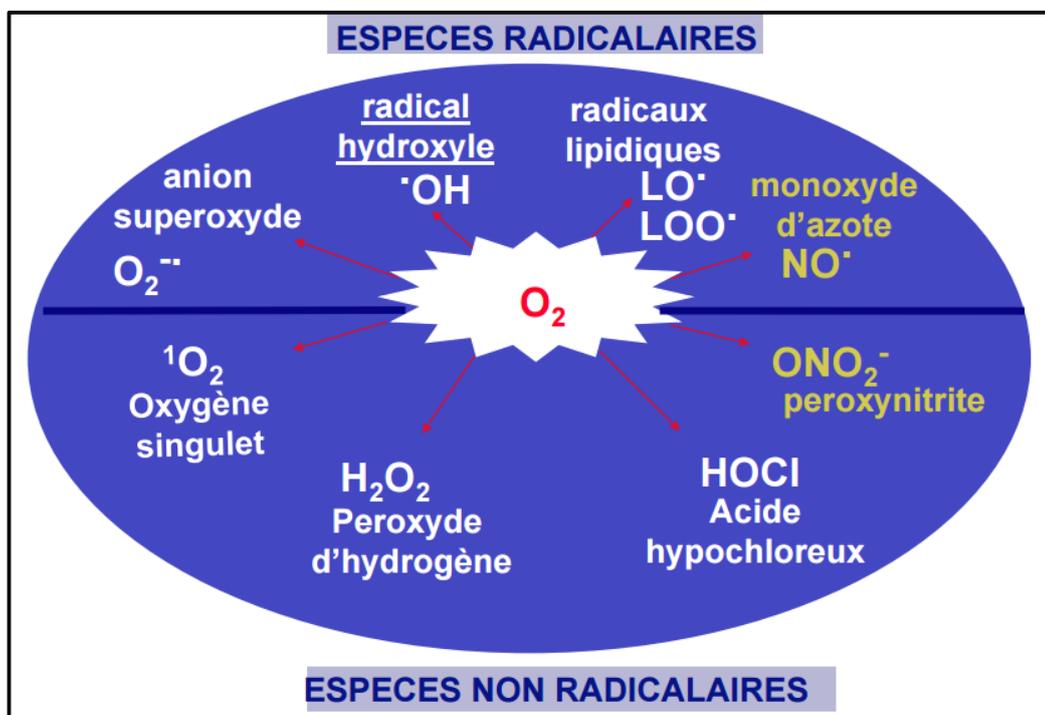


Figure 15 : Exemples des radicaux libres

Les plus grandes sources endogènes de production de RL est la mitochondrie. On trouve également le stress psychologique, l'inflammation (infection et maladies chronique) et l'obésité.

Les facteurs exogènes associés à une production accrue et/ou une diminution de l'élimination des RL sont également très variés : alimentation (Antibiotiques, alcools, aliment riche en protéines et lipides, les aliments ayant un IG élevé, faible consommation d'antioxydants...), CO₂ atmosphérique et les polluants (fumée de cigarettes, pollution atmosphérique, métaux lourds...).

Les radicaux libres sont responsables de plusieurs dommages au niveau de la cellule :

- **Dommages à l'ADN :**

Les ERO peuvent induire des lésions aux bases nucléiques (purine et pyrimidine) ; des cassures simple brin ou double brin de l'hélice d'ADN. Ces modifications peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. Les niveaux élevés de ces lésions ont été enregistrées dans plusieurs types tumoraux et sont grandement impliquées dans toutes les étapes de cancérogénèse (Khelfallah., 2013).

- **Dommages oxydatifs aux lipides :**

Alors que l'oxydation des lipides présente l'utilisation du substrat énergétique, la peroxydation lipidique est la dégradation du contenu lipidique membranaire, c'est ainsi qu'une altération de leur fonctionnalité aura lieu (modification de leur perméabilité, de leur fluidité, perte d'activité d'enzymes, de récepteurs....) (Khelfallah., 2013).

- **Dommages aux protéines :**

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir les modifications sous l'action des ERO et ERN. Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec l'altération de leurs structures primaires et secondaires. (Khelfallah., 2013).

8.2.2. Stress oxydant et pathologies :

De nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologie humaines différentes allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, neurodégénératives et le diabète. Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologique tel que le vieillissement(Khelfallah., 2013).

8.2.2.1. Stress oxydant et cancer :

La carcinogénécité du stress oxydant est principalement attribuée à la génotoxicité des ROS dans les différents processus cellulaire. Les cellules cancéreuses sont connues par leur métabolisme actif et sous une élévation d'un stress oxydatif, vraisemblables associé avec une prolifération cellulaire incontrôlée et dysfonction de la régulation métabolique(Khelfallah., 2013).

8.2.2.2. Stress oxydant et athérosclérose :

C'est l'oxydation de certaines lipoprotéines qui est aujourd'hui considérés comme une étape importante de l'athérosclérose. En effet, les LDL oxydées ne sont pas reconnues par les récepteurs habituels (récepteur cellulaire B/E) et sont alors catabolisées par d'autres voies. Elles vont s'accumuler dans les cellules spumeuses (macrophage gonflé de LDLox) observées au stade initial de la formation de la plaque d'athérome qui implique automatiquement une réduction du diamètre de vaisseau (Khelfallah., 2013).

8.3. Les composés phénoliques en tant qu'agents antioxydants :

Les composés phénoliques typiques possédant une activité anti oxydante appartiennent à deux principales classes qui sont : les acides phénoliques et flavonoïdes(Khelfallah., 2013).

8.3.1. Les acides phénoliques :

Les acides hydroxycinnamiques ont une activité antioxydante plus élevée par rapport à leur correspondant d'acides hydroxybenzoïques. La plus grande activité antioxydante des dérivés hydroxycinnamiques est liée à la présence d'une chaîne propionique latérale à la place d'une fonction carboxylique, de plus la double liaison peut stabiliser le radical phénoxy en augmentant leur activité antioxydante (Khelfallah., 2013).

8.3.2. Les flavonoïdes :

Plusieurs modes d'action de l'activité antioxydante des flavonoïdes ont été décrits :

- **Activité scavenger :**

Trois mécanismes proposés par lesquels les antioxydants phénoliques peuvent jouer leur activité scavenger :

- Le premier mécanisme inclut le transfert direct d'atome d'hydrogène à partir de l'antioxydant.

- Le deuxième mécanisme concerne le transfert d'un seul électron à partir de l'antioxydant au radical conduisant indirectement à l'abstraction d'atome d'hydrogène.
- Le troisième mécanisme a été conditionné séquentiellement par le transfert d'électron-perte de proton.

Ces trois mécanismes peuvent avoir lieu en parallèle mais avec des vitesses différentes.

- **Chélation des métaux de transition :**

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques peut s'exercer par la complexation des métaux de transition. En effet, ces derniers accélèrent la formation des ROS (**Khelfallah., 2013**).

- **L'activité inhibitrice d'enzymes :**

Les flavonoïdes sont connus par leur pouvoir d'inhibition d'enzyme dont, en particulier, les oxydoréductases qui font intervenir au cours de leur cycle catalytique des espèces radicalaires (**Khelfallah., 2013**).

9. Etude de l'activité antimicrobienne :

Les activités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du XXe siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés sont dues d'après (**Caillet et al., 2007 ; Bouaoun., 2007**) à la fraction des métabolites secondaires contenue dans les plantes.

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur (**Suhr et Nielsen., 2003**).

9.1. L'antibiogramme :

Un antibiogramme est une méthode d'analyse qui a pour but de déterminer la concentration minimale d'inhibition (CMI) de la croissance bactérienne face à un ou plusieurs antibiotiques. Elle peut se faire en milieu liquide (dans une culture bactérienne liquide) ou en milieu solide (sur une boîte de pétri gélosée) en ajoutant une concentration connue d'antibiotique. La CMI est la concentration ne permettant aucune croissance bactérienne (**Benalileche et Benalileche., 2016**).

9.2. Aromatogramme:

L'aromatogramme est une méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée des extraits de plante. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (Fauchère et Avril., 2002). L'aromatogramme se réalise aussi sur un milieu liquide par la méthode des disques (Belaiche., 1979).

9.3. Méthode de dilution :

Les produits à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide sans oublier que les techniques de dilutions exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et après incubation on note la présence ou l'absence de culture; la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (Ferhat., 2004).

10. Microorganismes testés :

10.1. Bactérie Gram (+) :

❖ *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré (Patrick et al., 1988). *S. aureus* est la cause de méningite, ostéomyélite et de diarrhée (Steven et al., 2004).

❖ *Bacillus subtilis*

Le *Bacillus subtilis* est une bactérie Gram positif résistante qui est présente dans les sols. On retrouve le *Bacillus subtilis* sur des aliments qu'il contamine. Une fois ingéré, le *Bacillus subtilis* peut être à l'origine d'une intoxication alimentaire. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout

arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Son temps de génération est d'environ 26 minutes. Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un pH compris entre 5,5 et 8,5, et à une température de 10 °C à 50 °C. **(Benalileche et Benalileche., 2016).**

10.2. Bactérie Gram (-) :

❖ *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à gram négatif **(Patrick et al., 1988)**, de forme non sporulée, mobile, **(Steven et al., 2004)**. Les bactéries *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont capables de déclencher des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies **(Patrick et al. 1988)**.

10.3. Champignons :

❖ *Rhizopus oryzae* :

On le trouve dans le sol, volontiers associé à des végétaux ou des excréments en décomposition. C'est l'agent le plus fréquent de Mucormycose rhinocérébrale chez le patient diabétique ou chez les patients d'hématologie très immunodéprimés. Il est également responsable d'infections pulmonaires, digestives ou disséminées. Plus rarement, il peut être la cause de mucormycoses cutanées chez le grand brûlé ou après traumatisme chez le patient immunocompétent présentant une plaie souillée par de la terre. Porte d'entrée généralement respiratoire, parfois cutanée **(Benalileche et Benalileche., 2016)**.

Chapitre 2:

MATERIEL ET METHODES

La partie pratique de notre travail, s'est déroulée en trois grandes étapes :

1. L'extraction de la partie aérienne et des graines de *Corchorus olitorius* Linn à l'aide d'un appareil d'extraction type Soxhlet, et d'un évaporateur rotatif type Butchi.
2. Criblage du contenu des différents extraits à l'aide de la chromatographie liquide sur couche mince (CCM) et de révélateurs spécifiques et caractéristiques. Identification et quantification des différentes familles de métabolites secondaires par des méthodes de dosage physico-chimique et spectrophotométrique.
3. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne *in vitro*.

1. Matériel d'étude :

1.1. Matériel végétal :

Les graines ainsi que la partie aérienne sèche de *Corchorus olitorius* Linn ont été achetées chez l'herboriste et identifiées comme étant cultivées dans la région d' « El-Taref (Algérie) ».



Figure 16 : Feuilles séchées de *Corchorus olitorius* Linn.

1.2. Matériel biologique :

L'activité antimicrobienne de *Corchorus olitorius* Linn a été testée sur quatre souches cibles ATCC provenant du laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'Activité Microbienne, Université des Frères Mentouri Constantine 1 :

Bactéries :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- *Escherichia coli* ATCC 25922

Champignon :

- *Rhizopus oryzae* : M491890.1

1.3. Matériel de laboratoire :

1. Les milieux nutritifs, ainsi que les milieux de culture spécifiques : «Mueller Hinton (MH) » pour les bactéries et « Sabouraud» pour les champignons, proviennent de l'Institut Pasteur Alger.
2. Les disques utilisés pour les tests antimicrobiens, ont été préparés à partir du papier Wathman 4mm, puis ont été stérilisés à chaleur humide.
3. Tous les solvants et produits chimiques utilisés sont de qualité analytique.

2. Méthodes d'études :

2.1. Extraction :

2.1.1. Broyage :

A l'aide d'un broyeur classique, 180g de feuilles de *Corchorus olitorius* Linn ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre plus ou moins fine. Ensuite, le broyat obtenu est transféré dans une cartouche en cellulose qui va à l'intérieur du Soxhlet, les graines quand à elles ont été extraites telles quelles avec le même appareil.



Figure 17 : Broyage des feuilles de *Corchorus olitorius* Linn à l'aide d'un broyeur classique.

2.1.2. Extraction par Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable qui permet la répétition de plusieurs cycles et l'obtention d'un percolât saturé en matière sèche (échantillon) à l'aide d'un solvant. Pour notre étude, après avoir introduit la cartouche de cellulose contenant le broyat dans le Soxhlet, nous avons ajouté un solvant, le méthanol jusqu'au 2/3 du ballon.

L'extraction qui continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide (broyat) chargée dans la cartouche, a permis au bout de 3 heures d'extraire le maximum de matière brute issue des feuilles, et d'obtenir après 5 heures celle issue des graines.

Cette extraction peut être obtenue par la méthode de macération à froid pendant quelques jours, voir plusieurs semaines, mais elle est coûteuse en temps et nécessite une plus grande quantité de solvant.

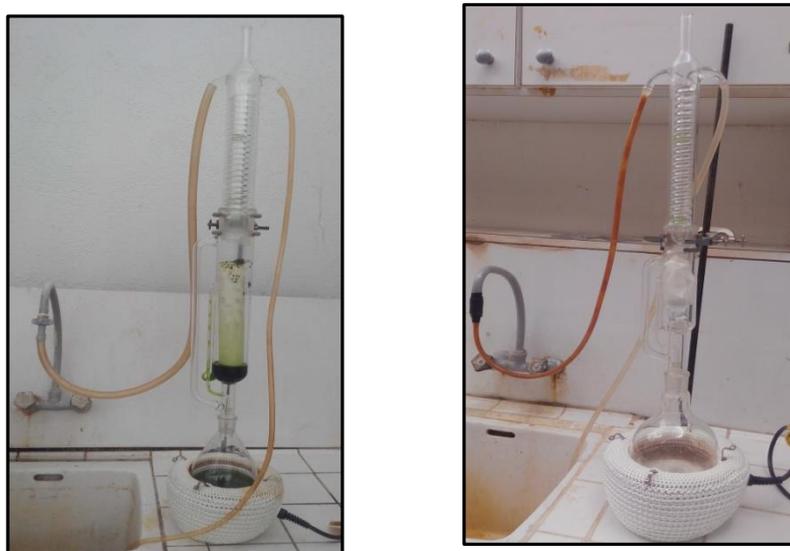


Figure 18 : Extraction par Soxhlet.

2.1.3. Évaporation :

Cette étape est réalisée grâce à un évaporateur rotatif type « Butchi ». L'appareil a été programmé à 40°C sous pression réduite, (la température et la pression sont appliquées pour les feuilles et les graines de la corète potagère « La Moloukhia »). L'extrait brut a été introduit dans un ballon vide et placé sur le rotavapor jusqu'à évaporation totale du méthanol (voir annexe 2).

Ensuite, nous avons procédé à la pesée de l'extrait brut sec ainsi obtenu, afin de calculer le rendement selon l'équation suivante :

$$R(\%) = \frac{M(\text{extrait})}{M(\text{échantillon})} \times 100$$



Figure 19 : Evaporation et pesé de l'extrait brute sec.

2.2 Analyse qualitative :

2.2.1. Criblage chimique du contenu d'extraits de graines et feuilles de « *Corchorus olitorius* Linn » par chromatographie liquide sur couche mince:

La chromatographie liquide sur couche mince de la corète potagère a été effectuée, avec une phase stationnaire solide (gel de silice fixée sur une plaque d'aluminium) et une phase mobile adéquate (un système de solvants).

Sur une même plaque CCM et à l'aide d'une micro pipette, nous déposons une goutte de la 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} fraction des feuilles de « La Mouloukhia » et une goutte de l'extrait des graines.

La plaque contenant les dépôts est mise dans une cuve en verre saturée par les vapeurs de l'éluant (tableau 9). La migration des molécules par capillarité est arrêtée, dès que le solvant atteint le front que nous avons dessiné au préalable sur la plaque, la plaque est alors à nouveau séchée à l'air et observée à l'œil nu puis révélée sous lampe UV à 254 et 356 nm (voir annexe 3) et à l'aide de réactifs chimiques : Vanilline sulfurique 1% et Ethanol /Acide sulfurique (9 :1).

Tableau 9 : Systèmes solvant testés pour l'élution en CCM.

système	Hexane	Acétate d'éthyle	méthanol
1	7	3	0
2	7	3	0.5

Les rapports frontaux sont ensuite calculés selon l'équation suivante :

$$Rf = \frac{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et la tache du produit A}}{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et le front du solvant B}}$$

2.3 Analyse quantitative :

2.3.1. Dosage des poly-phénols totaux :

Le dosage est réalisé par la méthode de Folin-Tiocalteu.

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les propriétés colorimétriques de réactif de Folin-Ciocalteu sont modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction -OH des phénols (Catalano *et al*, 1999). Ce réactif est sous forme d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstene W_8O_{23} et de molybdène MO_8O_3 , cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée.

Le protocole est le suivant : à 5 ml de Follin-Ciocalteu (1/10) sont ajoutés 0.4 mg/ml d'extraits de plante et de graines, après 10min 4 ml de Na_2CO_3 (75mg/ml) sont ajoutés, bien agiter le tout et laisser incuber 2h à l'abri de la lumière.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique (0-200 mg /ml)

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme d'extrait (mg EAG/ g d'extrait).

Rq : le même protocole est appliqué pour les extraits de feuilles et des graines de « *Corchorus olitorius* Linn ».

2.3.2. Dosage des Flavonoïdes :

La teneur en flavonoides a été quantifiée par le dosage au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Djeridane *et al.*, 2006) et (Boudiaf., 2006) selon le protocole suivant :

Le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm.

Brièvement 1 ml de solution méthanoïque d' $AlCl_3$ (2%) sont ajoutés 0.4 mg/ml d'extrait de plante. Bien agiter et incuber 15min à l'abri de la lumière.

Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage de la quercétine (0-35 mg/ml).

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg d'extrait).

Nos composés ont été caractérisés par spectrophotométrie UV-Visible:

L'absorbance de nos extraits a été mesuré en utilisant un spectrophotomètre de type JENWAY 6300 en mode (voir annexe 4). Les mesures sont effectuées dans des cuves en verre, l'absorbance pour les phénols est mesurée à 500 nm et pour les flavonoïdes à 765 nm.

Rq : Nous n'avons réalisé ce dosage que pour l'extrait de feuilles de « *Corchorus olitorius* Linn. » car la quantité de l'extrait et des graines été insuffisante.

3. Activité antioxydante :

3.1. Effet scavenger du radical DPPH :

Pour étudier l'activité antiradicalaire de l'extrait, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrayl) comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par Kirby et al (2005). Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno., 2002).

Brièvement, La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol. 30µL d'extrait est ajouté à 3mL DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. L'IC₅₀, l'EC₅₀ et l'activité anti radicalaire sont estimés selon les équations suivantes :

IC₅₀ = Déterminé graphiquement. C'est la concentration en extrait nécessaire pour l'inhibition du DPPH de 50%.

EC₅₀ = (IC₅₀/µg de DPPH/ml). C'est la concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale en DPPH.

Activité antiradicalaire = 1/ EC₅₀

4. Activité Anti microbienne :

L'activité anti microbienne *in vitro* de notre extrait de plante « *Corchorus olitorius* Linn » a été réalisé par la méthode de diffusion de disques sur milieux gélosé décrite par (Bijondi., 1993).

4.1. Préparation des dilutions de la Mouloukhia :

Nous avons établi pour cette étude une gamme de dilution en partant d'une solution mère à une concentration de 1g/10ml d'éthanol, ensuite nous avons réalisé la gamme de dilution suivante : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128.

4.2. Ensemencement des souches microbiennes :

On applique une petite quantité de chaque souche convenablement diluée dans une boîte de pétrie avec étalement au râteau ou par inondation ; on laisse sécher quelques minutes.

4.3. Application des extraits végétaux sur les disques :

Des disques de papier Wattman stériles (4 mm) sont préalablement imprégnés de 10 μ l de chaque dilution de la plante « *Corchorus olitorius* Linn » et sont ensuite déposés stérilement à la surface de la gélose Muller –Hinton pour les bactéries, et sur la gélose Sabouraud pour les champignons préalablement ensemencés par les souches microbiennes, laisser les disques diffuser quelque temps puis incuber toutes les boîtes 24h à 37°C. Le mélange éthanol/eau à été employé en tant que contrôle négatif.

L'activité antimicrobienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (mm) (Athamena et al., 2010).



Figure 20 : Ensemencement des souches microbiennes sur boîtes de pétries.

Chapitre 3 :

RESULTATS ET DISCUSSIONS

alimentation de tous les jours, mais surtout sous forme de salades ou d'épices plutôt que comme plats cuisinés qui sont additionnés de beaucoup de matières grasses.

2. Extraction :

2.1. Broyage :

Nous obtenons 180 g de poudre plus ou moins fine.

2.2. Extaction par Soxhlet :

Nous avons réparti la quantité de poudre obtenue en trois fractions, la capacité de l'appareil étant limitée, l'extraction est ensuite continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide (broyat) chargée dans la cartouche, 3 heures pour extraire la matière brute issus des feuilles sous forme d'une gomme verdâtre, et 5 heures pour les graines pour obtenir un liquide dense jaune pale et huileux.

2.3. Evaporation :

Le but de cette étape est d'éliminer le solvant d'extraction à fin d'obtenir un extrait brut sec des deux parties : feuilles et graines de *Corchorus olitorius* Linn, sans en altérer les métabolites secondaires.

On a utilisé 2ml de méthanol pour la récupération de l'extrait brut des graines de *Corchorus olitorius* Linn dans des flacons ombrés et stériles que nous conserverons à -18°C jusqu'à utilisation.

2.3.1. Le rendement :

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 \text{ Mext/Méch.}$$

Où : R est le rendement en %

Mext est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg

Méch est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

Tableau 10 : Rendements, aspects et couleurs des extraits de feuilles et de graines de la Mouloukhia.

<i>Corchorus olitorius</i> Linn	Quantités en g	Rendements en %	Aspects des l'extraits	Couleurs des extraits
Feuilles	139,35 g	9,559 %	Gomme visqueuse et huileuse	Vert foncé
Graines	8.171 g	10,204 %	Liquide dense et huileux	Jaune pale

3. Analyse qualitative :

3.1. Criblage chimique du contenu d'extraits de graines et de feuilles de *Corchorus olitorius* Linn par chromatographie liquide sur couche mince :

Nous avons procédé à un screening chimique par CCM du contenu des phases issues de l'extraction par Soxhlet, afin d'en identifier et d'en évaluer la richesse en métabolites secondaires, pour ce faire nous avons utilisé deux systèmes d'éluion : comme le montre les figures 21 – 22. Après développement et séchage de la plaque CCM, le chromatogramme est visualisé sous la lampe UV et révélé à l'aide de réactifs chimiques, les composées apparaissent sous forme de spots intenses pour certains de couleurs jaune, mauve, bleu, vert et noir.

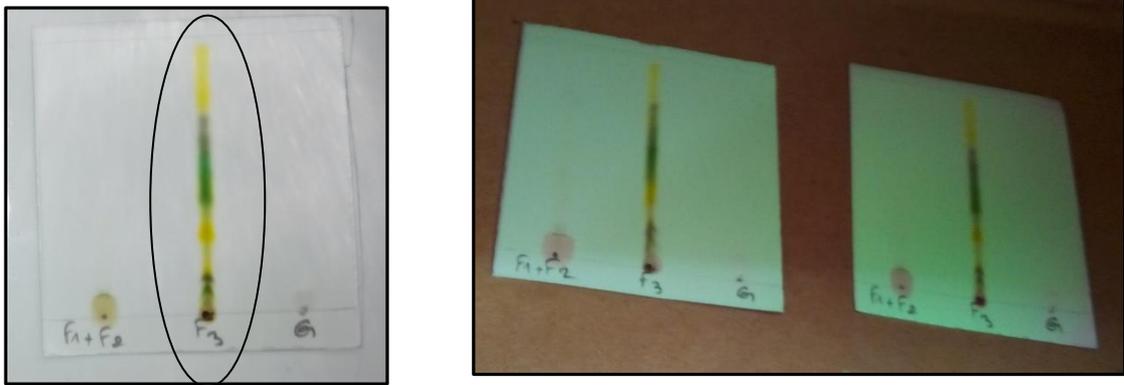


Figure 21 : Chromatogramme obtenu avec le 1^{er} système solvant avant et après visualisation sous lampe UV

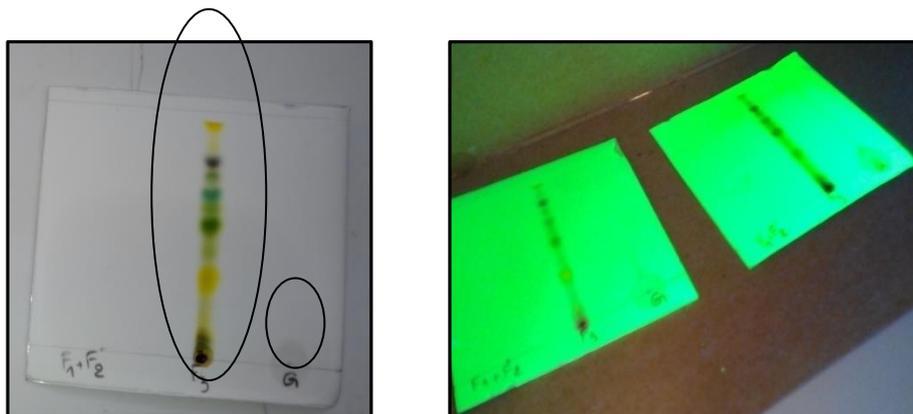


Figure 22 : Chromatogramme obtenu avec le 2^{ème} système solvant avant et après visualisation sous lampe UV

La Chromatographie liquide sur couche mince a deux rôles :

1. Elle permet d'identifier grossièrement les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans l'échantillon.
2. Elle permet d'établir les systèmes qu'on utilisera sur colonne chromatographique.

Après la séparation des composés par CCM par le deuxième système d'éluion, nous avons procédé à une révélation par la vanilline sulfurique qui a permis de donner comme résultat plusieurs spots de couleurs différentes, chaque couleur désigne une famille de métabolites secondaires définie.

3.2. Révélation :

3.2.1 Révélation par l'éthanol + acide sulfurique pour les saponines:

- **En comparant les migrations :**

Dans la figure 21, on observe que la (F1+F2) n'ont pas migré, car ils ont été endommagé par l'effet de la chaleur. Tandis que dans la F3, qui n'a pas été exposée à une température élevée, est restée intacte et donc on observe une migration et une bonne séparation de ses composés.

Pour les graines on observe qu'il y a aucune migration, cela peut être dû à la quantité insuffisante d'extrait de graines.

- **En comparant les couleurs :**

Dans la (F1+F2) et F3 on a trouvé une tache noir sur la base qui désigne le groupe de saponines connus par leur haut poids moléculaire, ce qui les empêche de migrer, donc, ces derniers sont résistants à la chaleur.

3.2.2. Révélation par la vanilline Sulfurique pour les flavonoïdes :

Dans la figure 22, on observe que la F3 montre une très bonne migration avec différentes colorations.

L'extrait de graines montre une tache très claire qui ne peut pas être observée à l'œil nu mais invisible sous lumière UV. Cette tache jaune très claire désigne une toute petite quantité de Flavonoïdes car la concentration de l'extrait est faible.

D'après les spots obtenus :

Tableau 11 : Révélation chimique et rapports frontaux des extraits de *Corchorus olitorius*

Linn

Couleurs des spots	Classe des métabolites secondaires	Rf du 1 ^{er} système	RF du 2 ^{ème} système
Jaune	Flavonols / Chalcones / auronés	Spot (1) = 0.94	Spot 1= 0.91
Mauve	Anthocyanosides	Spot (2) = 0.71	Spot 2= 0.78
Bleu	Co pigment (Flavones–anthocyanoside)	Spot- /	Spot 4 = 0.64
Vert	Chlorophylle	Spot(3) = 0.43	Spot 6= 0.52
Noir	Saponines	Spot(6) = 0.10	Spot 9= 0.09

Calcul des rapports frontaux « Rf » : $Rf = d_{spot} / d_{solvant}$

d = Distance

Rf = rapport frontaux.

D'après la différence entre les RF obtenus dans la fraction F3, la séparation par chromatographie sur colonne peut se faire facilement, et les composés purs isolés pourront être identifiés par RMN.

4. Analyse quantitative:

4.1. Dosage des poly-phénols totaux :

Après incubation de 2h à l'ombre, on a observé un changement de couleur du vert clair au bleu verdâtre, les résultats sont exprimés sur une moyenne de 3 essais.

Selon l'équation suivante la concentration des poly phénols totaux exprimés en (mg) équivalent d'acide gallique par (g) d'extrait de plante ou de graines est ainsi obtenue :

$$CPT(\text{mg EAG/g}) = C.V / M$$

CPT : Concentration de Polyphénols Totaux exprimée en équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

C : Concentration de l'acide gallique dans l'extrait.

V : Volume de l'extrait.

M : Masse de l'extrait.

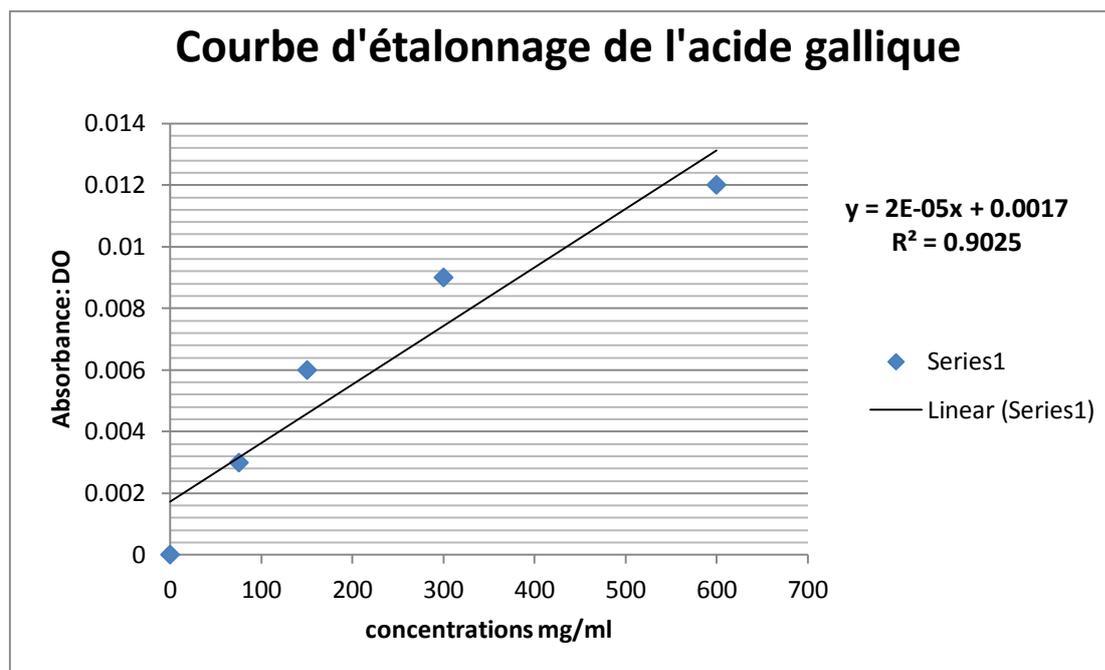


Figure 23 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique (mg/ml) (Moyenne \pm SD de trois essais)

Nous obtenons ainsi les résultats reportés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Teneur en polyphénols totaux dans les extraits de feuilles et graines de *Corchorus olitorius* Linn

Feuilles de « <i>Corchorus olitorius</i> Linn »		Teneur en poly-phénols totaux exprimée en équivalent d'acide gallique mg/g
Solvant	Concentration en acide gallique mg/ml	
Méthanol	82	20,2
Graines de « <i>Corchorus olitorius</i> Linn »		
Méthanol	25,5	6,375

- D'après VYA *et al.*, (2013); Mibei *et al.*, 2012; Borokini et Omotayo, (2012), l'analyse phytochimique qualitative de *Corchorus olitorius* Linn a bien montré également la présence de plusieurs types de métabolites secondaire dont les polyphénols totaux mais sans les quantifier.

4.2. Dosage des Flavonoïdes :

Après incubation de 15min à l'ombre, nous n'avons rien observé pour l'extrait de graines car la concentration des graines était probablement insuffisante, par contre l'extrait des feuilles, nous avons pu observer une couleur jaune qui vire vert l'orange, l'intensité de la couleur dépend de la concentration en flavonoïdes.

Selon l'équation suivante la concentration des flavonoïdes exprimés en (mg) de quercétine par (g) d'extrait de plante ou de graines est ainsi obtenue :

$$\text{CFT (mgEQ/g)} = \text{C.V} / \text{M}$$

CFT: Concentration des flavonoïdes totaux exprimée en équivalent de la quercétine par gramme d'extrait.

C : Concentration de la quercétine dans l'extrait.

V : Volume d'extrait.

M : Masse de l'extrait.

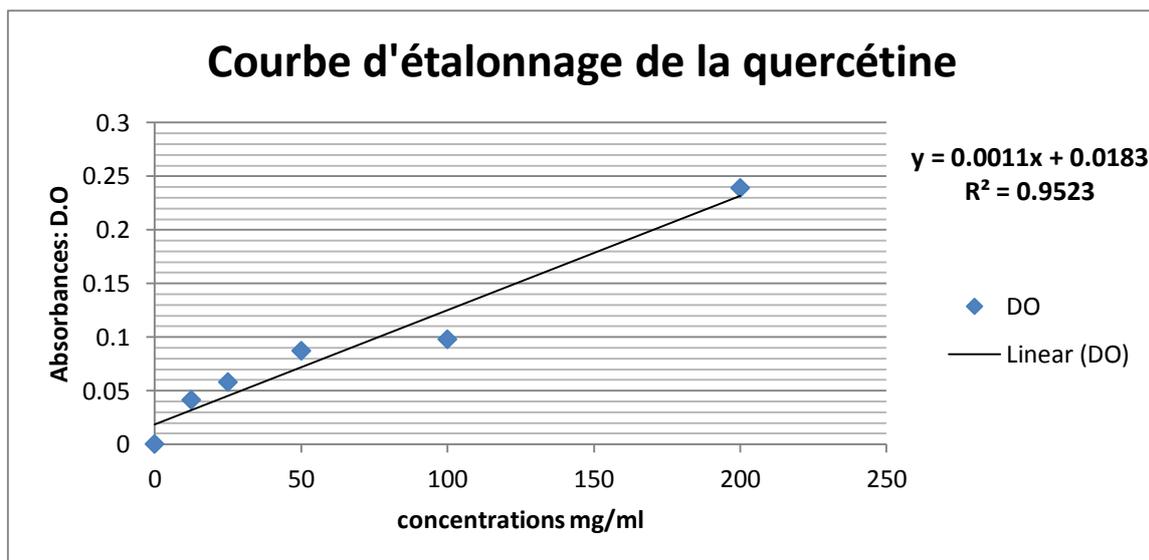


Figure 24 : Droite d'étalonnage de la quercétine (mg/ml).

Tableau 13 : Teneur en Flavonoïdes totaux dans l'extrait de feuilles de *Corchorus olerius* Linn

Feuilles de <i>Corchorus olerius</i> Linn		
Solvant	Concentration exprimée en équivalent quercétine mg/ml	Teneur en flavonoïdes exprimée en équivalent de quercétine mg/g
Méthanol	56,2	14,05

- D'après VYA et *al.*, (2013) ; Mibei et *al.*, (2012); Borokini et Omotayo, (2012), l'analyse phytochimique qualitative de *Corchorus olitorius* Linn a aussi montré la présence de plusieurs types de métabolites secondaire dont les Flavonoïdes, sans les doser.

5. Activité anti oxydante :

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles de « *Corchorus olitorius* Linn » vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517nm.

Le DPPH est un radical libre à la base de couleur mauve, qui se transforme en couleur jaune après formation du complexe (DPPH-Extrait *Corchorus olitorius* Linn), le changement de la couleur indique l'effet anti radicalaire.



Avant



Après

Figure 25 : Test antioxydant de *Corchorus olitorius* Linn sur le radical DPPH

A chaque fois que la concentration de l'extrait augmente, il y a une réduction du DPPH qui est démontrée par la diminution de l'absorption (voir graphe DPPH-extrait) à 517nm.

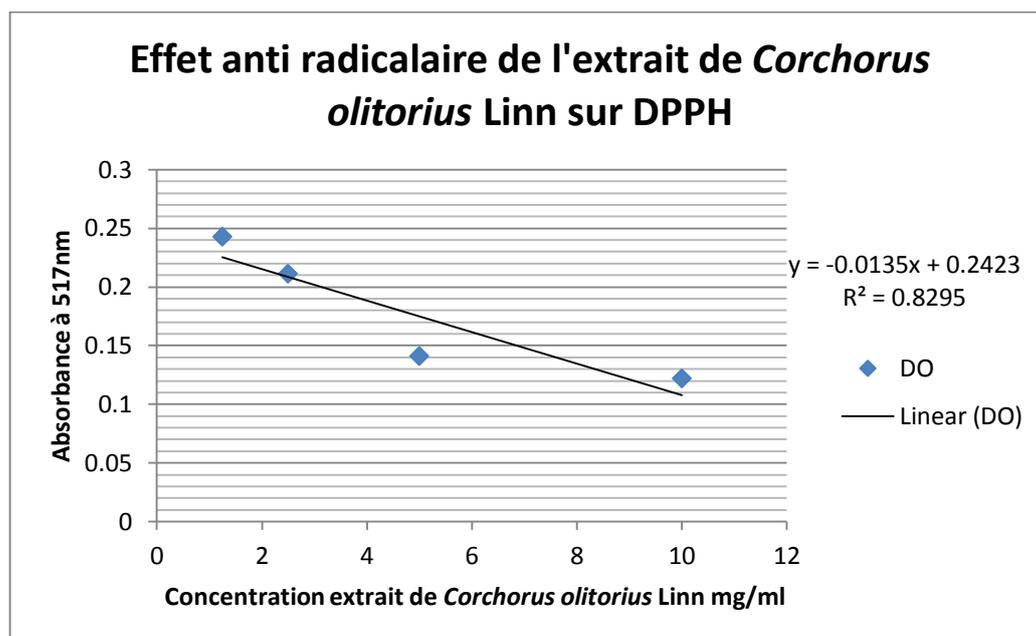


Figure 26 : Effet anti radicalaire de l'extrait de *Corchorus olitorius* Linn sur le radical libre DPPH.

5.1. Détermination d'IC₅₀ :

L'IC₅₀% est défini comme la concentration d'antioxydants requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante.

Ce paramètre est déterminé graphiquement : IC₅₀% = 86,4mg/ml

Par rapport à un control négatif du DPPH, pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, deux autres paramètres sont introduits :

-**Calcul de l' EC₅₀** qui prend en considération la concentration de DPPH dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50%, EC₅₀= (IC₅₀/μg de DPPH/ml)].

-**Calcul du pouvoir antiradicalaire (APR)** qui est inversement proportionnel à l'EC₅₀ (Prakash et *al.*, 2007).

Tableau 14 : Valeurs des concentrations efficaces et activité antiradicalaire de *Corchorus olitorius* Linn.

	IC ₅₀ (μg /ml)	EC ₅₀ (μg /μg DPPH)	APR (%)
Extrait méthanolique	86,4	0,017	58
Acide ascorbique	110	0,022	45,45

Le contrôle positif a été réalisé avec l'acide ascorbique un puissant antioxydant naturel utilisé dans l'industrie a donné les résultats suivants :

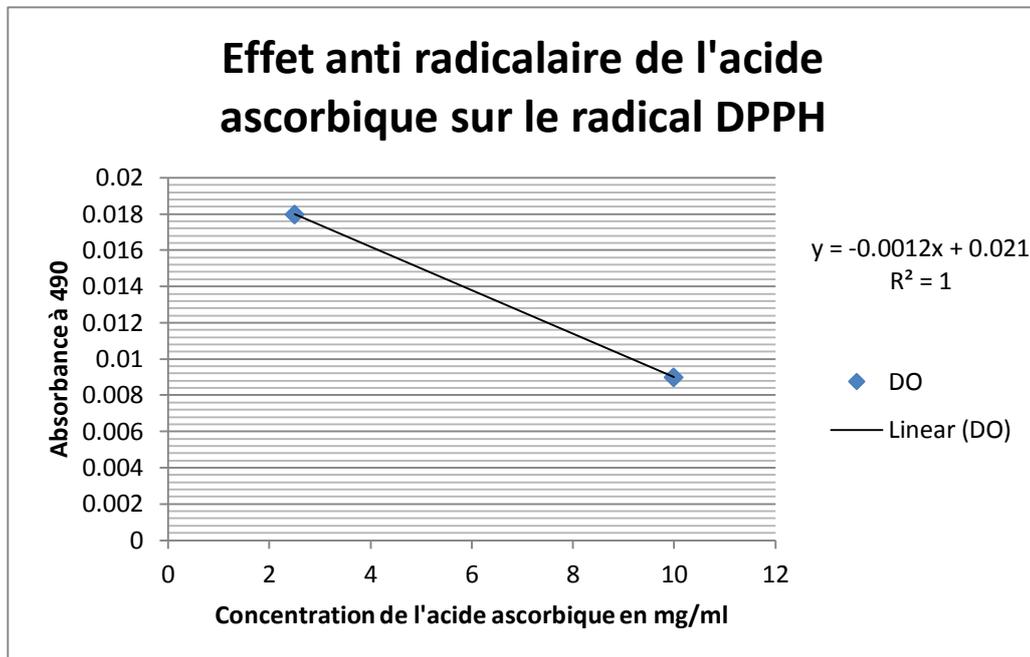


Figure 27 : Effet antiradicalaire de l'acide ascorbique sur le radical DPPH

Kirby et Schmidt (1997) ont rapporté que l'acide ascorbique (Vit C) a montré une IC_{50} (0.80mg/ml) qui reflète une grande activité antiradicalaire (APR=50) par comparaison avec notre essai positif à la Vitamine C qui a donné un résultat similaire (IC_{50} =1.1 mg/ml) et APR = 45,45.

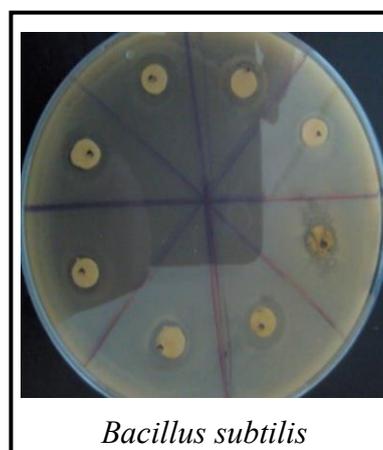
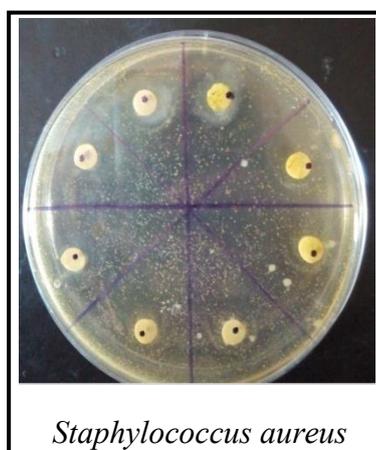
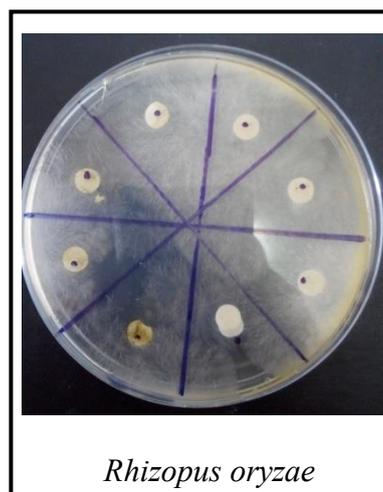
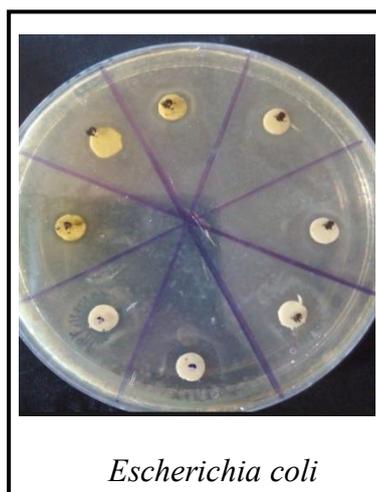
6. Activité anti microbienne :

L'activité anti microbienne *in vitro* de notre extrait de plante « *Corchorus olitorius* Linn » a été réalisé pour évaluer la capacité des métabolites secondaires à inhiber la croissance des différentes souches microbiennes par la méthode de diffusion de disques sur milieux gélosé décrite par (**Bijondi., 1993**).

Les résultats ont permis de savoir que l'activité antibactérienne est sensiblement la même pour toutes les souches testées, comme le montre le tableau avec des diamètres d'inhibition entre 8mm et 16mm (activité modérée) contre « *Escherichia coli* », une activité plus importante (bonne activité) contre « *Staphylococcus aureus* » et « *Bacillus subtilis* » avec une zone d'inhibition allant de 18 à 22 mm (figure 28).

Tableau 15 : Activité antimicrobienne de l'extrait de *Corchorus olitorius* Linn.

Souches testées	<i>Escherichia coli</i> (mm)	<i>Rhizopus oryzae</i> (mm)	<i>Bacillus subtilis</i> (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)
Dilutions				
1/ SM (1) 1g/10ml	16	/	20	22
2/ D1 (1/2)	16	/	16	22
3/D2 (1/4)	16	/	14	18
4/D3 (1/8)	14	/	14	18
5/D4 (1/16)	14	/	14	16
6/D5 (1/32)	10	/	12	14
7/D6 (1/64)	8	/	12	14
8/D7 (1/128)	8	/	12	10

**Figure 28** : Effet de l'extrait *Corchorus olitorius* Linn sur les différentes souches microbiennes testées

Il n'y a aucune activité antimicrobienne contre « *Rhizopus oryzae* », c'est une souche très résistante.

Discussion :

Comparaison avec d'autres références bibliographiques :

* Pour **İLHAN et al., (2007)**, la zone d'inhibition de « *Escherichia coli* » est de 20 mm, et dans notre étude la zone d'inhibition maximale est de 16mm.

* Pour **İLHAN et al., (2007)**, la zone d'inhibition de « *Staphylococcus aureus* » est de 19 mm, et dans notre étude la zone d'inhibition maximale est de 22mm.

Donc nos résultats restent homogènes et concordent avec la bibliographie.

Antibiogramme :

- Les résultats obtenus pour l'antibiogramme des antibiotiques : Gentamicine (10µg /disque), Cefotaxime (30µg/disque), Amoxicillin (20/10µg/disque), Spiromycine (100µg/disque), Nalidixique (30µg/disque) et Imipenème (10µg/disque), testés sur quelques unes de nos souches microbiennes.

Tableau 16: Aantibiogramme.

Antibiotique Souches testées		IPM	NA	Sr	CN	CTX	AMC
		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)					
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	60	22	0	-	-	-
Gram-	<i>Escherichia coli</i>	60	42	-	38	30	0
	<i>Bacillus subtilis</i>	40		30			

Le témoin n'a aucune activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches testées.

Discussion :

Les antibiotiques et les métabolites secondaires ont une activité antimicrobienne en commun ; les molécules bioactives comme par exemple les phénols s'attaquent aux membranes des microorganismes (détruisent les liaisons osidiques entre les composés du péptidoglycane) puis à leurs enzymes (action sur les groupements amines des protéines) les empêchant ainsi de se multiplier et de proliférer.

En vue des résultats obtenus pour l'antibiogramme, le pouvoir inhibiteur de notre extrait riche en polyphénols vis-à-vis des souches testées est comparable à celui de l'antibiotique NA (Nalidixique) qui montre une sensibilité contre les *Staphylococcus aureus*, et Sr (Spiromycine) qui montre une sensibilité contre *Bacillus subtilis*, mais, ce qui est très encourageant pour développer un candidat médicament.

CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons pu étudier chimiquement et biologiquement une plante usuellement utilisée comme plat dans la cuisine algérienne, afin de mettre en exergue ses vêtues médicinales déjà reconnues dans d'autres pharmacopées de par le monde, et qui est la corète potagère « *Corchorus olerius* Linn ».

Nous avons en premier lieu procédé à une extraction solide- liquide de notre plante médicinale (graines et partie aérienne) par Soxhlet, ensuite nous avons procédé à un criblage chimique des différents extraits obtenus, par chromatographie sur couche mince CCM et dosage spectrophotométrique afin d'en estimer le potentiel poly-phénolique par quantification à l'aide des courbes d'étalonnages de l'acide gallique et de la quercétine.

Enfin nous avons procédé à une évaluation de l'activité antioxydante réalisée par le test de piégeage du radical libre DPPH en calculant des différentes concentrations efficaces, et qui reflètent une très bonne activité anti-radicalaire. L'évaluation de activité antimicrobienne réalisée sur les différentes souches testées a montré que notre extraits a une bonne activité contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* ; et une activité modérée contre *Escherichia coli*.

L'évaluation de l'effet thérapeutique de notre plante, a donné des résultats très satisfaisants comparables à ceux relevés dans la littérature.

Ceci ouvre les perspectives à d'autres recherches, la première étant le fractionnement de l'extrait par chromatographie sur colonne afin d'identifier la/les molécule(s) active(s) responsable(s) de ces deux importants effets thérapeutiques, la deuxième étant la valeur nutritionnelle de la plante et son utilisation à la place de plusieurs compléments alimentaires et médicaments chimiques ayant des effets secondaires néfastes pour la santé de l'homme.

Afin de préserver notre santé et bien être, naturellement, nous recommandons de consommer la corète potagère plus souvent mais plutôt comme salade sous forme de feuilles vertes ou comme épice ajoutée aux plats, et ce pour sa richesse importante en poly-phénols, flavonoides, Omega 3 et plusieurs vitamines et autres molécules d'intérêt qui risque d'être altérés par le chauffage.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- ATHAMENA S., CHALGHEM I., KASSAH –LAOUAR A., LAROUI S., KHEBRI S. (2010).** Activité antioxydante et antibactérienne d'extraits de *CUMINUM CYMINUM* L. Lebanese Science Journal. 11 (1) : 70-71.
- BELAICHE P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
- BENALILECHE M., BENALILECHE Y. (2016).** Essais bio-guidés du percolât de *Cinnamomum zeylanicum*. Mémoire de Master 2, Université des frères Mentouri, Constantine. pp 13-28.
- BIJONDI D., CIANCI P.A., GERACI R.C. (1993).** Antimicrobial and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and fragrance journal*. 331-377.
- BLOIS S. (1958).** Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 4617 : 1199-1200.
- BONNET P. (2015).** *Corchorus Olitorius* (PROTA). *Plant Resources of Tropical Africa*. 1 (529) : 1-2.
- BOROKINI T.I., OMOTAYO F.O. (2012).** Phytochemical and ethnobotanical study of some selected medicinal plants from Nigeria. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6 (7) : 1106-118.
- BOUAOUN D. (2007).** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula Boiss*. *Phytothérapie*. 5 : 129-134.
- BOUDIAF K. (2006).** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et antiradicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister, Setif.
- BOUTAGHANE N. (2015).** Métabolites secondaires. Cours de Biochimie végétale. Université des Frères Mentouri, Constantine.
- BRUNETON J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc. Lavoisier 3ème édition, Paris.

- CAILLET S., LACROIX M. (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaires. INRS-Institut Armand Frappier,(RESALA). pp 1-8.
- CATALANO L., FRANCO I., DE NOBILI M., LEITA L. (1999).** Polyphenols in olive mill waste waters and their depuration plant effluents : a comparaison of the Follin-Ciocalteu and HPLC methods. *Agrochimica*. 43 : 193-205.
- DJERIDANE A., YOUSFI M., NADJEMI D., BOUTASSOUNA D., STOKER P., VIDAL N. (2006).** Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds. *Foods chemistry*. 97: 654-660.
- FAUCHERE J., AVRIL J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. 15 : 252-253, 10 : 151-176.
- FERHAT M. (2009).** Recherche de substances bio actives de *Centaurea microcarpa coss* et dur. Diplôme d'étude supérieure de Biochimie Université de M'sila. 12-22.
- GAHBICHE S. (2009).** La phytothérapie. Cours de Thalassothérapie. Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Sousse. pp 3-4.
- GRIFFITHS L. (1958).** Phenolic acids and flavonoids of *Theobroma cocoa* L.; separation and identification by peper chromatography. *Biochemistry*. 70 (1) : 120-125.
- ILHAN S ., SAVAROGLU F ., ÇOLAK F. (2007).** Antibacterial and Antifungal activity of *Corchorus olitorius* L. (Molokhia) Extracts. *International. Journal of Natural and Engineering Sciences*. 1 (3) : 59-61.
- ISERIN P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse. Paris. pp 9-16.
- KHELFALLAH A. (2013).** Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires. Thèse de Magister, Université des frères Mentouri, Constantine.
- KIEBRE M., BATIONO KANDO P., KIEBRE Z., SAWADOGO M., SAWADOGO N., SAWADOGO B., NANEMA R.K., TRAORE R.E. (2016).** Evaluation agromorphologique d'accessions de corète potagère (*Corchorus olitorius*. L) du Burkina Faso. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 1 (14) : 198-209.

- KIRBY A., SCHMIDT R. (1997).** The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs. *Journal ethnopharmacol.* 56 (2) : 103-108.
- LI C.J., HUANG S.Y., WU M.Y., CHEN Y.C., TSANG S.F., CHYUAN J.H., HSU H.Y. (2012).** Induction of Apoptosis by Ethanolic Extract of *Corchorus olitorius* Leaf in Human Hepatocellular Carcinoma (HepG2) Cells via a Mitochondria-Dependent Pathway. *Molecules.* 17 : 9348-9360.
- LOUMEREM M., ALERCIA A. (2016).** Descriptors for jute (*Corchorus olitorius* L). *Genetic Resources and Crop Evolution.* 63: 1103-1111.
- MAHMOUD A.S., THAO N., MARIO A. (2016).** *Corchorus Olitorius* Linn: A Rich Source of Ω 3-Fatty Acids. *Pharmaceutica Analytica Acta.*7(6): 1-9.
- MARANDI R.R., BRITTO S.J. (2015).** Medicinal properties of edible weeds of crop fields and wild plants eaten by oraoon tribals of latehar district, Jharkhand. *International Journal of Life science and Pharma Research.* 2 (5): L9-L20.
- MERGHEM R. (2009).** *Element de biochimie végétale*, ed. Bahaeddine, Constantine, Algérie. pp 93-160.
- MIBEI E.K., OJIJON N.K., KARANJA S.M., KINYUA J.K. (2012).** Phytochemical and antioxydant analysis of methanolic extracts of four African indigenous leafy vegetables. *Annals. Food Science and Technology.* 1 (13) : 37-42.
- OSAWARU M.E., OGWU M.C., CHIME A.O., AMORIGHOYE A.R. (2012).** Morphological evaluation and protein profiling of three accessions of Nigerian *Corchorus* Linn.Species. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences.* 5 (1) : 26-32.
- PARAKASH D. (2007).** Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *International journal of food science and nutrition.* 58 (1) : 18-28.
- PATRICK J., HAINES B. (1988).** Training and transfer of fault finding skill. *Ergonomics.* 31 : 193-210.

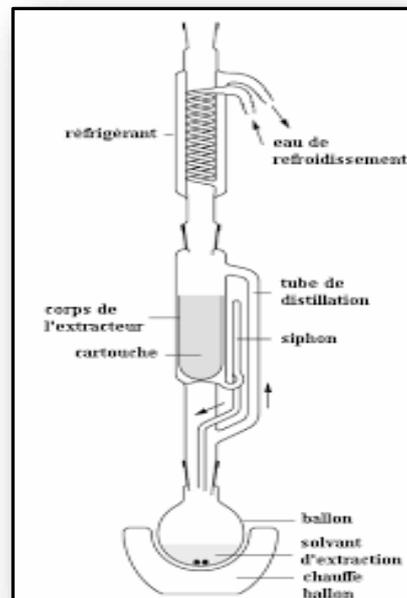
- PENCHEV P.I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat, Toulouse. pp 50-53.
- POPOVICI C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel. 4 : 25-39.
- SANCHEZ-MORENO C. (2002).** Review : Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. Food science and technology international. 8 : 121-137.
- STEINER A.M., AGBEMAFLE I., SETORGLO J., DANQUAH A.O., ANDERSON A.K. (2014).** Carotenoids content of *Corchorus olitorius* and *Solanum macrocarpon* - commonly used Ghanaian vegetables. International Food research Journal. 21 (5) : 2063-2067.
- STEVENS E., ARMSTRONG K., BEZAR H., GRIFFIN W., HAMPTON J. (2004).** Fodder oats: an overview (Chapter II). Plant Production and Protection Series No. 33, FAO. Rome.
- SUHR K.I., NIELSEN P.V. (2003).** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal of Application Microbiology. 94 : 665-674.
- UTHAYAKUMAR T. (2014).** Caractérisation des procédés de transformation de certains plats traditionnels de la région de Sidi Bouzid en Tunisie et évaluation de la valeur nutritionnelle de ces plats. Thèse de Master en Biologie et santé, Montpellier 1. pp 17-20.
- VYA B., BOYE A., QUANSAH N. (2013).** Antioxidant and wound healing studies on the extracts of *Corchorus olitorius* leaf. World Essays Journal. 7 : 67-73.
- BENARBA B., BELABID L., RIGHI K., BEKKAR A., ELOUISSI M., KHALDI A., HAMIMED.,A. (2015).** Ethnobotanicals study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). Journal of ethnopharmacol. 175 : 626-637.

ANNEXES

Annexe 1 : Soxhlet (Laboratoire de Biochimie RDC, Université Des Frères Mentouri)

L'extraction de notre produit a été réalisée à l'aide d'un Soxhlet NS 45/40 PRECISO WITEG GERMANY 100ML.

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure 29 est composé d'un corps en verre, dans lequel est placé une cartouche poreuse en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles.



Annexe 2 : Le rot-vapor (Laboratoire de Biochimie RDC, Université Des Frères Mentouri)

L'évaporation des différents solvants a été effectuée à l'aide du rotavapor BUTCHI de type R II.

Il est composé de plusieurs parties :

- Un réfrigérant en spirale, équipé d'une prise de vide et d'un robinet pour casser le vide.
- Un ballon de recette pour le distillat, situé dans la partie basse du réfrigérant,
- Un moteur, qui assure la rotation du ballon évaporateur (en forme de poire), par l'intermédiaire d'un tube rotatif d'admission des vapeurs. Le ballon évaporateur contient la solution dont on doit chasser le/les solvant(s),
- Un bain marie, chargé de chauffer le ballon évaporateur (car l'évaporation est un processus endothermique).



Annexe 3 : La Lampe UV (Laboratoire GBBV, Université Des Frères Mentouri)

La visualisation de la plaque CCM, a été réalisée à l'aide d'une lampe UV de type UVSL-58.

La lampe à rayons ultraviolets est une ampoule fluorescente qui envoie des rayons ultraviolets à travers un milieu que l'on souhaite stériliser sans altérer ses propriétés.



Cette lampe à rayons UV a plusieurs utilités

- Dans l'industrie pour stériliser l'eau utilisée dans la fabrication du fromage, de même pour la stérilisation de la gélose des boîtes de Petri en microbiologie, ce qui permet de consommer moins d'énergie qu'une stérilisation par autoclave.
- Des minerais ou des gemmes sont analysés avec des rayons UV.
- L'identification des billets de banque qui peuvent paraître semblables sous la lumière visible et différents sous la lumière UV.
- En biochimie ou dans certains effets spéciaux, des colorants fluorescents UV sont employés dans de nombreuses applications.
- Pour le séchage des encres et de certaines colles.
- Pour la stérilisation de l'eau des puits de ville.
- pour la dégradation des produits phénoliques comme l'acide paracoumarique.

Annexe 4 : Le spectrophotomètre (Laboratoire GBBV, Université Des Frères Mentouri)

L'analyse par spectrophotométrie d'absorption UV-Vis, a été réalisée au laboratoire de Génétique, Biochimie et de Biotechnologie végétale à l'aide d'un spectrophotomètre UV.



✓ **PRINCIPE :**

Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration C contenue dans une cuve d'épaisseur l.

Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise. Bouguer, Lambert et Beer ont étudié les relations qui existent entre I_0 et I : l'intensité d'une lumière monochromatique traversant un milieu où elle est absorbée décroît de façon exponentielle : $I = I_0 e^{-kIC}$

* I_0 est l'intensité de la lumière incidente

* I est l'intensité après passage à travers la cuve contenant la solution (intensité transmise)

* l est la distance traversée par la lumière (épaisseur de la cuve) (en cm)

* C est la concentration des espèces absorbantes

* k est une constante caractéristique de l'échantillon.

Cette équation peut se réécrire $\log(I_0/I) = k l C / 2.3 = \epsilon l C$.

* $\log(I_0/I)$ est appelé absorbance (A)

* $I/I_0 = T$ est la transmission

* ϵ est le coefficient d'extinction molaire ; c'est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée. Si C est la molarité, ϵ est en $L.mol^{-1} .cm^{-1}$.

On obtient alors la relation connue sous le nom de loi de Beer-Lambert :

$$A = - \log T = \epsilon l C$$

Annexe 5 : L'étuve (Laboratoire GBBV, Université Des Frères Mentouri)

L'incubation des souches a été réalisée au laboratoire de biotechnologie végétale à l'aide d'une étuve **MEMMERT**.

L'étuve de laboratoire est un appareil compact utilisé :

- Dans le domaine des matériaux composites (par exemple), pour assurer la pré-polymérisation et la cuisson (polymérisation) de pièces à base de résines thermodurcissables ;
- Pour effectuer des post-cuissons ;
- Pour réaliser divers essais (séchage, teneur en extrait sec⁴, taux de gonflement, dissolution, traction, etc.) ;
- Ou simplement pour ramollir des matériaux thermoplastiques afin de les échantillonner (coupe facilitée) ou de les rendre applicables (par diminution de la viscosité).



**Annexe 6 : Apports nutritionnels conseillés des 23 nutriments
qualifiants la corète potagère (Uthayakumar., 2014)**

Nutriments	Unité	ANC
Fibres	g	25
Vitamine C	mg	110
Folates (B9)	µg	315
DHA	g	0,11
Vitamine B6	mg	1,7
Riboflavine (B2)	mg	1,6
Calcium	mg	900
Fer	mg	12,5
Vitamine D	µg	5
Acide α -linoléique	g	1,8
Magnésium	mg	390
Potassium	mg	3100
Zinc	mg	11
Vitamine E	mg	12
Thiamine (B1)	mg	1,2
Vitamine A	µg	700
Vitamine B3	mg	13
Acide linoléique	g	9
Vitamine B12	µg	2,4
Cuivre	mg	1,8
Sélénium	µg	55
Iode	µg	150

RESUMES

Résumé :

Les investigations phytochimiques des plantes médicinales a connu un essor considérable ces dernières années, grâce à la pharmacologie qui s'intéresse à la découverte de nouvelles molécules exprimant une activité thérapeutique et leur développement en médicaments utiles.

Le but de ce travail, est l'étude de notre plante médicinale *Corchorus olitorius* Linn aussi bien sur le plan chimique que biologique, et qui ont révélé sa richesse en métabolites secondaires, c'est pour cela que nous avons procédé à leur identification ainsi que leur quantification afin d'évaluer leur potentiel antioxydant et antimicrobien. Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé des méthodes d'analyses qualitatives et quantitatives : la chromatographie sur couche mince (CCM), et spectrophotométrie UV.

L'effet antioxydant de notre plante a été évalué par la réduction du radical libre DPPH par les antioxydants contenus dans *Corchorus olitorius* Linn, l'effet antimicrobien a été évalué par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé Mueller-Hinton, pour 1 bactéries Gram (-) : *Escherichia coli* : ATCC 25922, deux bactéries Gram (+) : *Staphylococcus aureus* : ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et sur gélose Sabouraud pour un Champignon : *Rhizopus oryzae* : M491890.1.

Ceci confirme des résultats déjà établies et ouvre les perspectives à un fractionnement bio-guidé des extraits actifs afin d'identifier les molécules responsables des deux importants effets thérapeutiques investis.

Mots clés : *Corchorus olitorius* Linn, poly-phénols, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract:

The phytochemical investigation of medicinal plants has grown considerably in recent years, thanks to pharmacology that is interested in the discovery of new molecules expressing therapeutic activity and their development into useful drugs

The aim of this work is to study our medicinal plant *Corchorus olitorius* Linn both chemically and biologically, which revealed its richness in secondary metabolites, which is why we have identified them as well as their Quantification in order to assess their antioxidant and antimicrobial potential. To achieve our goal, we used qualitative and quantitative analysis methods: thin layer chromatography (TLC) and spectrophotometric UV.

The antioxidant effect of our plant was assessed by the reaction between DPPH and the antioxidants contained in *Corchorus olitorius* Linn, the antimicrobial effect was evaluated by the Mueller-Hinton disk diffusion method for one bacteria Gram (-): *Escherichia coli*: ATCC25922, and two bacterias Gram (+) *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and on Sabouraud agar for a fungus: *Rhizopus oryzae*: M491890.1).

This confirms results already established and opens the prospects to a bio-guided fractionation of the active extracts in order to identify the molecules responsible for the two important therapeutic effects.

Key words : *Corchorus olitorius* Linn, Antioxydant activity, Polyphenols, antimicrobial activity.

الملخص:

التحقيقات النباتية للنباتات الطبية عرفت توسع كبير في هذه السنوات الأخيرة بفضل علم الصيدلة الذي يهتم باكتشاف الجزيئات الجديدة التي تعبر عن النشاط العلاجي و تطورها في الأدوية المفيدة.

الهدف من هذا العمل هو دراسة نبتتنا الطبية *Corchorus olitorius* Linn على حد سواء كميائيا و بيولوجيا و الذي كشف عن ثروتها و غناها بالمواد الأيضية الثانوية و كذلك التحديد الكمي بغرض تقييم إمكاناتها و قدرتها المضادة للأكسدة و المضادة للجراثيم.

من أجل الوصول إلى هدفنا، استعملنا طرق تحليلية و كيفية و كمية : الاستشراب اللوني بالطبقة الرقيقة و المطياف الضوئي فوق البنفسجي. الأثر المضاد للأكسدة لنبتتنا حدد بإسترجاع الجذر الحر DPPH بمضادات الأكسدة الموجودة في *Corchorus olitorius* Linn.

الأثر المضاد للجراثيم حدد بطريقة انتشار الأقراص فوق وسط الأجار Mueller Hinton الخاص بالبكتيريا Gram (+) مثل *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و *Staphylococcus aureus* ATCC2592 و بكتيريا Gram (-) مثل *Escherichia coli* ATCC25922 و الأجار Sabouraud للفطر *Rhizopus oryzae* M491890.1. هذا أكد نتائج أنشأت مسبقا و تحت احتمالات التجزئة الموجهة الحيوية للمستخلصات النشطة من أجل تحديد الجزيئات المسؤولة عن الاثنين من الآثار العلاجية المهمة.

كلمات مفتاحية : ملوخية ، مضادات الأكسدة، مضاد للجراثيم.

Année universitaire : 2016-2017	Présenté par : Benabid Nahla Bendal Meriem						
Potentiel poly-phénolique et applications biologiques de <i>Corchorus olitorius</i> Linn.							
Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Biochimie / Nutrition Moléculaire et Santé.							
<p>Résumé :</p> <p>Les investigations phytochimiques des plantes médicinales a connu un essor considérable ces dernières années, grâce à la pharmacologie qui s'intéresse à la découverte de nouvelles molécules exprimant une activité thérapeutique et leur développement en médicaments utiles.</p> <p>Le but de ce travail, est l'étude de notre plante médicinale <i>Corchorus olitorius</i> Linn aussi bien sur le plan chimique que biologique, et qui ont révélé sa richesse en métabolites secondaires, c'est pour cela que nous avons procédé à leur identification ainsi que leur quantification afin d'évaluer leur potentiel antioxydant et antimicrobien. Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé des méthodes d'analyses qualitatives et quantitatives : la chromatographie sur couche mince (CCM), et spectrophotométrie UV.</p> <p>L'effet antioxydant de notre plante a été évalué par la réduction du radical libre DPPH par les antioxydants contenus dans <i>Corchorus olitorius</i> Linn, l'effet antimicrobien a été évalué par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé Mueller-Hinton, pour 1 bactéries Gram (-) : <i>Escherichia coli</i> : ATCC 25922, deux bactéries Gram (+) : <i>Staphylococcus aureus</i> : ATCC 25923, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et sur gélose Sabouraud pour un Champignon : <i>Rhizopus oryzae</i> : M491890.1.</p> <p>Ceci confirme des résultats déjà établies et ouvre les perspectives à un fractionnement bio-guidé des extraits actifs afin d'identifier les molécules responsables des deux importants effets thérapeutiques investis.</p> <p>Mots clés : <i>Corchorus olitorius</i> Linn, poly-phénols, activité antioxydante, activité antimicrobienne.</p>							
Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales.							
<p>Jury d'évaluation :</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">Président du jury : Mr Necib Y.</td> <td style="width: 50%;">Pr. UFM Constantine1</td> </tr> <tr> <td>Rapporteur: Mme Mouas T. N.</td> <td>MCA. UFM Constantine1</td> </tr> <tr> <td>Examineur : Mlle Falek O.</td> <td>MAA. INATAA. UFM Constantine 1</td> </tr> </table>		Président du jury : Mr Necib Y.	Pr. UFM Constantine1	Rapporteur: Mme Mouas T. N.	MCA. UFM Constantine1	Examineur : Mlle Falek O.	MAA. INATAA. UFM Constantine 1
Président du jury : Mr Necib Y.	Pr. UFM Constantine1						
Rapporteur: Mme Mouas T. N.	MCA. UFM Constantine1						
Examineur : Mlle Falek O.	MAA. INATAA. UFM Constantine 1						