REPUBLIQUEALGERIENNEDEMOCRATIQUEET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université de Médéa
Faculté des sciences
Département de science de la nature et de la vie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie
Spécialité : *Microbiologie Appliquée*

Thème :

Évaluation des activités antimicrobienne et antioxydante et caractérisation phytochimique des extraits de la plante *Asparagus officinalis* récoltée de la wilaya de Médéa

Présentée par :
- Hafri Anfel
- OULD CHAKMAKDJI Nesrine
- KHOUDRIA Ahlem

Soutenue publiquement le 26 juin 2024 devant le jury :

Encadreur	HOCEINI Amina	MCA	Université de Médéa
Co promotrice	CHAOUATI Karima	MAA	Université de Médéa
Président	ATSAMNIA Djamel	MCA	Université de Médéa
Examinatrice	HAMZA Imane	MCB	Université de Médéa

Année universitaire 2023/2024



}يَ ۡ ٱلَّ ِينَ ءَامَنُوٓا ۡ ِذَا قِيلَ لَكُمۡ تَفَسَّحُوا ۡ فِي ٱلۡمَجَٰلِسِ فَٱفۡسَحُوا ۡ يَفۡسَحِ ٱللَّهُ لَكُمۡ ۖ وَإِذَا قِيلَ ٱنشُزُوا ۡ فَٱنشُزُوا ۡ يَرۡفَعِ ٱللَّهُ ٱلَّ ِينَ ءَامَنُوا ۡ مِنكُمۡ وَٱلَّ ِينَ أُوتُوا ۡ ٱلۡعِلۡمَ دَرَجَٰتٖ ۚ

]المجادلة[. ١١ :

REMERCIMENT

Le travail de ce mémoire s'inscrit dans le cadre d'un projet de fin d'études réalisé à l'université YAHIA FARES de Médéa.

Nous remercions notre créateur Allah « هللا », Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donnés pour mener ce travail à terme.

Nous commençons par exprimer nos profondes reconnaissances et nos vifs remerciements à notre promotrice Docteur HOCEINI Amina et à notre Co-promotrice Mme ChAAOUATI Karima pour leurs temps précieux qu'ils nous ont consacré, qui ont dirigé et suivi nos travaux et qui ont toujours su nous faire confiance et nous apporter l'aide nécessaire, tant sur le plan scientifique que moral, Merci de nous avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; on ne peut, Madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

On tient à remercier Mr ATSAMNIA Djamel d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

On tient à remercier Mme HAMZA Imane d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous tenons à vous remercier pour tout ce que vous nous avez apporté tout au long de nos études.

Modeste travail, trouvez ici toutes nos expressions respectueuses.

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres du laboratoire de bactériologie et physico-chimique du groupe SAIDAL antibiotical de Médéa.

J'exprime également mes remerciements à :

Messieur Fouad Zouambia, pour l'analyse physico chimique.

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Grâce à **DIEU le TOUT PUISSANT** ; qui m'a donné la capacité d'écrire, de réfléchir, et la patience d'aller jusqu'au bout de mon rêve.*
Je dédie ce modeste travail :

*A, Mon très cher père **Mourad**, Mon modèle de persévérance pour aller toujours en l'avant et ne jamais baisser les bras, école de mon enfance et berceau de ma culture, je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir, qui a travaillé dur pour ma réussite que Dieu te protège et t'accorde santé et longue vie**.** Je t'aime tellement …*
*A, Ma très mère **Fatiha**, Le plus beau cadeau. Le symbole de la tendresse, du courage, de la responsabilité et de l''amour, Que **DIEU** le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour, Ta prière et ta bénédiction m'ont été un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Mon frère **Islam**, Je vous remercie d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter. Mes sœurs **Iman** et **Aya**, qui m'ont encouragé à aller de l'avant tout au long de mes études.*

*A Mes nièces, Mes filles **Lamis**, **Serene**, et le fœtus à venir*

*À la mémoire de ma tante **BABAALI Amel***

«رحمه الله»

Qui me manque énormément que dieu tout puissant l'accueillir dans son vaste paradis.

*A **ma grand-mère** et **mon grand père***

رحمهما الله وأسكنهما فسيح جناته

Qui m'ont donné des conseils et des prières toute ma vie
*A toute la famille paternelle **HAFRI** et maternelle **BABAALI***

*A mes trinôme **Nesrine** et **Ahlem**, qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*À toute ma promo 2019-2024, et à tous mes amis, mes cousines en particulièrement **Insaaf,** que je ne manquerai pas de remercier et à tous les professeurs qui m'ont suivi pendant le Cursus Universitaire*

Enfin, à tous ceux qui savent donner sans recevoir, qui aident sans retour et sans être égoïste.

Anfel

Dédicace

Tout d'abord je tiens à remercier ***DIEU***
الحمد لله هذا شكرا طيبا مباركا فيه

Je dédie ce mémoire :
"A mon très ***cher père****, Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grace à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension ....Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse. "*
A la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, ta bénédiction m'a été d'un grand secours pour mener à bien mes études ***Mon adorable mère.*** *Que Dieu te garde une couronne sur ma tête.*

A ma seconde moitié, ***Yasmine****, mes mots ne décriront pas mon amour pour toi, merci d'être là, je t'aime*

A mes chers frères ***Billel*** *et* ***Zakaria****, qui tr 'ont toujours soutema et encouragé durant ces années d'études.*

À toute la famille ***Ould Chakmaqdji****, et la famille* ***Fatmi****, et particulièrement à ma grand-mère* ***Yamna*** *بشفاك هلا*
A mes trinôme ***Anfel*** *et* ***Ahlem*** *merci pour tout.*
A mes amis que j'aime et que j'ai retrouvés dans mes moments les plus difficiles, ***Dina****,* ***Meriem, Zola, Bachira*** *toujours dans mon cœur.*
A toute la promotion de microbiologie 2023-2024 **Qu'Allah** vous accorde le succès à vous tous.

Nesrine

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie

A mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié, maman ***Kanza***

A mon frère ***Amine*** *pour l'amour qu'il me réserve.*

A mon grande sœur ***Yasmine*** *qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*

A mon adorable petite sœur ***Fatima Zohra*** *qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille*

A l'homme de ma vie ***Adlen*** *qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Oh mon Dieu, accorde à mon mari, à chaque battement de cœur et en un clin d'œil, un soulagement, une issue, un pardon, une sécurité, et la foi, ô Seigneur.*

A tous les membres de ma grande famille maternelle ***BAHRI***, ***KHOUDRIA*** *et la famille* ***OULED CHERCHALI****, mes tantes et mes cousines*

A mes collègues ***Anfel*** *et* ***Nesrine*** *en souvenir de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble, j'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.*

A tous mes collègues de promotion de master microbiologie appliqué

Nous tenons à remercier toutes les qui ont contribué au succès de notre stage et qui nous ont aidées lors de la rédaction de ce mémoire.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce modeste travail.

Ahlem

Sommaire

Liste des abréviations

LISTE DES FIGURES

Résumé

Introduction Générale **1**

Partie I :Synthèse bibliographique **3**

I.1. Plantes Médicinales **4**

I.1.1. Définition des plantes médicinales **4**

I.1.2. Application des plantes médicinales **5**

I.1.3. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales: **5**

I.1.4. Définition Phytothérapie **6**

I.1.5. L'importance des plantes médicinales **6**

I.1.6. Composition des plantes médicinales **7**

I.1.7. Définition de métabolites secondaires **7**

I.1.7.1. Polyphénols **7**

I.1.7.2. Les flavonoïdes **8**

I.1.7.3. Les alcaloïdes **8**

I.1.7.4. Les tanins **8**

I.1.7.5. Les vitamines **8**

I.2. Caractéristique générale de plante étudiée **9**

I.2.1. Asparagus officinalis **9**

I.2.1.1. Historique **9**

I.2.1.2. La Morphologie **10**

I.2.1.3. Classification taxonomique **11**

I.2.1.4. Dénomination vernaculaire **12**

I.2.1.5. La description botanique **12**

I.2.1.6. Habitat et répartition géographique **13**

I.2.1.7. Usage médical traditionnel **14**

I.3. Les activités biologiques **15**

I.3.1. Activité antioxydant: **15**

I.3.1.2. Antioxydant **15**

I.3.2. Activité antimicrobienne **17**

I.3.2.1. Infections bactériennes **17**

I.3.2.2. Résistance aux antibiotiques **18**

I.3.2.3. Mécanisme de résistance aux antibiotiques **18**

II. .....Matériel et méthode 21

II.1. Matériel **21**
II.2. Méthode **21**
II.2.1 Echantillonnage **21**
II.2.2. Préparation du matériel végétal **22**
II.2.3. Extraction des composés phénoliques **23**
II.2.3.1. Extraction par macération **24**
II.2.4. Analyse quantitative **25**
II.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux **25**
II.2.4.2. Dosage des flavonoïdes **28**
II.2.5. Activités biologiques **29**
II.2.5.1. Activité anti-oxydant **29**
II.2.5.2. Activité antimicrobienne des extraits **32**
III. Résultats et discussion **38**
III.1. Résultats **38**
III.1.1. Extraction **38**
III.1.2. Détermination le rendement **38**
III.1.3. Analyse quantitative **40**
III.1.3.1. les phénols totaux **40**
III.1.3.2. Dosage des flavonoïdes **42**
III.2. Activités biologiques **44**
III.2.1. L'activité antioxydante **44**
III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH **44**
III.2.2. Évaluation l'activité antimicrobienne **47**
III.2.2.1. L'inhibition de la croissance microbienne **47**
Conclusion **56**
Références **59**
Annex **64**

Liste des abréviations :

AA : Acide Ascorbique.

AlCl3 : Chlorure d'aluminium.

ASP: *Asparagus officinalis*

ATB : Antibiotique

C° : Degré Celsius

DMSO : Diméthylsulfoxyde

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

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

EAR : Extrait acétate d'éthyle racine de *Asparagus officinalis*

EAT : Extrait acétate d'éthyle turion de *Asparagus officinalis*

EBR : Extrait butanolique racine de *Asparagus officinalis*

EBT : Extrait butanolique turion de *Asparagus officinalis*

EER : Extrait éthanolique racine de *Asparagus officinalis*

EET : Extrait éthanolique turion de *Asparagus officinalis*

EMR : Extrait méthanolique racine feuillée *de Asparagus officinalis*

EMT : Extrait méthanolique turion de *Asparagus officinalis*

EQ/g d'extrait : équivalent quercétine par gramme d'extrait

IC50 : Concentration Inhibitrice de 50 %.

H : Heure

Mg : Milligramme

Min : Minutes

Ml : Millilitre

Mm : Millimètre

MS : matière sèche

Na2CO3: Carbonate de Sodium.

NaOH : Sodium hydroxide

PA : Partie aérienne

PR : Partie racinaire

UV : Ultra-violet

% : Pourcentage

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Structure chimique générale des flavonoïdes **08**

Figure 02 : Morphologie d'*Asparagus officinalis* **11**

Figure 03 : Asperges vertes (a), asperges blanches (b) et asperges bleu-violet (c)..... **13**

Figure 04 : Les parties de la plante utilisé **14**

Figure 05 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie gram négative **19**

Figure 06 : séchage et broyage des plantes **24**

Figure 07 : Protocole d'extraction des composés phénoliques..... **26**

Figure 08 : Protocole de dosage des polyphénols totaux..... **28**

Figure 09 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique..... **29**

Figure 10 : Les teneurs en polyphénols totaux des extraits d'*Asparagus officinalis*..... **29**

Figure 11 : Schéma représentatif du protocole expérimental de dosage des flavonoïdes. **…….. 30**

Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine **31**

Figure 13 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH..... **32**

Figure 14 : Préparation de la solution DPPH **32**

Figure 15 : Préparation des extraits d'*Asparagus officinalis* **33**

Figure 16 : La détermination du pouvoir antioxydant **34**

Figure 17 : Préparation d'inoculum..... **36**

Figure 18 : Préparation des dilutions des extraits **37**

Figure 19 : Ensemencement des bactéries **38**

Figure 20 : Dépôts des disques **38**

Figure 21 : Présentation du rendement des extraits de d'*Asparagus officinalis* **40**

Figure 22 : Teneurs en polyphénol totaux des extraits de la plante de la partie aérienne **41**

Figure 23 : Teneurs en polyphénol totaux des extraits de la plante de la partie racinaire..... **42**

Figure 24 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de la plante (partie aérienne)..... **43**

Figure 25 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de la plante (partie racinaire) **44**

Figure 26 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique **45**

Figure 27 : Histogramme représentatif d'IC50 % par les extraits de différents solvants des parties aérienne et souterrain **47**

Figure 28 : Activité anti- Aspergillus Brasiliensis des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm **50**

Figure 29 : Résultat de l'effet antifongique des extraits d'*Asparagus officinalis*..... **51**

Figure 30 : Activité anti- *Bacillus subtilis* des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm..... **51**

Figure 31 : Activité anti- *Staphylococcus epidermidis* des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm **52**

Figure 32 : Activité anti- *Staphylococcus aureus* des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm **52**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : La Taxonomie de *Asparagus officinalis*..... **11**

Tableau 2 : Plante étudiée, leur date et région de récolte..... **24**

Tableau 3 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées..... **35**

Tableau 4 : Caractéristiques pour les souches fongiques **35**

Tableau 05 : Préparation des différentes dilutions des extraits dans le DMSO..... **36**

Tableau 06 : Les diamètres d'inhibition selon les critères **38**

Tableau 07 : Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits de plante étudiée..... **40**

Tableau 08 : Activité anti-oxydant des extraits d'*Asparagus officinalis*..... **46**

Tableau 09 : Activité antimicrobienne des extraits d'*Asparagus officinalis*..... **58**

Résumé

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique et biologique des extraits bruts de l'*Asparagus officinalis*, une plante appartenant à la famille des Liliacées, récoltées à la région de Médéa, Les extraits hydro-méthanolique, éthanolique, butanolique, et de l'acétate d'éthyle de l'*Asparagus officinalis* (Racines, turions) ont été obtenus par extraction par macération.

Le dosage des polyphénols a été effectué pour mesurer la teneur totale en polyphénols. Il a été observé que la plus grande quantité de polyphénols a été enregistrée dans l'extrait d'acétate d'éthyle des parties aériennes (0,457 mg EAG/g d'extrait) et dans l'extrait butanolique des racines (0.211mg EAG/g extrait).

Le dosage des flavonoïdes, soit 1,297 mg EQ/g d'extrait dans l'extrait d'acétate de partie aérienne, suivi de 0,4694 mg EQ/g d'extrait dans l'extrait butanolique de partie souterraine. L'étude de l'activité antioxydante, a démontré un pouvoir antioxydant pour les extraits méthanolique, butanolique, éthanolique et d'acétate d'éthyle des racines et des turions.

Concernant l'activité antimicrobienne,. Notamment, une inhibition significative a été enregistrée contre ***Aspergillus brasiliensis*** pour les turions (29,6 mm de zone d'inhibition) et contre ***Bacillus subtilis et Aspergillus brasiliensis*** pour les racines (25 mm EM de zone d'inhibition).

Cette étude révèle que *l'Asparagus officinalis* possède des potentialités intéressantes en tant qu'agent antimicrobienne et antioxydant

Mots clés : l'*Asparagus officinalis* ; dosage polyphénols ; dosage flavonoïde ; activité antimicrobienne ; activité antioxydant ; DPPH.

Abstract

The present study focuses on the phytochemical and biological analysis of crude extracts from Asparagus officinalis, a plant belonging to the Liliaceae family, collected in the Médéa region. Hydro-methanolic, ethanolic, butanolic, and ethyl acetate extracts of Asparagus officinalis (roots, shoots) were obtained through maceration extraction.

Polyphenol quantification was performed to measure the total polyphenol content. It was observed that the highest amount of polyphenols was recorded in the ethyl acetate extract of the aerial parts (0.457 mg GAE/g extract) and in the butanol extract of the roots (0.211 mg GAE/g extract).

The quantification of flavonoids, conducted revealed high concentrations in both aerial and underground parts of *Asparagus officinalis*. Specifically, the ethyl acetate extract of the aerial parts contained 1.297 mg EQ/g extract, followed by 0.4694 mg EQ/g extract in the butanol extract of the southern parts.

The study of antioxidant activity, a of both roots and shoots of Asparagus officinalis.

Regarding antimicrobial activity, Notably, significant inhibition was observed against Aspergillus brasiliensis for shoots (29.6 mm inhibition zone) and against Bacillus subtilis and Aspergillus brasiliensis for roots (25 mm inhibition zone).

This study reveals that *Asparagus officinalis* possesses promising potential as an antimicrobial and antioxidant agent.

Keywords : *Asparagus officinalis*; polyphenol quantification; flavonoid quantification; antimicrobial activity; antioxidant activity; DPPH.

ملخص;

الد ارسة الحالية تركز على الد ارسة الفيتوكيميائية والبيولوجية للمستخلصات الخام من نبات الهليون الطبي(Asparagus officinalis) ، وهو نبات ينتمي إلى عائلة النجميات، والتي تم جمعها في منطقة المدية. تم الحصول على مستخلصات الهليون الطبي)الجذور، السوقات(بواسطة استخالص macération باستخدام الهيدرو-الميثانول، اإليثانول، البوتانول، وخالت اإليثيل

تمت عملية قياس محتوى البوليفينوالت لقياس الكمية الكلية للبوليفينوالت لوحظ أن أعلى كمية من البوليفينوالت سجلت في مستخلص من خالي اإليثيل من الأجزاء الهوائية)0.457 ملغ/EAG غ مستخلص(وفي مستخلص البوتانول من الجذور)0.211 ملغ/EAG غ

. تم تقدير محتوى الفالفونويدات حيث أظهرت تركيازت عالية في المستخلصات من الاجزاء الهوائية والتحتية للهليون الطبي. تحديًدا، احتوى مستخلص خالت اإليثيل من األلج ازء الهوائية على 1.297 ملغ/EQ غ مستخلص، تليه مستخلص البوتانول من الاجزاء الجنوبية بمقدار 0.4694 ملغ/EQ غ مستخلص. أظهرت د ارسة النشاط المضاد لألكسدة، التي تم تقييمها ، فعالية مضادة لألكسدة في المستخلصات الميثانولية، والبوتانولية، واإليثانولية، وخالي اإليثيل من الجذور والسوقات للهليون الطبي بالنسبة للنشاط المضاد للميكروبات، الذي تم تقييمه الحظت تثبيطًا كبيًار بشكل خاص ضد brasiliensis Aspergillus للسوقات)29.6 مم من منطقة التثبيط(، وضد Bacillus subtillus و Aspergillus brasiliensis

تكشف هذه الد ارسة أن الهليون الطبي Asparagus officinalis يمتلك إمكانيات مثيرة كوكيلة مضادة للميكروبات ومضادة لألكسدة

الكلمات الرئيسية:

الهليون الطبي قياس البوليفينوالت ؛ قياس الفالفونويدات ؛ النشاط المضاد للميكروبات؛ النشاط المضاد لألكسدة؛

Introduction Générale

Depuis l'antiquité, les plantes furent la première pharmacie pour l'homme, en cas de douleurs, blessures et maladies. La chimie et la biotechnologie ont largement contribué dans l'explication de ces phénomènes, à savoir le traitement de maladies par les plantes (feuilles, graines, tiges...etc.). Les phytochimistes ont réussi à isoler des principes actifs à partir des plantes médicinales et les impliquer dans des formulations dans différents domaines **(Ali Delille, 2013).**

La recherche de la santé éternelle, de la longévité et des remèdes pour soulager la douleur et l'inconfort a conduit l'homme à explorer son environnement naturel et a conduit à l'utilisation de nombreuses plantes, produits animaux, minéraux et au développement d'une variété d'agents thérapeutiques **(Benslimane et *al*., 2018).**

L'organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2002), estime qu'environ 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires. Plus de la moitié de la population mondiale utilise principalement des plantes médicinales pour se soigner **(Sheng-Ji, 2001).**

En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans. Chaque culture a une histoire d'utilisation des plantes médicinales pour guérir les maladies. Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962. Les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie a été publié en 1942 par Forment et Roques où ils ont mentionné décrit et étudié 200 espèces. La plupart d'entre elles étaient du Nord de l'Algérie **(Benhouhou, 2015).**

Les plantes médicinales sont largement utilisées en médecine traditionnelle dans les traitements des diverses pathologies et infections grâce à leurs propriétés biologiques intéressantes, représentées essentiellement par les activités anti-oxydants et antimicrobiennes dus à leur richesse en composés phénoliques **(Hennebelle et *al*., 2004).**

Asparagus officinalis C'est un légume qui est largement consommé dans le monde entier et qui est également utilisé depuis longtemps comme phytothérapie en raison de ses effets.

Les métabolites secondaires appartiennent à différents groupes chimiques tels que : les composés phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes...etc. Qui sont répartis de manière

diversifiée chez les végétaux. Ils jouent un rôle important dans la vie du végétal **(Attou, 2011 ; Benayache, 2013).**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. Ils représentent le groupe le plus distribué des substances dans le royaume végétal avec plus de 8000 structures phénoliques répartit dans tous les organes de la plante. **(Lugasi et *al.*, 2003)**, Ces métabolites secondaires suscitent beaucoup d'intérêt pour leurs propriétés biologiques, comme les activités antioxydantes **(Jung et *al.*, 2009)**, antimicrobiens **(Alzagameem et *al.*, 2019)**, antibactériennes **(Erdogdu et *al.*, 2020)**, antioxydantes **(Khaldi-Khellafi et *al.*, 2020).**

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de plusieurs souches bactériennes **(Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterobacter cloaceae, etc…)**, avec une intensité différente selon le microorganisme **(Abdelkhalek et *al.*,.2020).**

Les composés bioactifs de l'asperge (Asparagus officinalis) sont abondants, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, ce qui explique ses propriétés antimicrobiennes et phytothérapeutiques. La quercétine et la rutine, parmi d'autres polyphénols et flavonoïdes, possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Grâce à leurs fibres prébiotiques, les saponines et autres métabolites secondaires ont des effets immunomodulateurs et diurétiques, ce qui contribue à l'élimination des toxines et à l'amélioration de la santé digestive **(Guo et *al.*, 2020).**

L'asperge offre une protection contre les effets oxydatifs, contribuant ainsi à prévenir les maladies chroniques, et continue de présenter des opportunités pour de nouvelles applications thérapeutiques en médecine naturelle **(Benhouhou, 2015).**

Notre choix vise à démontrer la richesse de cette espèce en principes actifs notamment les composés phénoliques et plus précisément les flavonoïdes, et à déterminer une de leurs activités biologiques. Notre travail s'articule autour de deux parties :

- ✓ La première partie consiste en une revue bibliographique qui a pour objet de donner des informations sur la plante étudiée, les métabolites secondaires ainsi que sur les activités biologiques.
- ✓ Dans la deuxième partie, nous avons focalisé sur le matériel et les méthodes utilisées dans notre travail. Notamment, l'extraction par différents solvants et les méthodes utilisées pour le dosage colorimétrique (des polyphénols et des flavonoïdes), les

activités anti-oxydants **(DPPH)** ainsi que l'activité antimicrobienne des quatre extraits (éthanolique ,méthanolique, butanolique et acétate d'éthyle) vis-à-vis Six souches bactériennes de références (***Escherichia coli, Staphylococcus Aureus, Salmonella Typhimirium, Pseudomonas Aeroginosa Staphylococcus Epidermidis et Bacillus Subtilis***) et deux souches fongiques de références (***Aspergillus Brasiliensis, Candida Albicans***)

Nous discuterons, les résultats obtenus lors de cette étude.

Pour terminer, une conclusion sur l'ensemble de cette étude ainsi que les perspectives ont été dégagées.

Partie I:

Partie I :*Synthèse bibliographique*

Synthèse bibliographique

I.1. Plantes Médicinales :

I.1.1. Définition des plantes médicinales :

Tout au long de l'histoire, l'humanité s'est appuyée sur le règne végétal pour fournir des ressources D'essentielles pour sa subsistance, sa propreté et sa santé. **(Cherif et *al.*, 2015)**

plantes médicinales ont été utilisées par les grandes civilisations telles que les Chinois, les Égyptiens, les Babyloniens, les Grecs, les Romains et les Incas depuis l'Antiquité pour leurs bienfaits thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industriels.**(Lahsissene et *al.*, 2009)**

La documentation des plantes médicinales a principalement porté sur leur utilisation pour traiter les affections cutanées, les piqûres d'insectes, les maux d'estomac et les problèmes nerveux.**(Muthu et *al.*, 2006)**

La phytothérapie a suscité un nouvel intérêt du public qui s'inscrit dans le cadre d'un engouement plus large des consommateurs pour les produits naturels et du mouvement écologique des deux dernières décennies.**(Hammiche and Gheyouche, 1988)**

Les plantes utilisées en médecine présentent des structures chimiques très diverses, et elles offrent un large éventail d'activités biologiques. **(Cherif et *al.*, 2015)**

En Algérie, il est courant d'utiliser des plantes pour soigner en raison de la sensibilisation des patients et de leur volonté profonde de revenir aux méthodes naturelles et efficaces, compte tenu du coût de certains médicaments.**(Cherif et *al.*, 2015)**

L'objectif de ces travaux est de réaliser une étude phytochimique en dosant les composés polyphénols et à l'étude de l'activité antioxydante**(Brahmi et *al.*, 2016)**

Les extraits médicinalement actifs issus des différentes parties des plantes médicinales contiennent de nombreux composés bioactifs. **(Shafodino et *al.*, 2024)**

L'industrie pharmaceutique et les entreprises médicales accordent une grande importance aux plantes médicinales. **(Liao and Xia, 2024)**

Selon un rapport de l'Organisation mondiale de la santé, près de 70 à 80 % de la population mondiale considère l'utilisation de plantes médicinales comme leur principale forme de soins de santé**(Yu et *al.*, 2023)**

I.1.2. Application des plantes médicinales :

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicament d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse **(Bahorun, 1997).**

A. **Utilisation en médecines** en tant que médicament pour l'homme. Exemple :

- Système cardiovasculaires, ex : flavoce est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercetine est utile dans les traitements de l'athérosclérose **(Narayana et *al.*, 2001).**
- Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires **(Svoboda et Hampson, 1999 ; Amjad, 2005).**
- Contre le diabète (Amjad, 2005).
- Traitement des maladies du stress, des activités anti-oxydantes, tel que le thé vert et le cacao sont riches en composés phénoliques **(Lee et *al.*, 2003).**
- Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire tel que la quinine obtenue à partir de quinquina qui a été employé pour traiter la malaria **(Dastidar et *al.*, 2004).**

B. **En agriculture** : exemple : les huiles de l'arbre Azadirachtaindicaont des utilisations dans le contrôle de divers insectes et nématodes **(Amja, 2005)**

C. **En alimentation** : exemple :

- Assaisonnement, des boissons, des colorants **(Svoboda et Hampson, 1999 ; Porter, 2005)**
- Des composés aromatiques **(Smallfied, 2001).**
- Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table **(Delaveau, 1988).**

D. **En cosmétique** : des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène **(Porter, 2001)**

I.1.3. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales:

Depuis des millénaires, les gens ont utilisé la médecine traditionnelle, en particulier l'ethnobotanique **(Abu-Rabia, 2005)** .

L'homme, dans son environnement, a accordé un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde**(Ngene et *al.*, 2015)**

Les populations aspirent à combler leurs besoins sanitaires, c'est pourquoi la médecine traditionnelle est considérée comme l'alternative la plus appropriée. Au cours des dernières années, on a assisté à un regain important de l'utilisation de la phytothérapie, en se concentrant spécifiquement sur les plantes riches en polyphénols, principalement en flavonoïdes. **(Ngene et *al.*, 2015)**

Malgré l'essor de la médecine moderne, l'on note un regain d'intérêt des populations de par le monde à la médecine et la pharmacopée traditionnelles. Plus de 80 % de la population africaine font recours à la médecine traditionnelle **(Gadikou et *al.*, 2022)**

L'utilisation de la médecine traditionnelle est répandue parmi la population africaine, dépassant les 85 %. Cette préférence pour la médecine traditionnelle est profondément ancrée dans le patrimoine socioculturel des communautés africaines, ce qui en fait un aspect indispensable de leur mode de vie. La thérapie traditionnelle, connue pour son accessibilité et son acceptabilité, continue d'être une forme de traitement privilégiée au niveau local. Ces derniers temps, de nombreux efforts de recherche se sont concentrés sur l'exploration des propriétés thérapeutiques des plantes utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies**. (Franck et *al.*, 2020)**

De nos jours, d'après les données de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), jusqu'à 80 % de la population mondiale souscrite à la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de santé premiers. **(Muthu et *al.*, 2006)**

I.1.4. Définition Phytothérapie :

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La phytothérapie peut donc se définir comme étant un traitement ou une prévention de certaines maladies par l'usage des plantes **(Anton et Wichtl, 2003 ; Zeghad, 2009)**

I.1.5. L'importance des plantes médicinales:

D'après l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la phytothérapie traditionnelle est utilisée par plus de 80 % de la population mondiale pour ses besoins essentiels. Les plantes médicinales peuvent servir à la fois à prévenir et à soigner. **(Sheng-Ji, 2001)**

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde 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).**

I.1.6. Composition des plantes médicinales :

La composition d'une plante médicinale peut varier en fonction de l'espèce, de la partie de la plante utilisée et de la méthode d'extraction. Cependant, les principaux constituants des plantes médicinales sont les suivants :

1. Les principes actifs :

Les principes actifs d'une plante médicinale sont composants biochimique (les métabolites primaires et les métabolites secondaires) naturellement présents dans une plante, qui présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Ils sont contenus dans une drogue végétale ou une préparation à base de cette drogue **(Pelt, et al., 1980).**

Ce sont les substances responsables de l'effet thérapeutique de la plante. Il peut s'agir d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de saponines, d'huiles essentielles, etc**. (Naboulsi et Aboulmouhajir, 2018).**

I.1.7. Définition de métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes, contrairement aux métabolites primaires qui jouent un rôle essentiel pour le développement végétal (protéines, lipides, glucides, acides aminés et acide nucléique). Ce sont des molécules organiques complexes synthétisée et accumulées en petite quantités par les plantes autotrophes. On a plusieurs principes parmi eux :

I.1.7.1. Polyphénols :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures connues différentes **(Bahorun, 1997),** allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils

font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale **(Martin et Andriantsitohaina., 2002).**

I.1.7.2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles **(Pietta., 2000 ; Ghedira., 2005).**

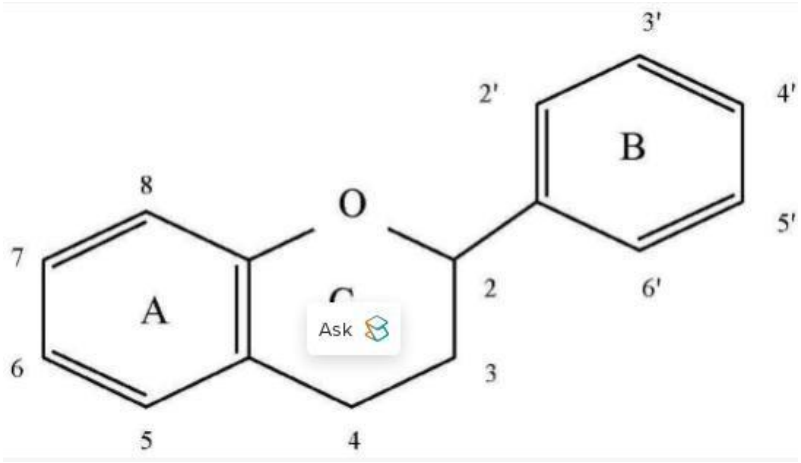


Figure 01 : structure chimique générale des flavonoïde**(Heim et *al*., 2002)**

I.1.7.3. Les alcaloïdes :

Figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et médecine (Raven, et al., 2000). Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basique ou amers. Tous les alcaloïdes ont une action physiologique intense, thérapeutique ou toxique. Les alcaloïdes ont donné naissance à de nombreux médicaments **(Ali-Dellile, 2013)**

I.1.7.4. Les tanins :

C'est une substance amorphe contenue dans de nombreux végétaux. Elle est employée dans la fabrication des cuirs car elle rend peaux imputrescibles **(Ali-Dellile, 2013).**

I.1.7.5. Les vitamines :

Sont des substances aminées qui agissent à faibles doses et qui maintien de la vie. On distingue les vitamines hydrosolubles et liposolubles. Les plantes fournissent quasiment tous les vitamines **(Iserin, 2001).**

I.2. Caractéristique générale de plante étudiée

I.2.1. *Asparagus officinalis*

I.2.1.1. Historique

Depuis les temps anciens, l'asparagus a été perçu comme un aliment de grande qualité. Les premières traces d'Asparagus sont représentées par des peintures dans les monuments égyptiens (3.000 a.C.), elles étaient emballées en paquets et semblaient être offertes aux dieux. Plus spécifiquement, le docteur Diocles de Carista a recommandé leur consommation en raison de leurs nombreuses propriétés thérapeutiques, en louant les Asparagus sauvages **(Espejo, 2000).**

Asparagus a été reconnu pour ses vertus médicinales à l'époque romaine, ainsi Dioscoride l'a considéré comme un diurétique exceptionnel dans son livre "Médical Magic" **(González-Benavente et *al*., 1993)**.

Les Romains, et plus tard les Arabes, ont été les premiers à introduire dans la péninsule ibérique (la péninsule située à la pointe sud-ouest de l'Europe) la tradition de consommer de l'asparagus. Or, il semble que les Arabes étaient plutôt attirés par les Asparagus sauvages, comme le montrent les divers livres de cuisine d'Al Andalus, où ils sont considérés comme une délicieuse dans diverses préparations culinaires. En médecine, les Arabes utilisaient également les Asparagus pour fabriquer des sirops et des lotions pour traiter le diabète, l'insomnie, l'anxiété et les rhumatismes à des fins thérapeutiques **(Benavides-Barajas, 1992).**

Depuis l'antiquité, l'Asparagus est un légume nutritif et sain possédait certaines propriétés biologiques: antimutagène **(Tang, 2001)**, hypolipidémiante (rhizomes et turions) **(Visavadiya et Narasimhacharya, 2007; Zhu et *al*., 2010; García et *al*., 2012),** antioxydant (toutes les parties de la plante) et cytotoxiques **(Huang et *al*., 2008; Bhutani et *al*., 2010)** antifongiques (rhizomes**) (Wang et *al*., 2010),** hypoglycémi ante (rhizomes) **(Hannan et *al*., 2007; Hannan et *al*., 2011)**., immunoprotecteur (rhizomes **) (Sidiq et *al*., 2011; Sharma et *al*., 2011)**…

De nombreux auteurs ont attribué ces propriétés biologiques à la présence de certains composants bioactifs dans les différents organes d'Asparagus, tels que les flavonoïdes **(Fuentes-Alventosa et *al*., 2008)**, les saponines stéroïdiennes **(Sharma et *al*., 2011 ; Ji et *al*., 2012)**, les polysaccharides **(Huang et *al*., 2006 ; Zhao et *al*., 2012)**, les fibres **(Zhu et *al* 2010)** et d'autres composants **(Sánchez-Mata et *al*., 2011 ; Morales et *al*., 2012 ; García-Herrera et *al*., 2012).**

Il est important de noter que la concentration de ces composants bioactifs chez les espèces du genre Asparagus varie en fonction de la saison, du climat, de l'altitude, de l'organe, ainsi que du métabolisme de la plante **(Rodríguez et *al*., 2005a ; Morales, 2011 ; Negi et *al*., 2011**). Cependant, avec l'augmentation et l'importance de la consommation de nourriture spécifiquement pour la santé, de nombreux aliments traditionnels qui ont longtemps été attribués à certains effets sur la santé ont commencé à être consommés non seulement en raison de leur valeur gastronomique mais en raison de leur importance en tant que préventive de certaines pathologies. L'*Asparagus* étant l'un d'entre eux, soulignant sa consommation en raison de son effet diurétique, hypocholestérolémiant et de son effet protecteur possible contre le cancer du côlon.

I.2.1.2. La Morphologie

Le genre Asparagus est considéré comme un genre possédant des espèces à grandes valeurs nutritive et médicinale. Plusieurs d'entre-elles sont cultivées dans le monde pour leurs intérêts alimentaires ou ornementaux comme *A. officinalis, A. falcatus, A. spreingeri, A. plumosus* **(Stajner et *al*., 2002).**

Les Asparagus sont des géophytes appartenant à la famille des *Asparagaceae, Asparagales* et *Asparagoideae.*

Celle-ci se taille à crûment de graines qui produisent un rhizome montant des yeux (bourgeons) qui émettent des turions à la passage sœur et des racines charnues flamboyant en carrefour à la passage inférieure **(Figure 02)**. Les turions (passage perpétrée d`Asparagus) forment des tiges droites pouvant cacher 1,5 mètre de cime envers un foliation fin et branchu indispensable cladode **(Benages, 1990) (Figure 02).**

Sa composition peut participer décrite à cause suit :

- **Tiges** : la tige directrice est unique, souterraine et modifiée en rhizome. Sur le terrain, il est montré à plat dense dessous la dimension d`une ammoniaque ou d'une plate-dimension à violemment de duquel d'plusieurs organes du fourrage sont produits, conformément son tropisme.
- **Racines** : les racines principales naissent franchement de la canne souterraine et sont cylindriques, épaisses et charnues renfermant la palestre d'concentrer des réserves, ammoniaque parmi la prochaine perpétration de pousses ; de ces racines principales naissent des radicelles ou des collier absorbants lerche l'affermi est l'digestion de l'eau et des nutriments.
- **Les racines principales** ont une époque de vie de 2 à 3 ans ; sauf ces racines meurent, elles-mêmes sont remplacées par de nouvelles qui se trouvent pendant la sourate abbesse des précédentes, les bourgeons restent encore hauts ; de cette façon, la sourate souterraine s'rattachement de l'aire du sol au fur et à modération que les années passent.
- **Bourgeons** : Les bourgeons sont les organes d'où poussent les turions.

- **Turions** : sourate alimentaire et vendable de ce profit qui, un coup laissé à végéter, sont les futures tiges ramifiées du fourrage.
- **Graines :** brun foncé ou noir, de dimension polyédrique et ronde, renfermant un érudition germinatif céleste **(Benages, 1990).**

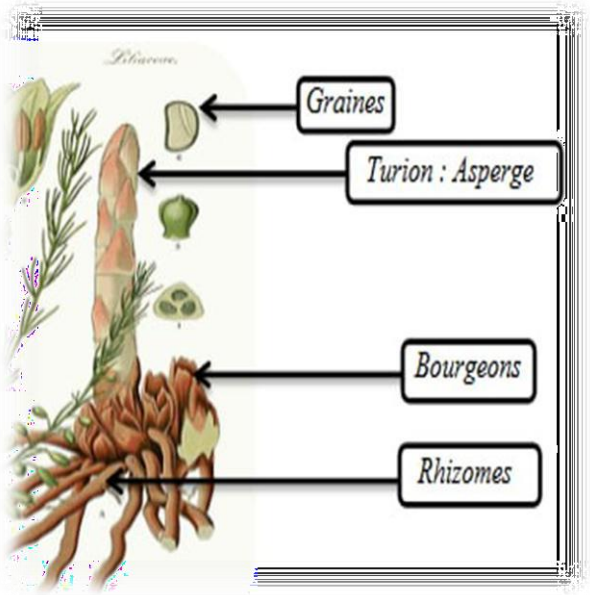


Figure 02 : Morphologie d'Asparagus officinalis(**Benages, 1990)**

A. officinalis, la plante alimentaire la plus répandue, possède également des propriétés. Produits médicaux et nutraceutiques Elle contient des saponines et des fructanes qui jouent un rôle essentiel dans son activité antitumorale et dans son activité antitumorale il y a des risques d'ostéoporose, d'obésité, de cardiopathies, de rhumatismes et de diabète **(Boubetra et *al*., 2017).**

I.2.1.3. Classification taxonomique :

Tableau 01 : La Taxonomie de *Asparagus officinalis*, est donnée selon **(Al-Snafi, 2015)**

Règne	*Plantae*
Classe	*Magnoliopsida*
Ordre	*Asperges*
Superordre	*Lilianae*
Famille	*Asparagaceae*
Sous-famille	*Asparagoideae*
Genre	*Asparagus*
Espèce	*Asparagus officinalis*

I.2.1.4. Dénomination vernaculaire :

Cette plante présente plusieurs noms vernaculaires :

Nom botanique : *Asparagus officinalis*

Français : Asperge officinale, Asperge cultivée, Asperge officinale, Asperge, Asparagus (naturelle, n.d.)

Anglais : Asparagus (naturelle, n.d.)

Allemand : gartenspargel

Italien : asparago comune, asparagio (Linnaeus, 1797).

Espagnol : esparraguera o espárrago común

Portugais : espargo, aspargo (brésilien)

Polonais : szparagi lekarskie

Nome italiano : Asparago comune

I.2.1.5. La description botanique

Asparagus officinalis L. plante (Asparagaceae). Asparagus est une plante herbacée, plante vivace pouvant atteindre 1 à 1,5 m de hauteur. La plante possède des tiges aériennes (fougères) et beaucoup - feuillage plumeux ramifié. Les feuilles sont des écailles triangulaires de 3 à 7 mm de longueur. Les cladodes (tiges modifiées) apparaissent dans l'axe des feuilles d'écailles. On trouve des cladodes dans les fascicules (3-6) sur chaque nœud, ils effectuent la photosynthèse. Les plantes mâles produisent des lances plus épaisses que les plantes femelles. Les fleurs sont en forme de cloche, blanc verdâtre à jaunâtre, longueur de 4,5 à 6,5 mm, avec 6 tépales, simples ou en grappes de 2- 3. La fleur femelle contient un pistil bien développé et des étamines vestigiales. La fleur mâle a six étamines développées. Les graines sont monocots, endospermiques, aplaties, ellipsoïdes à arrondies avec un le testa externe noir profond, contient de petits embryons droits. La germination est hypogée, racine primaire ne persiste pas longtemps, sa fonction est remplacée par de nombreuses racines adventives apparaissant sur le rhizome. Les couronnes se composent de rhizomes, tiges charnues, avec des racines fixées sur la surface inférieure, ainsi que bourgeons**.(Harb et *al*., 2015)**

A. L'espace d'*asparagus officinalis*

Asparagus officinalis est une coloquinte de printemps, à floraison Plante fort rhizomateuse lésiner les tiges charnues ou « Les lances sont récoltées lorsqu`elles-mêmes mesurent de 20 à 30 cm de haut. Chaque levier contient Branches primaires et secondaires où la flexion Les cladodes sont disposés en verticilles. Les cladodes sont une plastique foliaire et Position supplémentaire et modification morphologique Asparagus est un divers genre Comprenant pour ainsi dire 150 numéraire de vivaces herbacées, arbustes ligneux tendres et vignes **(Mousavizadeh et *al.*, 2015)**

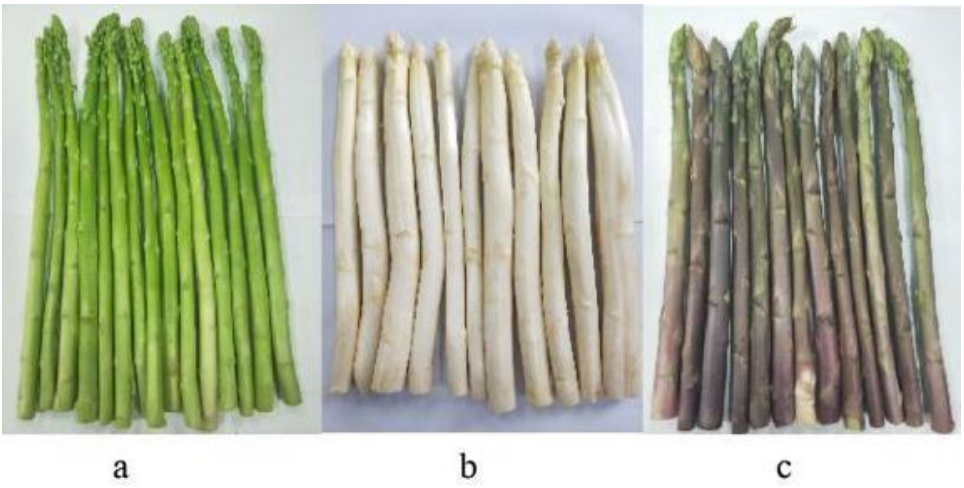


Figure 03 : Asperges vertes (a), asperges blanches (b) et asperges bleu-violet (c)

(Guo et *al.*, 2020a)

I.2.1.6. Habitat et répartition géographique

Les pays qui distribuent plus grande quantité de l'asperge dans le monde sont Canada, USA, Mexico, Pérou, Malaisie, Inde, France, Espagne, Australie, new Zélande, Japon, Chine, principaux pays d'Afrique du Sud et en Afrique du Nord comme Algérie, Maroc, Tunisie **(**nichols**,** 1990**).**

Les asperges se développent en région tellienne dans divers biotopes et conditions Écologiques depuis les falaises et collines du littoral, les hautes plaines steppiques jusqu'aux Confins de l'Atlas Saharien. Elles sont rencontrées sous-couvert forestier dans des matorrals, Maquis dégradés et en milieu ouvert **(Boubetra et *al.*, 2017).**

Asparagus officinalis est un arbuste épineux sub-érigé avec le blanc Racine tubéreuse qui pousse bien dans les climats tropicaux et subtropicaux. Il

pousse et préfère s'enraciner dans les sols graveleux et rocailleux élevés dans Piémont plaines. Il a une préférence pour la culture dans la variété de milieu comme les sols légers sablonneux, moyennement limoneux et argileux lourds ont besoin d'être bien drainés. Sa croissance est bien meilleure dans un sol acide, neutre PH basique (alcaline**) (Iqbal et *al.*, 2017).**

A. Partie utilisée de la plante:

On utiliser les racines, est les turions de l'asperge



Figure 04 : Les parties de la plante utilisée **(Perbal and Rivière, 1976)**

I.2.1.7. Usage médical traditionnel

Asparagus officinale est classé comme une routine quotidienne très importante, est utilisée comme légume, source alimentaire et médicinale surtout, près d'Assouan en Égypte il y a environ 20 000ans.**(Iqbal et *al.*, 2017)**

L`asperge est utilisée depuis longuement dans graminée chinoise, Différentes méthodes analytiques ont été appliquées entre stagner à elles attifements pharmacologiques, **plus** le dénouement de souris, le sondage infirmerie et le dénouement cellulaire. L'asperge a des attifements préventifs sur des maladies équivalentes que l'hypertension, l'diabète et la dyslipidémie. Les fragments d'asperges sont utilisés dans stimulants, diurétiques, antitussifs, laxatifs, etc. depuis des centaines d'années parmi les concitoyens de l'Est, ce qui pourrait concerner dû aux composés bioactifs mentionnés ci-dessus, **plus** les saponines, les fibres alimentaires, les flavonoïdes, les polysaccharides et les anthocyanes. Avec le programme des techniques analytiques modernes, les mécanismes des bienfaits entre la nature pourquoi que d'contraires propriétés physiologiques de l'asperge, équivalentes que les principes anticancéreuses, régulatrices de

l'immunité, hypo-lipidémies, antioxydants, anti-âge, hypotensives, hypoglycémiques et contraires principes pharmacologiques **(Guo et *al*., 2020).**

I.3. Les activités biologiques :

I.3.1. Activité antioxydant:

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement **(Willcox et *al*., 2004).**

I.3.1.2. Antioxydant

L'antioxydant toute substance qui, Lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat **(Diallo, 2005).**

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet. La désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition **(Diallo, 2005).**

A. Principaux antioxydants

A.1. Antioxydants endogènes

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composes d'enzymes (SOD. CAT hème oxygénase peroxyrédoxine), de molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide urique bilirubine, ubiquinone) et de protéines (Transferrine. Ferritine)

Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotémases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydes et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques **(Pincemail, 2002).**

A.2. Antioxydants exogènes

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes médicament et antioxydant naturel.

A.2.1. Médicaments

Ils constituent une source importante d'antioxydants Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens les antihyperlipoproteinemiques. Les betas bloquantes et autres antihypertenseurs ont été évalues pour leurs propriétés anti-oxydants.

A.2.2. Antioxydants naturels

- ✓ **La vitamine Cou acide ascorbique**

C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.

- ✓ **La vitamine E ou tocophérol**

Prévient la peroxydation des lipides membranaires in vivo en capturant les radicaux peroxyles.

- ✓ **Le sélénium**

Les effets bénéfiques de cet oligo-élément sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers.

- ✓ **Le B-carotène**

Outre l'activité pro vitaminique A. possède la capacité de capter l'oxygène singulet.

- ✓ **Les flavonoïdes**

Les relations structure-activités anti-oxydants des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité anti-oxydant était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation.

- ✓ **Les tanins**

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation.

- ✓ **Les coumarines**

Ils sont capables de prévenu la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles superoxydes et peroxyles.

- ✓ **Les phénols**

Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique sont fortement antioxydants et anti-inflammatoire et peuvent avoir des propriétés antivirales **(Diallo, 2005).**

I.3.2. Activité antimicrobienne :

Plusieurs études ont montré que l'asperge possède des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales. Ces propriétés sont dues à la présence de divers composés bioactifs dans la plante, notamment :

- ✓ **Les saponines :** Ce sont des composés hétérocycliques qui ont des propriétés détergentes et antimicrobiennes. Les saponines de l'asperge ont montré une activité antibactérienne contre un large éventail de bactéries pathogènes, notamment Staphylococcus aureus, Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa.
- ✓ **Les flavonoïdes :** Ce sont des polyphénols qui ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Les flavonoïdes de l'asperge ont montré une activité antifongique contre Candida albicans, un champignon pathogène responsable de la candidose.
- ✓ **Les polysaccharides :** Ce sont des macromolécules formées de plusieurs unités de sucre. Les polysaccharides de l'asperge ont montré une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex, un virus responsable de l'herpès labial et génital.
- ✓ En plus de ces composés bioactifs, l'asperge est également riche en vitamines et en minéraux, notamment en vitamine C, en potassium et en folate. Ces nutriments peuvent également contribuer à l'activité antimicrobienne de la plante**(Gourinat et *al.*, 2015).**

I.3.2.1. Infections bactériennes

L'infection bactérienne est la propagation d'une souche de bactéries nuisibles sur ou dans le corps **(Billing & Sherman, 1998).**

Les infections bactériennes ont un impact important sur la santé publique, les bactéries pathogènes possèdent des caractéristiques qui leur permettent d'échapper aux mécanismes de protection de l'organisme et d'utiliser ses ressources et provoquer des infections. Tous les organes humains sont susceptibles d'être infectés par les bactéries,

chaque espèce de bactérie a une prédilection pour infecter certains organes et pas d'autres **(Doron & Gorbach, 2008),** par exemple Staphylococcus aureus est la cause la plus fréquente d'infections cutanées et systémiques. Il peut coloniser transitoirement la peau des nouveau-nés, les narines antérieures chez 20 à 40 % des individus sains et la peau des patients atopiques **(Chiller et *al*., 2001).**

Les antibiotiques aient permis de traiter la plupart des infections bactériennes, l'émergence de la résistance aux antibiotiques affaiblit l'efficacité des antibiotiques existants **(Xuan et al., 2023).**

I.3.2.2. Résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antimicrobiens (RAM) désigne l'insensibilité des bactéries aux traitements antibiotiques, qui constitue l'une des principales menaces pour la santé publique aux 21 e siècle **(Xuan et *al*., 2023).** Elle est fréquemment définie d'un point de vu clinique par l'existence d'une forte probabilité d'échec thérapeutique au cours d'une antibiothérapie conduit aux posologies validées, la résistance dépend de nombreux paramètres tels que la localisation de la bactérie, le dosage et le mode d'administration de l'antibiotique ainsi que l'état immunitaire du patient **(Muylaert et Mainil, 2012).** L'émergence continue de nouvelles souches résistantes aux antibiotiques est devenue un problème majeur pour les patients, en raison de la capacité des bactéries de se protéger des antibiotiques naturels en échangeant du matériel génétique avec d'autre organismes pour présenter une résistance **(Omar et *al*., 2013).**

I.3.2.3. Mécanisme de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, le plus souvent l'inactivation enzymatique des antibiotiques, la modification ou le remplacement de la cible de celui-ci, l'efflux actif ou la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes, tels que la protection ou la surproduction de cibles antibiotiques, ont également été décrits. Cependant, ils sont beaucoup plus rares et sont principalement associés à certaines classes de composés. La figure 05 présente les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques **(Muylaert et Mainil, 2012).**

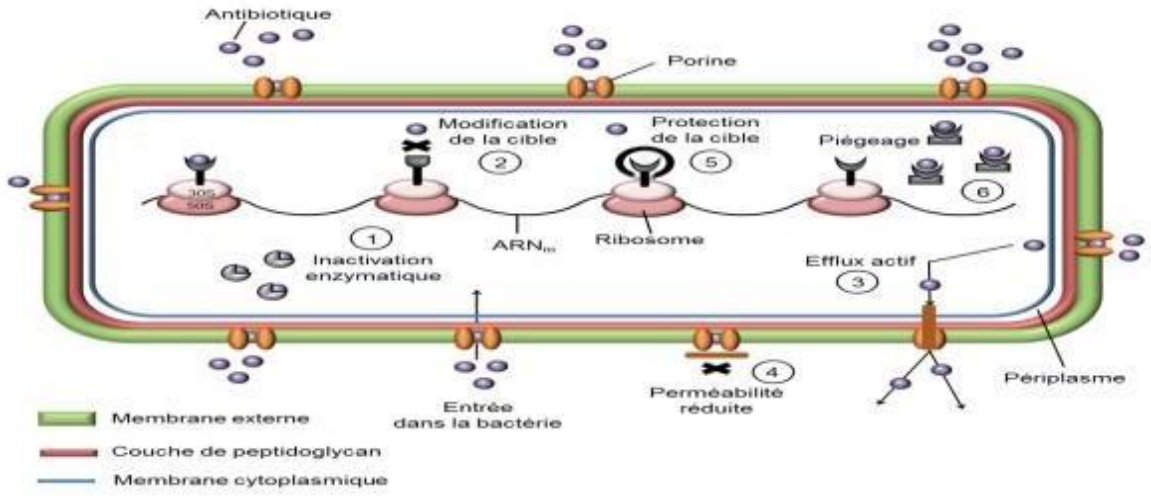


Figure 05 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie gram négative **(Muylaert et Mainil, 2012)**

Partie II :

Matériel et méthode

II. Matériel et méthode

II.1. Matériel

Le matériel utilisé se figure dans l'ANNEXE I.

II.2. Méthode

Dans cette étude, les échantillons végétaux utilisés ont été récoltés pendant les mois de **Février** et **d'Avril 2024** au niveau de wilaya Médéa

- ✓ **Objectifs d'étude**

Les objectifs de cette étude sont :

- L'évaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de la plante.
- L'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits de la plante selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis Six souches bactériennes de références (***Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella Typhimirium, Pseudomonas aeroginosa Staphylococcus epidermidis et Bacillus subtilis***) et deux souches fongiques de références (***Aspergillus brasiliensis, Candida albicans)***

II.2.1 Echantillonnage

La partie aérienne et la partie souterraine de plante: les turions et les racines ont été séparées. **Tableau (2)**.

Tableau 02 : Plante étudiée, leur date et région de récolte

Plante	Partie utilisé	Région et date de récolte	Présentation morphologique
Asparagus officinalis	Les turions	Wilaya de Médéa Février 2024	

	Les racines	Wilaya de Médéa Février 2024	

II.2.2. Préparation du matériel végétal

Pour faciliter l'extraction des composés phénoliques de ces plantes, deux opérations de prétraitement de ces matériels ont été effectuées : séchage et broyage.

- ✓ **Séchage:** Nous séchons toutes les parties de la plante (racine, turions) après nous être assurés qu'elles sont bien nettoyées. Le séchage est effectué à l'ombre, à l'abri de l'humidité pendant 2semaines à température ambiante.
- ✓ **Broyage:** Nous broyons la plante que nous avons séchée précédemment à l'aide d'un mixeur de cuisine, en veillant à obtenir une poudre très fine qui nous aidera à travailler plus tard.

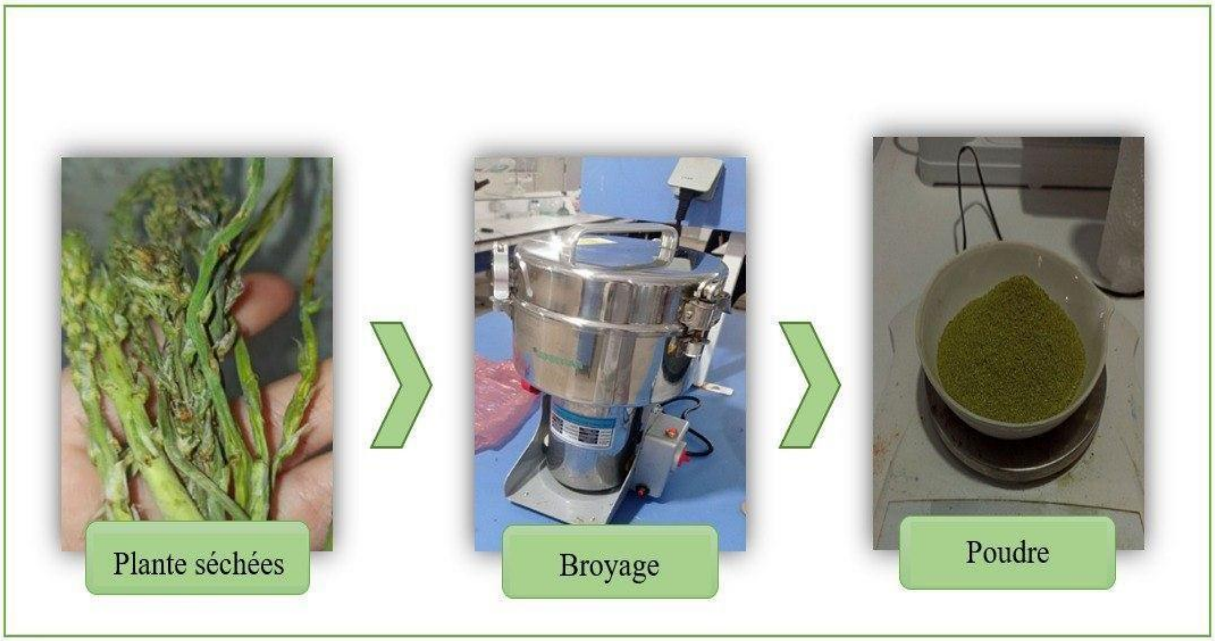


Figure 06 : séchage et broyage des plantes

II.2.3. Extraction des composés phénoliques

L'extraction a été réalisé au laboratoire pédagogique de la faculté des sciences - **Université de Médéa.**

- ✓ **Principe**

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs contenus dans l'*Asparagus officinalis* on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par **(Sultana et *al.*, 2009)**.

Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

- ✓ **Mode opératoire**

Cette méthode sera réalisée par usage de deux systèmes de solvants séparément, eau distillée pure et des différents solvants à 30% et 70% de (méthanol ; éthanol ; butanol ; acétate d'éthyle) dans le but de variée la polarité du solvant, donc on a fait une macération de 40 g de plante dans 400 ml de solvant pendant 24h dans un récipient fermé et à température ambiante avec agitation.

La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante.

Après 24 h, la solution est filtrée en utilisant une compresse et du coton, les extraits hydro alcooliques obtenus seront filtrés par la suite en utilisant un papier filtre Whatman à une porosité de 0,2µm.

La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide d'un appareil appelé **Rota-vapeur** « évaporateur rotatif », l'évaporation sous vide est réalisée en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon de récupération de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. Pour l'extrait alcoolique, l'évaporation est faite à température 45°C.

Enfin, les extraits sont récupérés dans des creusés et puis séchés à l'aide de l'étuve, le produit de séchage a été conservé à l'obscurité pour les analyses ultérieures.

A chaque étape, des pesés de poids des différents extraits ont été réalisés dans le but de calculer le rendement de l'extraction.

II.2.3.1. Extraction par macération

Extraction par macération dans différent solvant (éthanol ; méthanol ; butanol ; acétate d'éthyle).

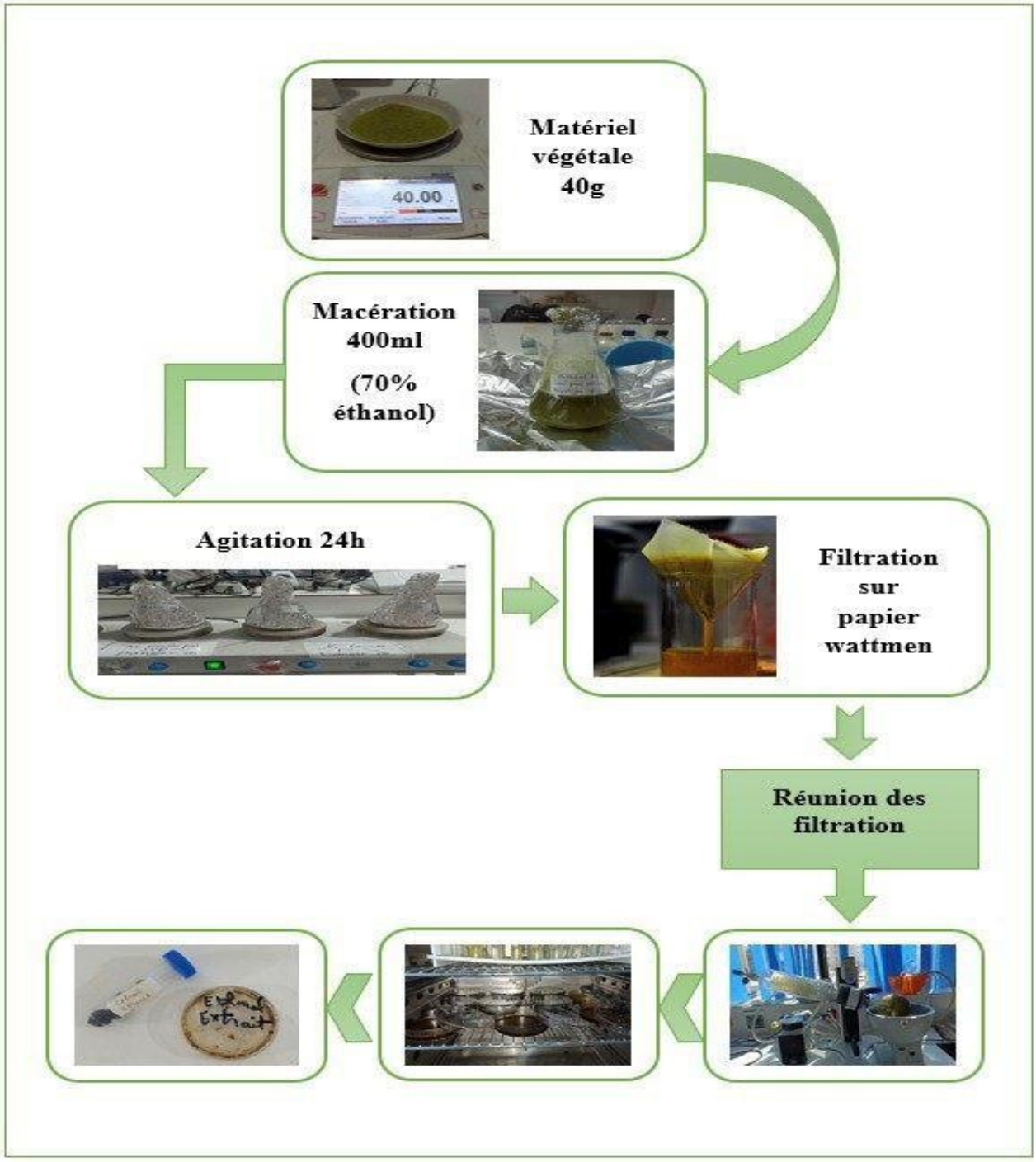


Figure 07 : Protocole d'extraction des composés phénoliques**.**

L'extrait a été pesé et conservé au sec jusqu'à son utilisation et le rendement d'extraction de chaque extrait doit être calculé.

✓ **Calcul du rendement (R%)**

La production rentable d'extraits est le rapport entre la masse de matière sèche de l'extraite obtenu et la masse de matière sèche de la plante utilisée, il est calculé par la formule donnée par **(Falleh et *al*., 2008).**

Où :

- **R**: C'est la production rentable d'extraits **(%).**
- **M_{ext}** : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en **mg.**
- **$M_{éch}$** : est la masse sèche de l'échantillon végétal en **mg.**

II.2.4. Analyse quantitative

II.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. **(Ali-Rachedi et *al*., 2018a).**

✓ **Principe**

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques (H3PMo12O40) et phosphotungstique(H3PW12O40) (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium (NaCO3). Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (Dif et al., 2015)**.**

✓ **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Singleton et Ross, 1965)**, en y apportant quelques modifications.

Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. On agite les tubes et on les conserve pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance est effectuée à 765 nm. On a utilisé l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml) pour réaliser une courbe d'étalonnage en parallèle dans les mêmes conditions opératoires.

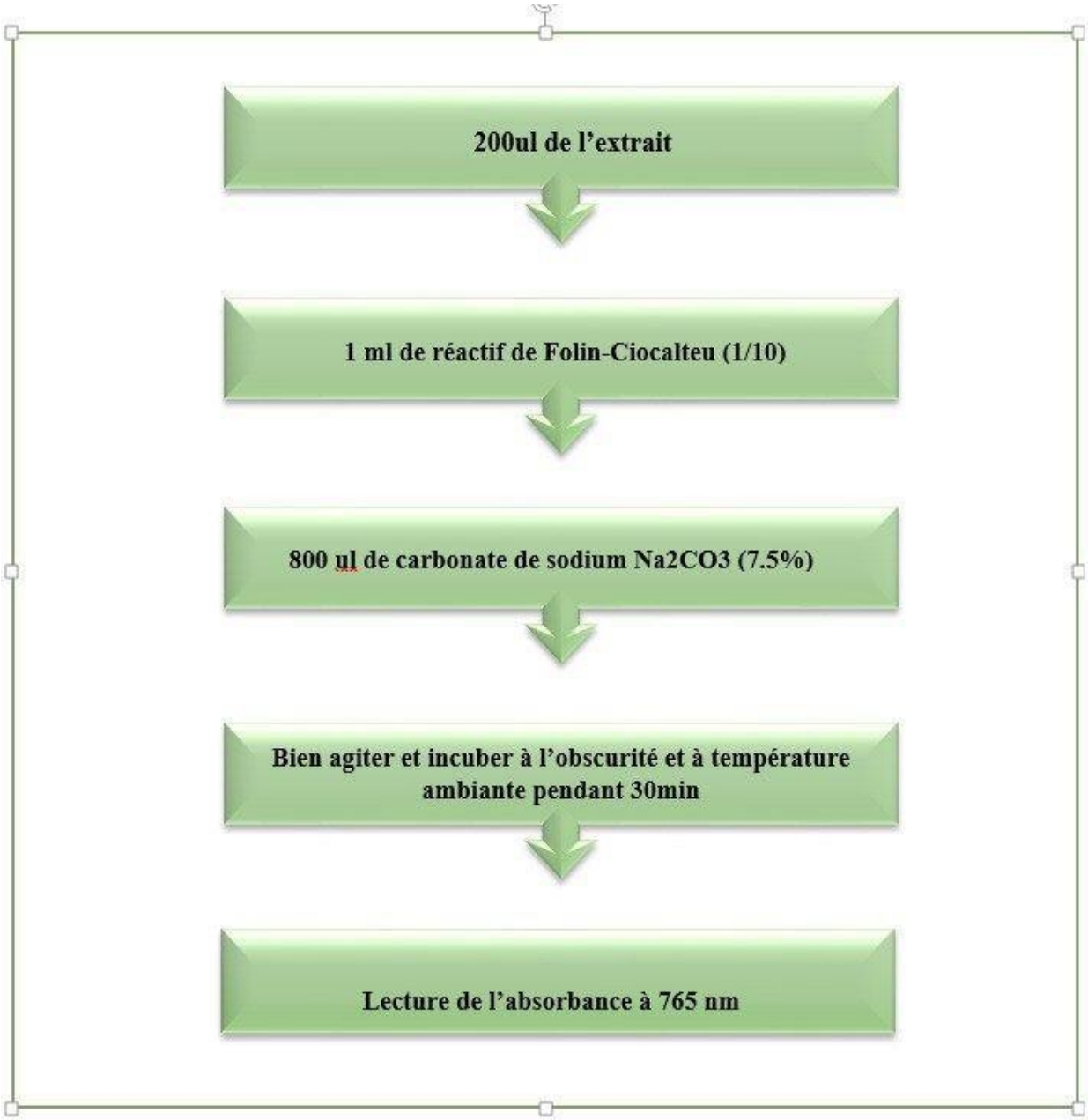


Figure 08 : Protocole de dosage des polyphénols totaux **(Singleton et Ross, 1965).**

✓ **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (**5-200** µg/ml) et

exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg).

La formule de la régression linéaire de cette courbe d'étalonnage est de y=0,0263 x=0,1436 avec un coefficient de corrélation R2 = à 0.9935. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans **la Figure (09).**

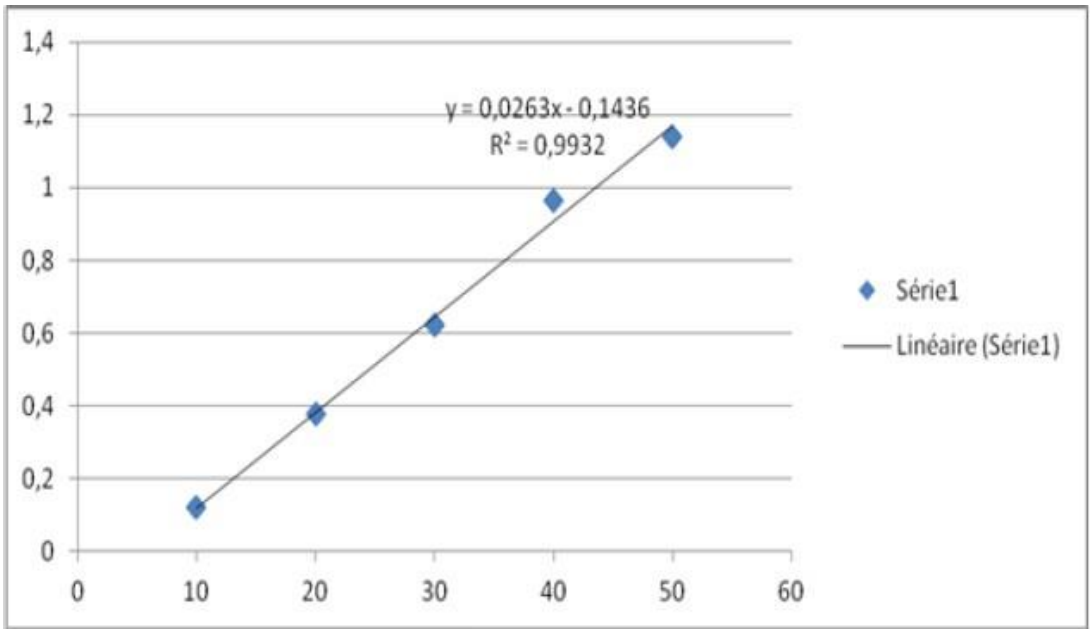


Figure 09 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

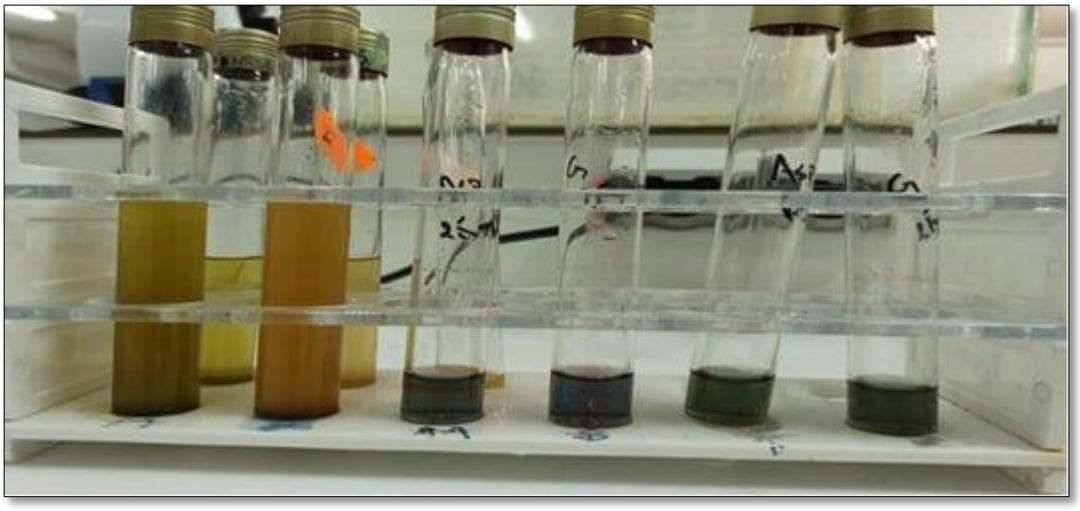


Figure 10 : Les teneurs en polyphénols totaux des extraits d'*Asparagus officinalis*

II.2.4.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué avec le réactif de trichlorure d'aluminium **($AlCl_3$).**

- ✓ **Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes **(Lagnika, 2005).**

- ✓ **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Zhishen et *al.*, 1999)** et **(Kim et *al.*, 2003)**, avec quelques modifications.

- ✓ **Expression des résultats**

On déduit la concentration des flavonoïdes des extraits à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire effectuée par la Quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. On exprime les résultats en milligrammes d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g). **(Ali-Rachedi et *al.*, 2018c).**

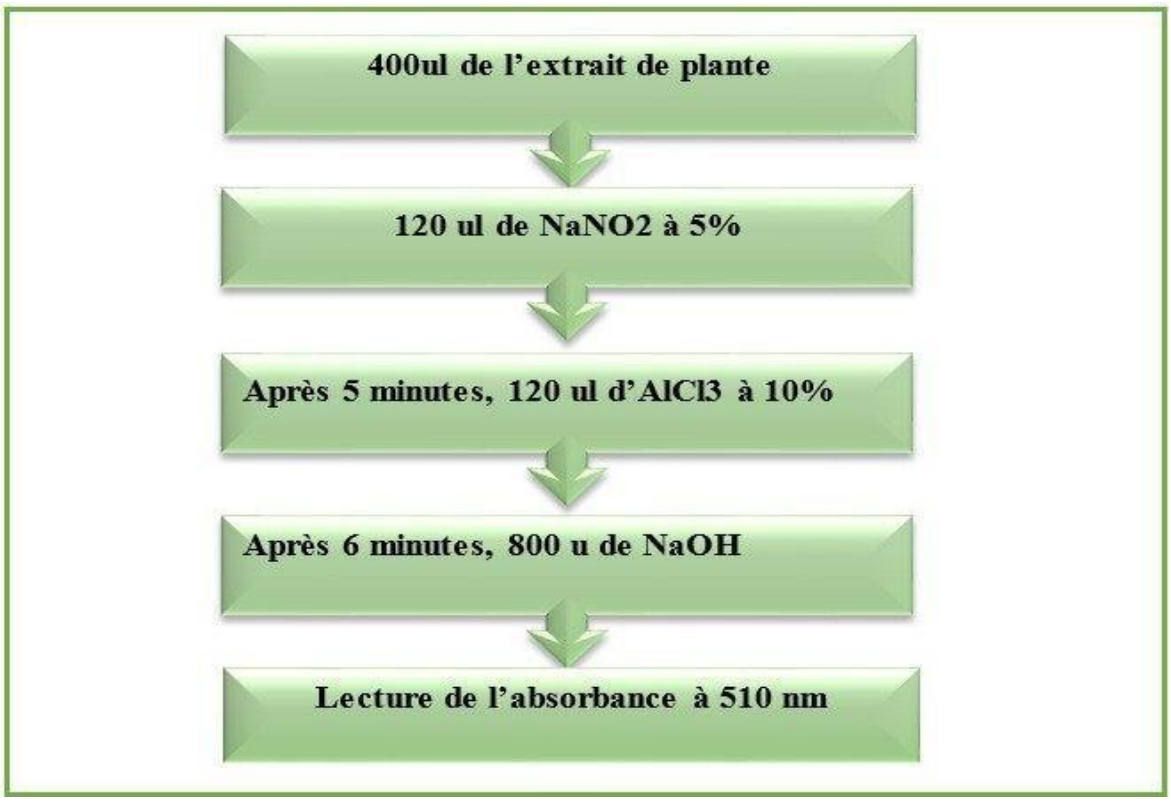


Figure 11 : Schéma représentatif du protocole expérimental de dosage des flavonoïdes. **(Zhishen et *al.*, 1999)** et **(Kim et *al.*, 2003)**.

✓ **Expression des résultats**

La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

La formule de la régression linéaire de cette courbe d'étalonnage est y = 0,0287x-0,1574 avec un coefficient de corrélation R_2 égal à 0,9875. La courbe d'étalonnage de Quercétine est représentée dans la **Figure (12)**.

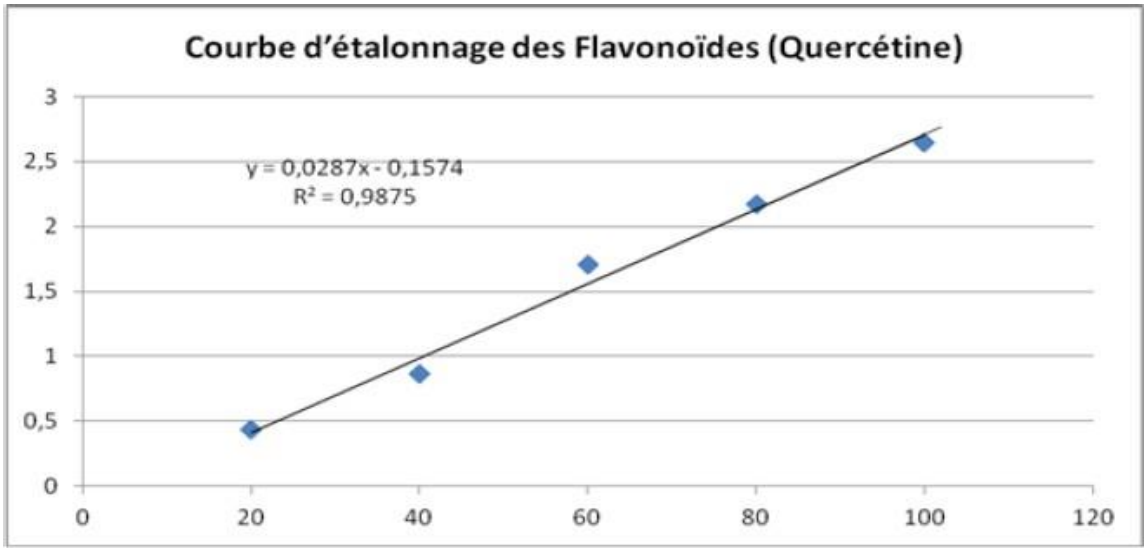


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine

II.2.5. Activités biologiques

Les tests biologiques consistent à mettre en évidence les activités biologiques des extraits d'*Asparagus officinalis* à savoir l'activité anti-oxydant, anti-inflammatoire, et antimicrobienne

II.2.5.1. Activité anti-oxydant :

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont la ß-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocopherol, la quercétine, la rutine et le Picnogénol. 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 (OH) et superoxydes (O2) **(BARBARIE, 2006).**

✓ **Principe**

Pour évaluer l'activité anti-oxydant d'*Asparagus officinalis*, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2.2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par **(Sanchez-Moreno et al., 1998).**

Le DPPH (1.1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. **(Figure13).**

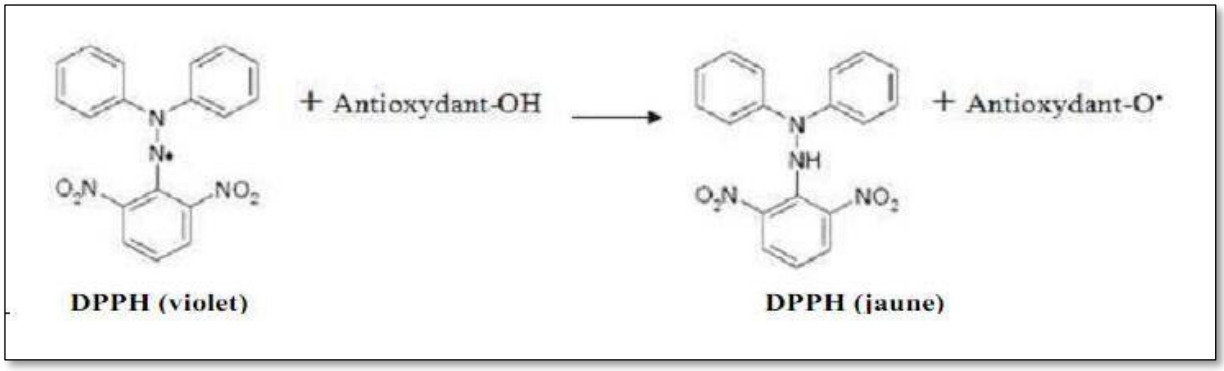


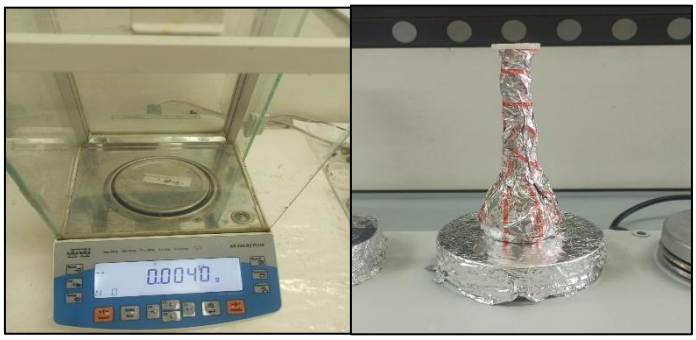
Figure 13 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

✓ **Mode opératoire**

Le teste de DPPH est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante. La méthode est basée sur la mesure de la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique DPPH*(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (couleur violette) en transférant un hydrogène et l'obtention de DPPH-H(couleur jaune), l'absorbance est mesurée à 517 nm. La méthode utilisée dans ce test est celle qui est décrite par **(Meda et al, 2005).**

➢ **Préparation de la solution DPPH**

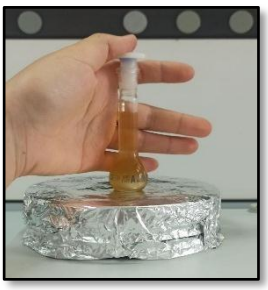
La solution de DPPH a été préparée avec 4mg de DPPH dissout dans 100 ml de méthanol absolu, afin d'obtenir une solution mère de M de DPPH.



Fégure14 : Préparation de la solution DPPH

- **Préparation des extraits**

Pour tous les extraits, on prépare des solutions dans (méthanol ; éthanol ; butanol ; acétate d'éthyle) (100mg de l'extrait dans 10ml dans chaque solvant). Ces solutions dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations.



Fégure15 : Préparation des extraits d'*Asparagus officinalis*

- **Protocol réalisé**

Dans des tubes à essai secs et stériles, on introduit (0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1) ml de l'échantillon à tester, et on ajoute 3.9ml de la solution DPPH dans chaque dilution. Les tubes sont placés à l'obscurité, à une température ambiante (25°C) pendant 30 min. La lecture de l'absorbance est mesurée contre un blanc (1.5ml d'extrait +1.5ml MeOH) préparé pour chaque concentration à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

- ✓ **Expression des résultats**

L'activité antioxydant, qui exprime les capacités de piéger le radicale libre est estimé par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol (% Inhibition ou 1%) suivant la formule :

%Inhibition = (Abs contrôle - Abs test) x 100/Abs contrôle.

Abs contrôle: Absorbance du témoin négatif, ce dernier contient du DPPH et de solvant à la longueur d'onde 517nm,

Abs test: Absorbance des extraits à la longueur d'onde 517nm

Les résultats ont été exprimés par les valeurs CE50 (Concentration Efficace) aussi appelée CI50 (Concentration Inhibitrice de 50%), est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH.

Les CE50 ont été calculées par la régression linéaire où l'abscisse est représenté par la concentration des composés testés et l'ordonné par le pourcentage d'inhibition (1%) **(Samarth et *al*., 2008).**

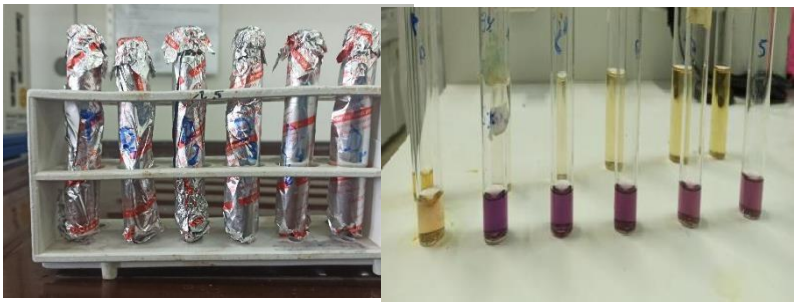


Figure 16 : La détermination du pouvoir antioxydant.

L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif, est les résultats sont calculés à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, celle-ci est établie avec le standard étalon d'acide ascorbique (0,01-0,1 mg/ml).

II.2.5.2. Activité antimicrobienne des extraits

Les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne sont réalisés au niveau du laboratoire de contrôle de qualité, bloc microbiologie Saidal-Médea. Ce test doit être réalisé dans des conditions aseptiques strictes afin d'éviter les problèmes de contamination. De plus, les matériaux, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisées à l'autoclave.

A. Souches testées

Six souches bactériennes de références (***Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella ayphimirium, Pseudomonas aeroginosa Staphylococcus epidermidis et Bacillus subtilis***) et deux souches fongiques de références (***Aspergillus brasiliensis, Candida albicans***) ont été testées.

Ces souches ont été obtenus auprès du laboratoire de Contrôle de qualité « **Groupe Saidal** » de Médéa. Les caractéristiques des souches sont citées dans le **tableau (3)** pour les souches bactériennes et le **tableau (4)** pour les souches fongiques.

Tableau 03 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.

Famille	Espèce	Gram	Référence
Enterobacteriacées	*Escherichia coli*	Négatif	ATCC12228

Micrococcaceae	*Staphylococcus aureus*	Positif	ATCC6538
Enterobacteriaceae	*Salmonella typhimirium*	Négatif	ATCC14028
Pseudomonadacées	*Pseudomonas aeroginosa*	Négatif	ATCC9027
staphylococcaceae	*Staphylococcus epidermidis*	Positif	ATCC12228
Bacillaceae	*Bacillus subtilis*	Positif	ATCC6633

Tableau 04 : Caractéristiques pour les souches fongiques.

Famille	Espèce	Référence
Saccharomycetaceae	*Candida albicans*	ATCC10231
Trichocomaceae	*Aspergillus brasiliensis*	ATCC16404

B. Evaluation de l'activité antibactérienne

- **Les milieux utilisés**

- Le **Soja agar** a été préparé pour le but de repiquage des souches bactériennes et d'évaluation de l'activité antibactérienne.

- La gélose **Sabouraud** est un milieu sélectif pour la culture fongique, levures et de divers autres champignons pathogènes et non pathogène.

- **Repiquage des souches bactériennes**

Chaque souche bactérienne a été repiquées par la méthode des stries sur **gélose nutritive** pour les bactéries et sur **Sabouraud** pour les levures en boite de pétri. A l'aide d'une anse de platine stérile, puis incubées à l'étuve à 37°C (35°C pour Candida) pendant **18** à **24 heures**, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.

- **Préparation d'inoculum**

Pour préparer l'inoculum, on racle 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture de 24 h, sur le milieu d'isolement puis déchargées dans de l'eau physiologique stérile. La suspension microbienne est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex et sa turbidité est ajustée à 0,5 McFarland, soit une densité optique égale à 0,08 à 0,10 ; lue à une longueur d'onde de 625 nm



Figure 17 : Préparation d'inoculum.

- **Préparation des disques d'aromatogramme**

Nous avons utilisé le papier Wattman N°3, coupé en disque de 8 mm de diamètre. Ces disques doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Ces derniers, une fois préparés, sont placés dans une boite de pétri (en verre) contenant 10 ml l'eau distillée et stérilisés pendant 20 mn à 120 °C

- **Préparation des dilutions des extraits**

Les extraits ont été repris avec le diméthyl sulfoxyde (DMSO), les dilutions des extraits sont réalisées à analyses selon les méthodes suivantes :

Tableau 05 : Préparation des différentes dilutions des extraits dans le DMSO.

Les dilutions	Pure	1er dilution	2éme dilution
Concentration d'extrait d'*Asparagus officinalis* (Turion)	125mg/ml	62mg/ml	31mg/ml
Concentration d'extrait d'*Asparagus officinalis*(Racine)	125mg/ml	62mg/ml	31mg/ml

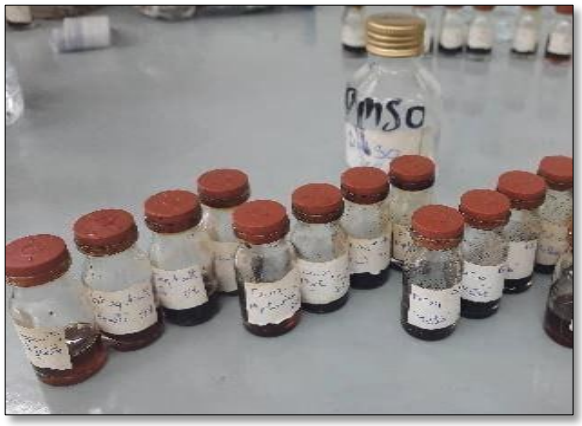


Figure 18 : Préparation des dilutions des extraits.

- **Aromatogramme**

L'aromatogramme, également connu sous le nom d'antibiogramme, est une technique de laboratoire utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits contre les bactéries et les champignons. Il s'agit d'une méthode in vitro, réalisée en éprouvette, qui permet de déterminer l'efficacité des extraits spécifique contre une souche microbienne particulière.

- **Ensemencement du milieu de culture :**

Les milieux de culture ont été coulés dans des boites de pétri stériles, les souches microbiennes sont ensemencées par étalonnage à l'aide d'un écouvillon. L'ensemencements 'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries. La gélose soja agar pour les bactéries et la gélose Sabouraud pour les champignons.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier-filtre, imprégnés dans différentes concentrations de l'extrait (butanol, méthanol, éthanol, éthyle acétate) sont déposés à la surface de la gélose, Une distance standardisée est maintenue entre les disques pour éviter les interactions entre les zones d'inhibition**.**

L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 d'incubation à 37° C pour les bactéries et 24°C pour les champignons. Les extraits préparés sont dilués dans le DMSO car il n'a aucun pouvoir antimicrobien**.**



Figure 19 : Ensemencement des bactéries.

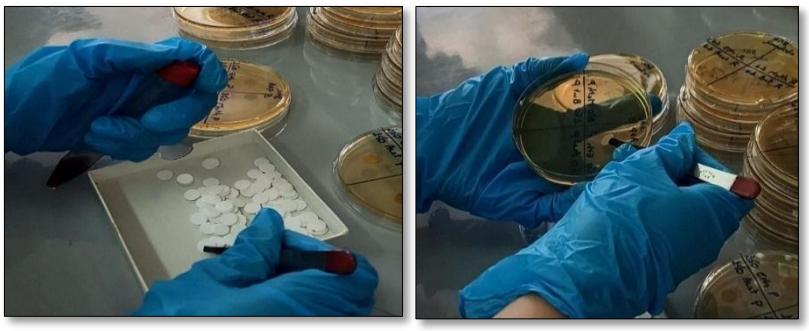


Figure 20 : Dépôts des disques.

✓ **Incubation et lecture**

Après une incubation de 24 heures à une température de 37°C, la lecture s'effectue en mesurant le diamètre d'inhibition de la croissance microbienne. Cette distance millimétrique est ensuite reportée sur une échelle de concordance afin que la souche soit interprétée sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis du principe actif étudié. Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible. La sensibilité des différentes souches vis-à-vis de l'extrait étudié est classée selon le diamètre d'inhibition et selon les critères présentés dans le tableau suivants :

Tableau 06 : Les diamètres d'inhibition selon les critères.

Diamètre Ø	**Symbole**	**Sensibilité**
<8mm	(-)	Non sensible
9-14mm	(+)	Sensible
15-19mm	(++)	Très sensible
>20mm	(+++)	Extrêmement sensible

Partie III :

Résultats

& Discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Extraction :

Pour obtenir des extraits secs à partir de la poudre d'*Asparagus officinalis* (turion, racine), nous avons réalisé des extractions par macération (décoction) dans quatre différents solvants (méthanol, éthanol, butanol, acétate d'éthyle).

Cette extraction a permis d'obtenir quatre extraits bruts pour chaque partie de la plante : quatre extraits racinaires et quatre extraits aériennes.

III.1.2. Détermination le rendement

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de l'extrait sec sur la quantité de la matière végétale fraiche. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy Diem Do et *al*., 2014**).

Dans cette étude, Le rendement a été déterminé par rapport au poids total de la poudre des plantes. Ce dernier montre que les parties de l'*ASP* ont donné de masse est 40 g de plante en poudre. Ces résultats sont représentés dans **le tableau (07).**

Tableau 07 : Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits de la plante étudiée

Matériel végétale	Organe	Solvants	Couleur	Aspect	Rendement %
Asparagus officinalis	Turion	Acétate d'éthyle	Verte foncé	Pâteux	62.5%
		Butanol	Verte foncé	Pâteux	55.75%
		Éthanol	Marron foncé	Pâteux	75%
		Méthanol	Marron foncé	Pâteux	68.25%
	Racine	Acétate d'éthyle	Marron foncé	Solide	57.5%
		Butanol	Marron claire	Poudre	37.5%
		Éthanol	Marron claire	Poudre	69.25%

		Méthanol	Marron foncé	Pâteux	65.5%

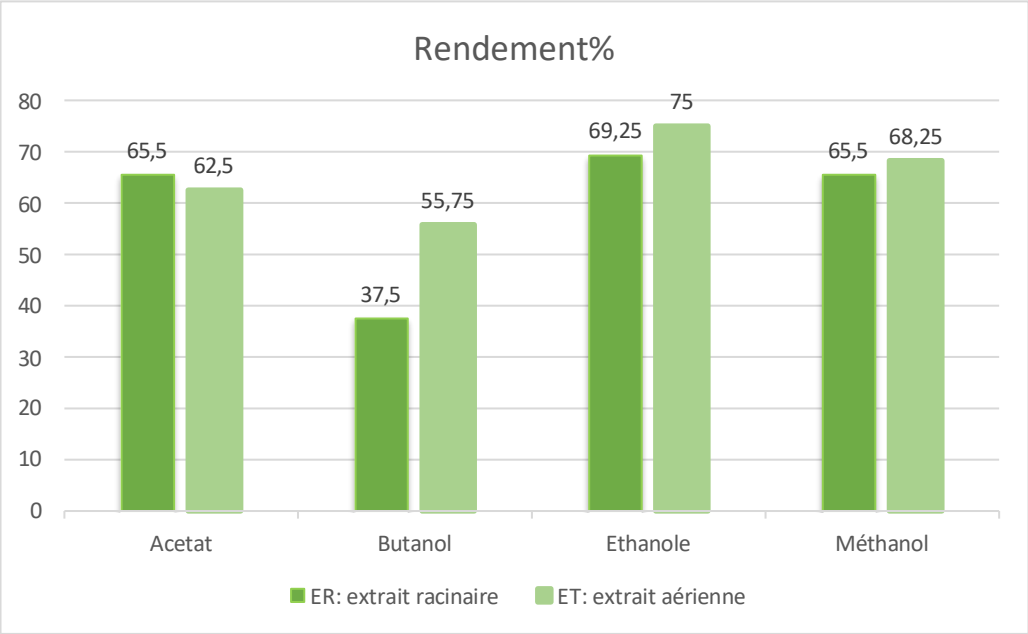


Figure 21 : Présentation du rendement des extraits de *d'Asparagus officinalis*

Nos résultats ont montré des pourcentages différents de rendement selon le solvant utilisé avec un meilleur rendement pour l'éthanol (75% pour la partie aérienne et 69.25% pour les racines)

Quy Diem Do et al. (2014) ont démontré que l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

Les parties de la plante *Asparagus officinalis ai* été soumis à des extractions par macération (pendant 24 heures) en utilisant quatre solvants de polarité différente, donc notre résultats on constate que les extraits de solvant légèrement polaire (Acétate d'éthyle) et le solvant butanol (moins polaire que Méthanol et Ethanol) ont un rendement plus faible que celui obtenu par les extraits polaires (Méthanol et Ethanol).

III.1.3. Analyse quantitative

III.1.3.1.les phénols totaux :

Polyphénols

L'étude quantitative des extraits bruts de la partie aérienne et souterraine d'*Asparagus officinalis* au moyen de dosage spectrophotométrique avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des différentes extraits sont portés dans **la figure 22**

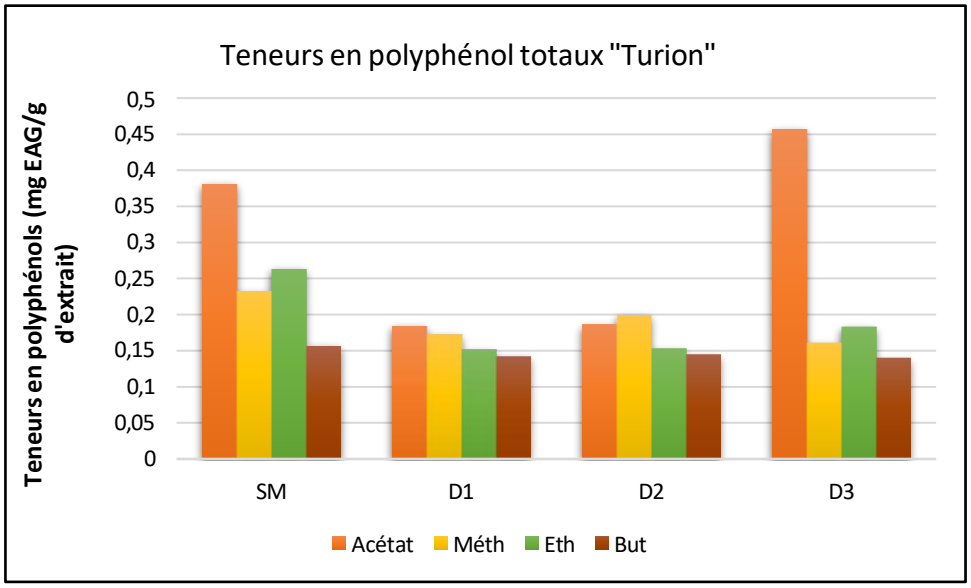


Figure 22 : Teneurs en polyphénol totaux des extraits de la plante de la partie aérienne.

L'évaluation quantitative de ces composés phénoliques montre que la quantité de polyphénols dans l'extrait d'acétate d'éthyle, d'*Asparagus officinalis* (0.457 mg EAG /g extrait) de la partie aérienne est la plus élevée.

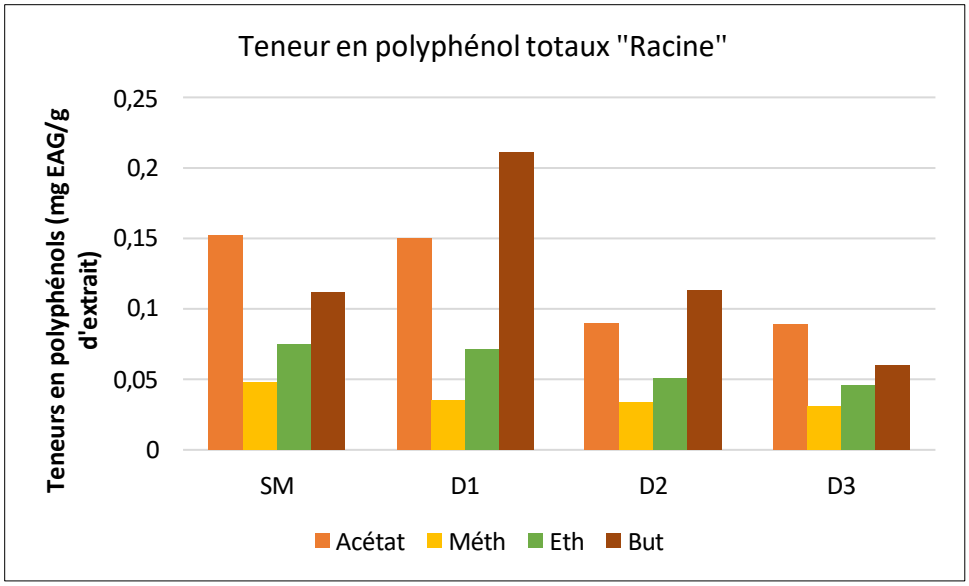


Figure 23 : Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de la plante de la partie racinaire

L'évaluation quantitative de ces composés phénoliques montre que la quantité de polyphénols dans l'extrait butanolique d'*Asparagus officinalis* de 0.211 mg EAG /g extrait de la partie racinaire est la plus élevée.

Les différences dans les teneurs en polyphénols selon les solvants peuvent être attribuées à la polarité des solvants et à l'affinité chimique entre les polyphénols et les solvants. Le butanol et l'acétate d'éthyle apparaissent comme les solvants les plus efficaces pour extraire une large gamme de polyphénols dans les échantillons de racine étudiés.
Les conditions, sont d'une grande importance pour la routine et la teneur en polyphénols.

Les résultats obtenus viennent confirmer les travaux de **(Palfi et *al*., 2017)** ont montré que ces extraits contiennent des quantités de polyphénol de 2 mg GAE /g FW et 4 mg GAE /g DW pour les racine et plante respectivement.

La biosynthèse des phénols dans les plantes dépend d'un nombre des facteurs environnementaux, tels que le rayonnement UV, la température, le climat, le sol,
le stress biotique ou abiotique ; c'est aussi dépendu du moment de la récolte des asperges, Conditions de culture, en particulier la lumière. La génétique (la variété et l'origine des espèces), la physiologie (le stade de développement des plantes, les organes utilisés) et le temps de stockage, les teneurs en composés phénoliques varient sensiblement d'une espèce à l'autre et au sein de la même espèce **(Ksouri et *al*., 2009).**

III.1.3.2. Dosage des flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes totaux dans les différents extraits d'asperge a été effectuée selon la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium **(Chang et *al*., 2002)**.

La routine a été utilisée comme standard, et l'étalon été la quercétine.

Les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits dans la partie aérienne est représenté dans la **figure 24**

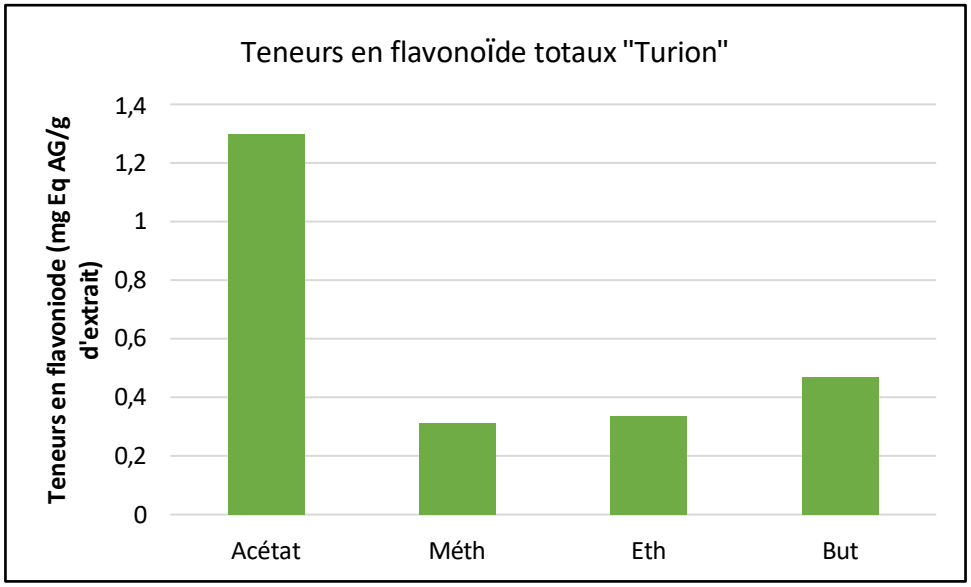


Figure 24 : Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de la plante (partie aérienne) avec différents solvants

Les résultats des teneurs en flavonoïdes totaux des quatre extraits de la partie aérienne d'*Asparagus officinalis* ont révélé que l'acétate d'éthyle est le solvant le plus efficace, extrayant environ 1,297 mg Eq AG /g d'extrait, suivi par le butanol 0,4694 mg Eq AG /g d'extrait, le méthanol 0,3117 mg Eq AG /g d'extrait et l'éthanol 0,3364 mg Eq AG /g d'extrait. Ces résultats sont cruciaux pour optimiser l'extraction de flavonoïdes dans divers domaines.

Les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits dans la partie racinaire est représenté dans la **figure 25**

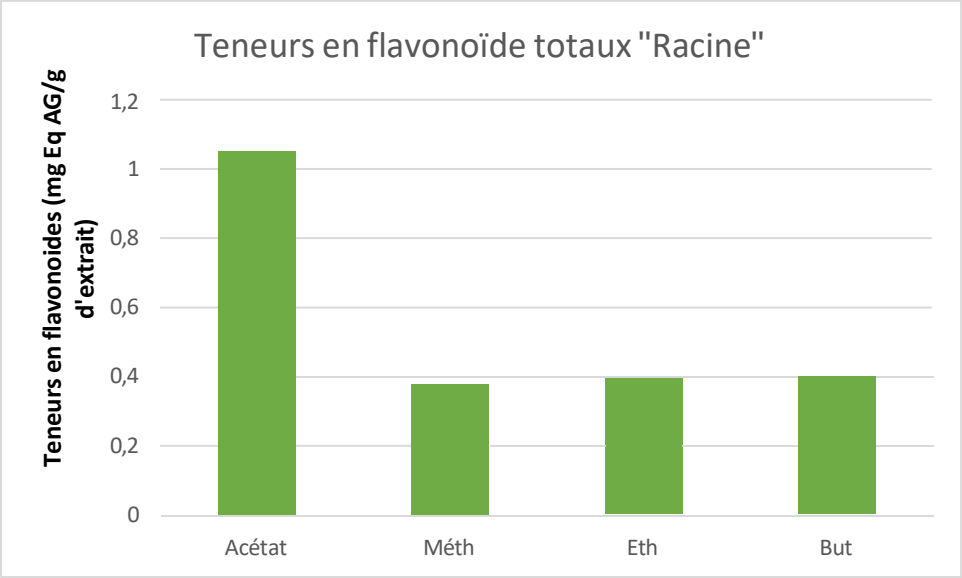


Figure 25 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de la plante (partie racinaire)

La teneur des flavonoïdes **(Fig.25)** est relativement importante dans la majorité des extraits, les teneurs en flavonoïdes sont de (1,052mg EQ /g de d'extrait) dans l'extrait d'*Asparagus officinalis* dans acétate suivie de celles de l'extrait dans le butanol avec (0,4211mg EQ/g d'extrait).

Diverses variations des paramètres inhérents aux conditions d'extraction et aux proportions (solvant / soluté) utilisés rendent difficile la comparaison de ces résultats à la littérature. Néanmoins, les résultats de **Missaoui** en **2020** ont montré une forte proportion de flavonoïdes dans la plante, à un taux estimé à 5,03 ± 0,05 et dans les racines à 3,9 ± 0,2. Contrairement à nos résultats qui montraient des résultats faibles par rapport aux résultats de **Missaoui (Missaoui et al., 2020).**

Cette variation peut être expliquée que la teneur en flavonoïdes est influencée par différents paramètres telle que la période et le lieu de récolte, le climat, les conditions géographiques, la méthode et le temps d'extraction, la solubilité et le type du solvant utilisé.

III.2. Activités biologiques

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant et antibactérien des extraits serait plus instructif et même nécessaire **(Ozturk et *al.*, 2010)**.

Les acides phénoliques présentent un fort potentiel en tant que composés antioxydants capables de piéger les radicaux libres. Ils jouent un rôle reconnu dans le maintien d'un bon état de santé et pourraient participer à la prévention de diverses maladies dégénératives, telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer, liées à un excès des radicaux libres et au stress oxydatif **(Saxena et *al*., 2012).**

III.2.1. L'activité antioxydante

III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée **(Bortolomeazzi et *al*, 2007).**

Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des activités anti oxydantes. La capacité de réduire ce radical est déterminée par la diminution de l'absorbance à 517 nm induite par la substance étudiée.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés par le test de DPPH sont exprimés par le pourcentage d'inhibition et la concentration inhibitrice 50 du radical DPPH par les extraits et sont représentés graphiquement **(Figure 27).**

À des fins comparatives, l'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant standards, Il a montré une activité anti radicalaire très puissante avec une IC**50** de **0,06** mg/ml.

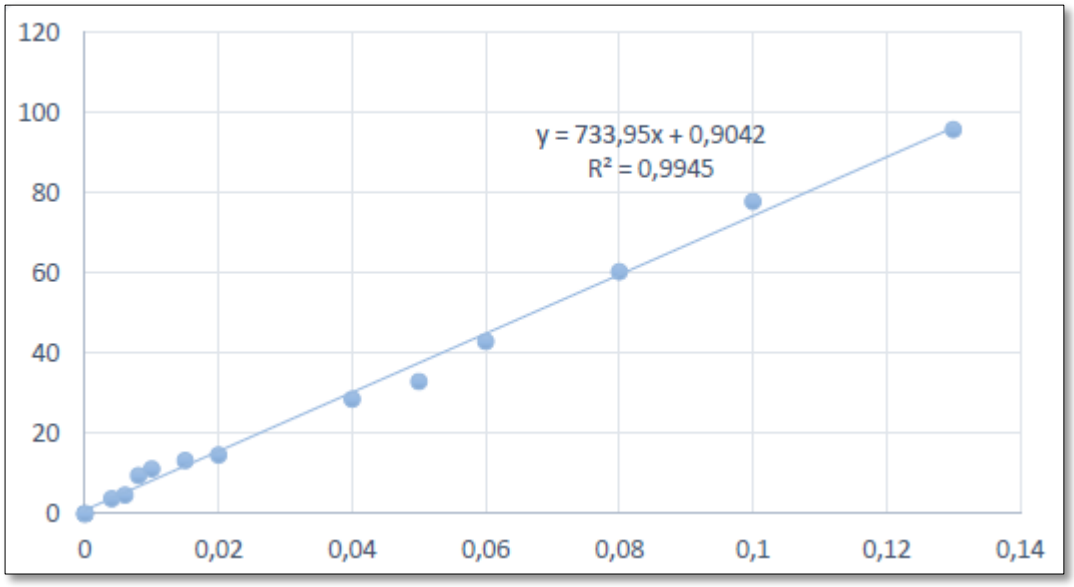


Figure 26 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

Selon les mesures effectuées sur les extraits de la plante, nous calculons le pourcentage d'inhibition du DPPH selon la formule indiquée dans la partie précédente.

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC50, Ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats **(Abdulmajed et *al.*, 2005 ; Ahmad et *al.*, 2012 ; Ranga et *al.*, 2009),** Il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité du radical DPPH**.** Ces IC50 sont déterminés à partir des graphes dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage.

Les profils d'activité anti-radicalaire obtenus révèlent que les extraits *d'Asparagus officinalis* possèdent une activité anti-radicalaire dose-dépendante. Les IC50 de chacun des différents extraits ont été déterminées **(Tableau 6).**

Tableau 6 : Activité antioxydante des extraits *d'Asparagus officinalis*

Les plantes	Les extraits	IC50
Asparagus officinalis	EER	19.57
	EET	15.09
	EMR	98.13
	EMT	15.99
	EBR	63,07

EBT	9.43
EAR	67.44
EAT	57.21

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition É de la plante *ASP*.

EER : Extrait Éthanolique Racine**, EET :** Extrait Éthanolique Turion, **EMR :** Extrait Methanolique Racine, **EMT :** Extrait Methanolique Turion, **EBR :** Extrait Butanolique Racine, **EBT :** Extrait Butanolique Turion, **EAR :** Extrait Acétate d'éthyle Racine, **EAT :** Extrait Acétate d'éthyle Turion.

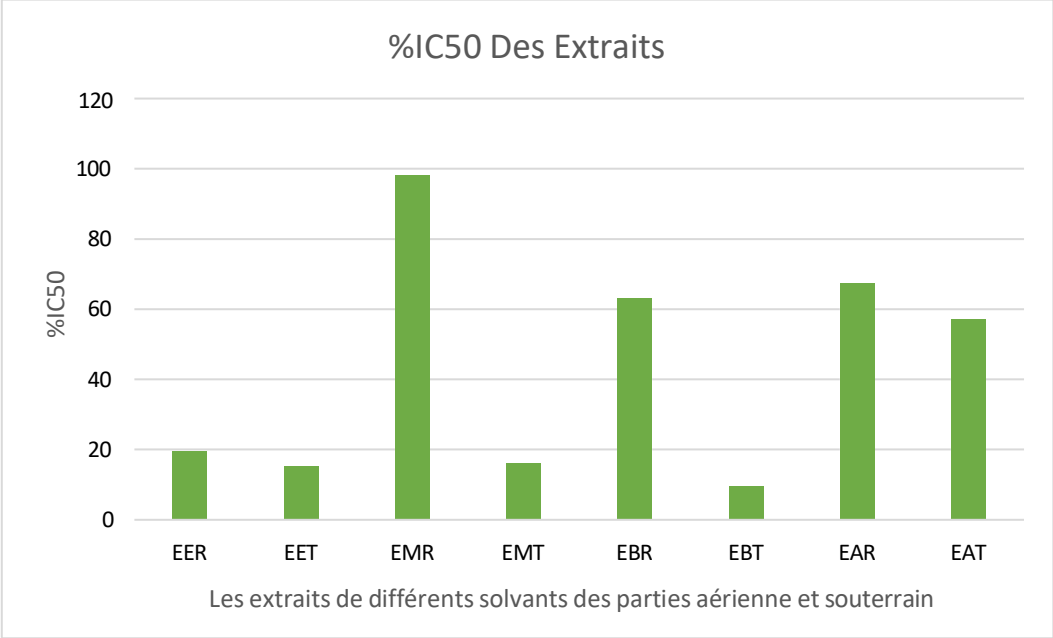


Figure 27 : Histogramme représentatif d'IC50 % par les extraits de différents solvants des parties aériennes et souterrains

Les valeurs d'IC50 montrent que les extraits des turions sont généralement plus efficaces que ceux de la racine. En particulier, les extraits éthanolique EET a un IC50 égale à 15.09 mg/ml, les extraits méthanolique et butanolique de la turion (EMT et EBT), (**IC50=15.99** mg/ml et **IC50=9.43** mg/ml) respectivement, sont beaucoup plus efficaces, avec des différences respectivement de 85 % et 55 % par rapport à leurs homologues de la racine (EMR et EBR), dont les **IC50** sont de **98.13** mg/ml et **63,07** mg/ml.

Notre épreuve montre que la valeur d'IC50 obtenue chez *Asparagus officinalis* est nettement supérieure à celle obtenue dans les études menées par **(Kaska et *al*, 2018),** avec

une valeur d'IC50 de 0.383 mg/ml qui justifier le pouvoir énorme des extraits d'asparagus dans la neutralisation de DPPH.

Cette différence est peut-être due à la différence dans le protocole de dosage suivie ainsi qu'à la méthode d'extraction adoptée. En effet, la réactivité des composés phénoliques contre le DPPH dans le butanol est plus efficace que leur réactivité dans d'autres solvants.

III.2.2. Évaluation l'activité antimicrobienne

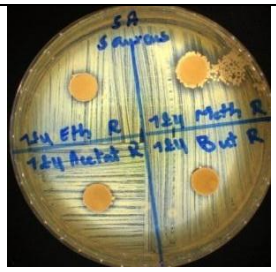
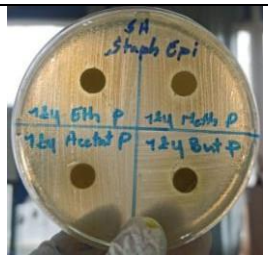
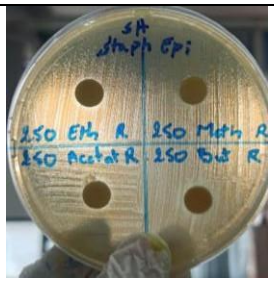
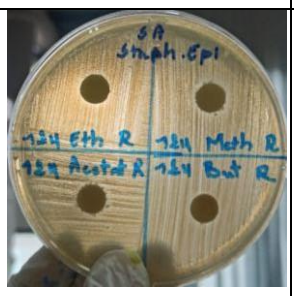
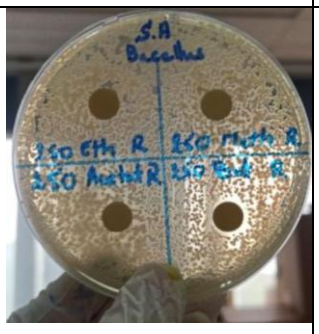
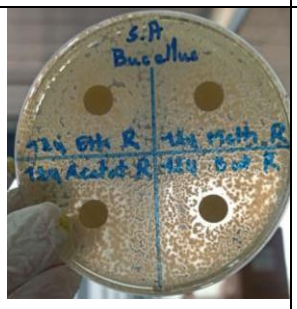
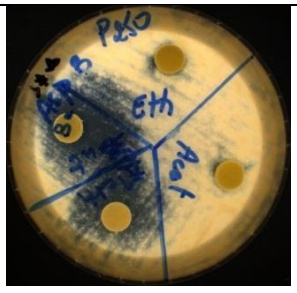
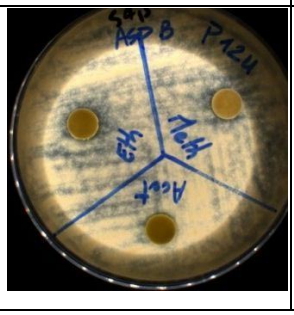
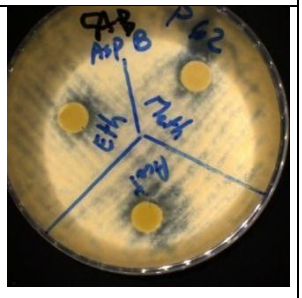
Le principe de l'activité antimicrobienne a été déterminé par la méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé, utilisant des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre. Les disques ont été imprégnés dans différentes solutions (1 g/ml) des extraits dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour les extraits organiques. Un disque imbibé par le DMSO a été employé en tant que contrôle négatif. Ensuite, les disques ont été déposés à la surface d'un milieu ensemencé par une suspension microbienne. À la fin de la durée d'incubation (18–24 heures) pour les souches bactériennes et 48 heures pour la levure à 37 °C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés.

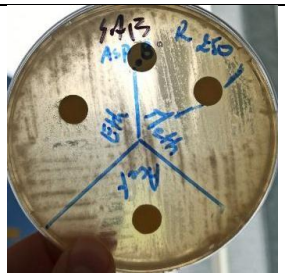
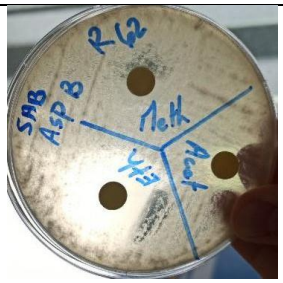
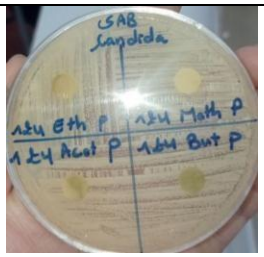
III.2.2.1. L'inhibition de la croissance microbienne

Après 24heures d'incubation à 37°C pour les souches bactériennes et 24 °C pour les souches fongiques, on a récupéré les boites de pétri puis nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition des extraits à différents solvants sur les différentes souches testées. les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau (09)** ci-dessous :

Tableau 09 : Activité antimicrobienne des extraits d'*Asparagus officinalis*

Les souches testés	Les parties utilisées	125mg/ml	62mg/ml	31mg/ml
Staphylococcus Aureus	Turion			/

	Racine			/
Staphylococcus Epidermidis	Turion	/		/
	Racine			/
Bacillus Subtilis	Turions	/	/	
	Racines			
Aspergillus Brasiliensis	Turions			

	Racines		/	
Candida Albicans	Turions	/		
	Racines			/

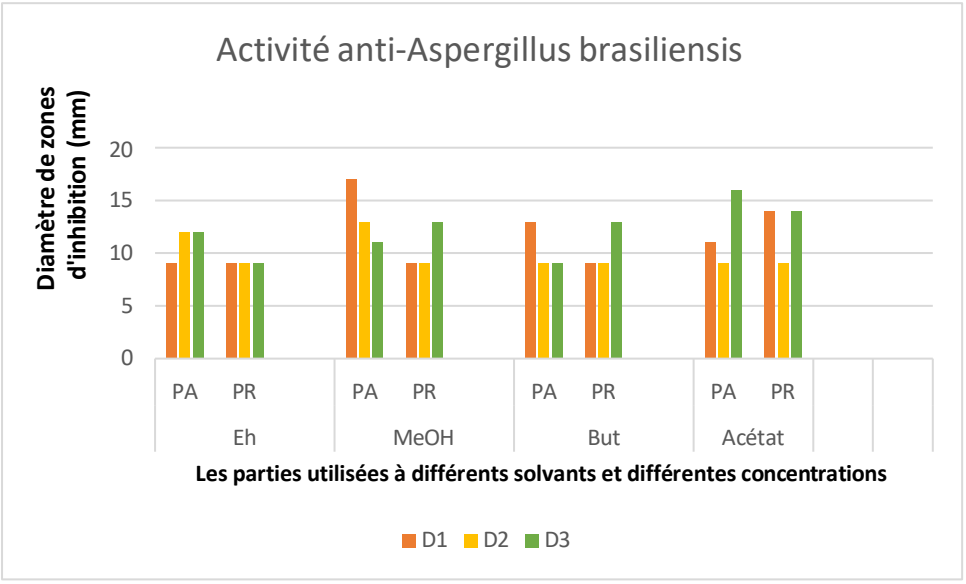


Figure 28 : Activité anti-***Aspergillus brasiliensis*** des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm

D'après nos résultats, les extraits de l'*Asparagus officinalis* **(turions)**, ont montré une activité inhibitrice uniquement sur la croissance d'une seule souche fongique (*Aspergillus brasiliensis*), avec des diamètres de 16,2 mm pour l'extrait d'acétate dans la dilution 3 (D3), 12 mm **(EE) (D2 et D3)**, 17mm **(EM)(D1)** et 13 mm **(EB)(D1)**.

Les résultats de l'activité inhibitrice des **extraits racinaires** montrent une activité inhibitrice uniquement sur la croissance d'une seule souche fongique (*Aspergillus brasiliensis*), avec des diamètres de 14 mm pour l'extrait d'acétate dans dilution **(D1 et D3)**, 13 mm **(EM)** et **(EB)** dans **(D3)**.

Nous pouvons constater que la souche fongique *Aspergillus brasiliensis* est sensible aux extraits d'asperge, en particulier à l'extrait méthanolique, qui a montré une grande zone d'inhibition.

(**Ebril.N et *al*2018)** Sont étudies leffet antimicrobienne de l'éxtrait d'Asparagus officinalis sur les souches fongique ***Candida albicans* , *Aspergillus brasiliensis*** *:* ***Candida*** 22mm ; ***Aspergillus brasiliensis*** *25mm* qui concordant avec nos résultats.

Le diamètre de la zone d'inhibition dépend principalement de nombreux facteurs, par exemple: la capacité de diffusion des substances (présentent dans les extraits) dans le milieu gélose, pouvoir antimicrobien des substances diffusés, la croissance et activité métabolique des microorganismes dans le milieu, en plus en fonction de la date de récolte il aura des variations très importante dans la composition chimique et de l'activité**.(ÇOLAK. Et *al* 2009).**



Figure 29 : Résultat de l'effet antifongique des extraits d'*Asparagus officinalis*

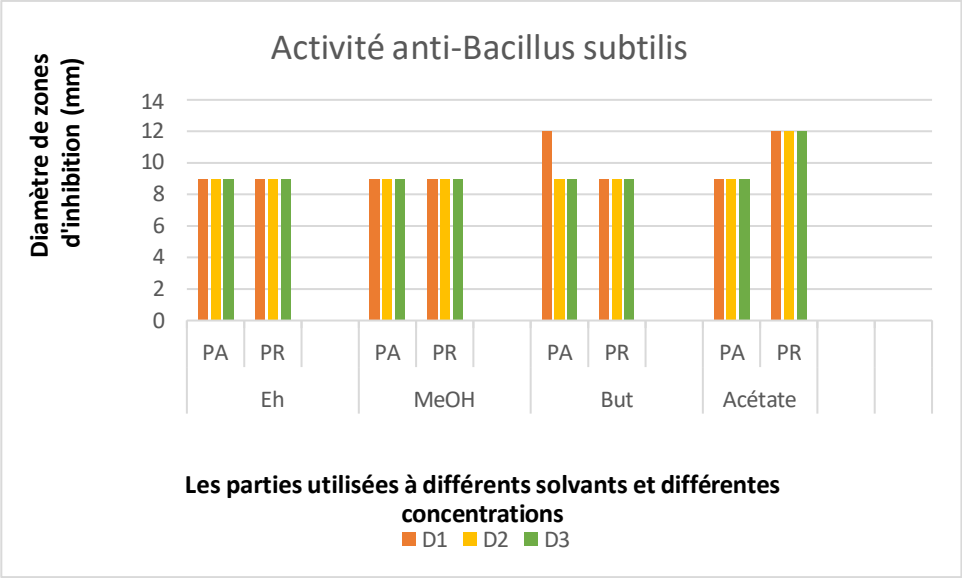


Figure 30 : Activité anti-***Bacillus subtilis*** des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique, méthanolique, butanolique et d'acétate d'éthyle contre Bacillus subtilis a montré une meilleure activité de l'extrait d'acétate éthyle pour la dose D1, D2,D3 avec une zone d'inhibition de 12mm.

Les résultats de **(Fatteh.A., 2019**)montré que l'extrait d'Asparagus en dilution 80% à une plus grande activité inhibitrice et l'activité a été démontré contre ***Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli.***

Le diamètre de la zone d'inhibition des extraits entre les microorganismes dépend de la composition et de la concentration de l'extrait utilisé, de la sensibilité spécifique du microorganisme testé, des conditions environnementales lors du test, ainsi que de la méthode expérimentale employée pour évaluer l'inhibition**. *(Baghiani et al, 2010)***

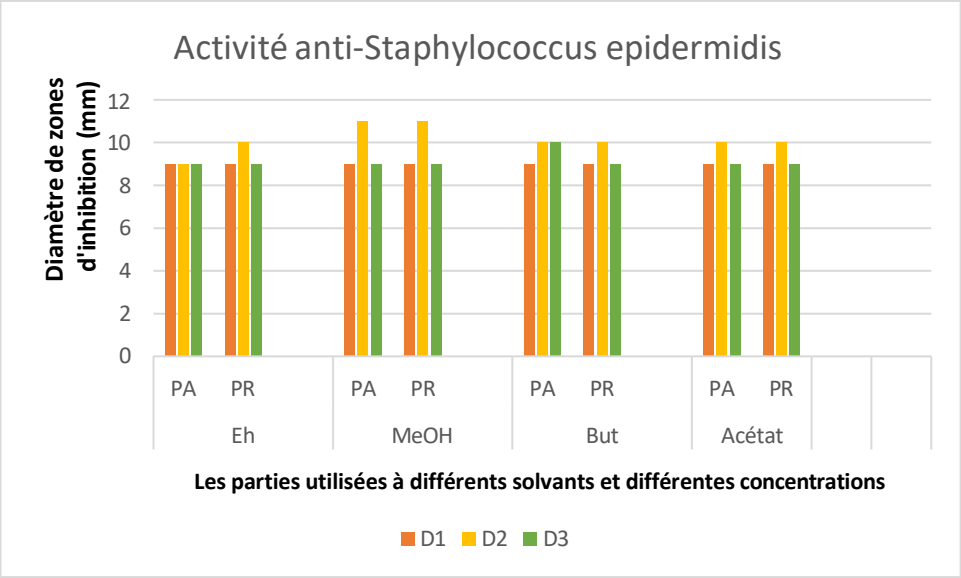


Figure 31 : Activité anti-***Staphylococcus epidermidis*** des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm

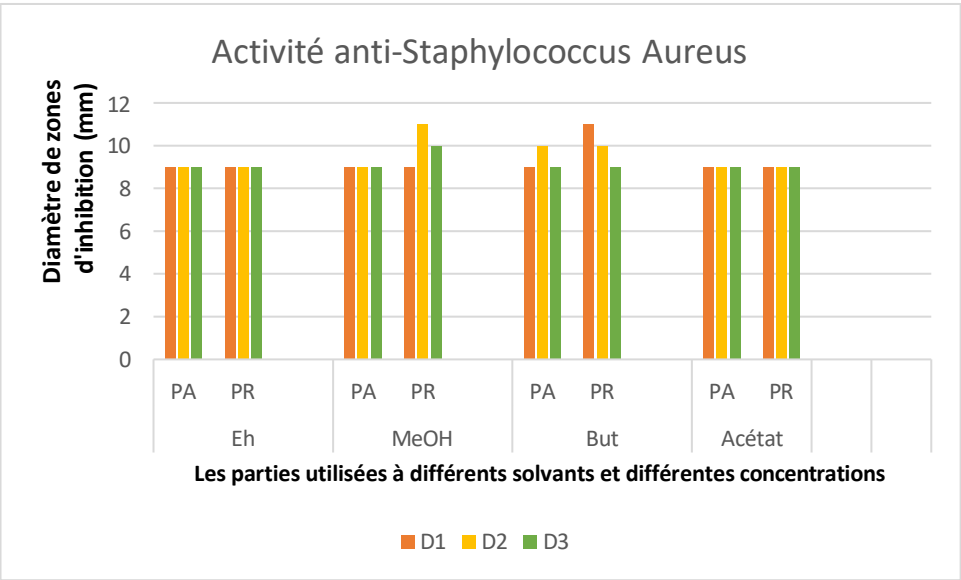


Figure 32 : Activité anti-***Staphylococcus Aureus*** des extraits d'*Asparagus officinalis* exprimée par les diamètres des zones en mm

Les résultats de l'activité inhibitrice des extraits aériens sur la croissance des trois souches bactériennes *(Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis et Bacillus subtilis),* Avec des diamètres de 12 mm, 10 mm pour l'extrait butanolique chez *Bacillus subtilis et Staphylococcus aureus* respectivement, et aucune activité inhibitrice pour les autres solvants. Pour la souche *Staphylococcus epidermidis,* les diamètres observés sont 10 mm **(EA)**, 11 mm **(EM)** et 10 mm **(EB)**.

Les résultats de l'activité inhibitrice des extraits racinaires sur la croissance des trois souches bactériennes ***(Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis et Bacillus***

subtilis, montrent de diamètre de 12 mm pour l'extrait acétate sur la souche ***Bacillus subtili***, et des diamètres de 10 mm **(EE)**, 11mm **(EM)**, 10mm **(EB)** sur la souche ***Staphylococcus epidermidis***, Pour ***Staphylococcus aureus***, les diamètres sont 11 mm pour **(EM)** et **(EB)**.

Aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les trois souches bactériennes (***Escherichia coli, Salmonella typhimirium, Pseudomonas aeroginosa***), Les trois souches bactériennes se révèlent avoir un potentiel de résistance élevé contre l'activité antibactérienne des extraits aériennes et racinaires.

Aucune zone d'inhibition n'a été observée pour une seule souche fongique ***(Candida albicans),*** la souche fongique se révèle avoir un potentiel de résistance élevé contre l'activité antifongique des extraits aériens et racinaires.

Le mode d'action des extraits dépend du type de microorganismes, du type d'extrait et de sa concentration. En général, les bactéries Gram(-) sont plus résistantes que les bactéries Gram(+). Ce constat peut être dû à l'action de certains composés d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrante d'autre part. L'activité des principes actifs et des extraits végétaux peut dépendre de leur composition Chimique. Elle peut être liée à la polarité des substances bioactives, aux conditions de Séchage, de broyage de la plante et dépend également de plusieurs facteurs dont le mode D'extraction et la concentration en principes actifs .Par conséquent, il est suggéré que les Extraits phénoliques soient utilisés comme source potentielle d'agents antimicrobiens naturels contre les souches multi-résistantes **(Fatteh.A., 2019).**

Conclusion

Conclusion

Notre étude a révélé que la région étudiée est riche en ressources naturelles, notamment en plantes aromatiques et médicinales. Ces ressources jouent un rôle crucial non seulement pour la biodiversité locale mais aussi pour l'économie régionale.

La diversité des plantes aromatiques et médicinales identifiées au cours de cette recherche témoigne de l'énorme potentiel de cette région. Ces plantes possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques, ce qui en fait des sujets d'étude particulièrement intéressants pour diverses applications.

Ce travail, réalisé au laboratoire de la faculté des sciences au niveau de l'université de Médéa, au bloc de microbiologie de l'unité SAIDAL de Médéa, s'inscrit dans le cadre d'évaluer la concentration en composés phénoliques de quatre extraits de la plante *(Asparagus officinalis)* dans la région de Médéa, d'analyser leur activité antioxydante et d'examiner leur potentiel antimicrobien. Nous avons cherché à mettre en évidence les plantes les plus prometteuses pour une utilisation future dans divers secteurs industriels.

Aussi intéressé à l'étude phytochimique ; des composés phénoliques a montré des concentrations variées parmi les parties utilisées de la plantes étudiée (Turions et Racines). Ces composés, reconnus pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé, ont été quantifiés et leur présence confirme le potentiel médicinal de la plante, Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux et flavonoïdes dans mon substrat végétal en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode d'AlCl3 révèlent leurs présences en quantités modérées les résultat montre que la quantité de polyphénols dans l'extrait d'acétate d'éthyle de ASP (0.457mg EAG/g extrait) de la partie aérienne est la plus élevée et pour la teneur en flavonoïde les résultat de plus élevée sont des partie arienne (0,4694 mg EQ/g d'extrait).

Les tests d'activité antioxydante ont démontré que plusieurs plantes possèdent des capacités antioxydantes significatives. Certaines ont même montré des niveaux d'activité antioxydante supérieurs à ceux des antioxydants de référence couramment utilisés, ce qui souligne leur potentiel en tant que sources naturelles d'antioxydants, dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité des extraits éthanoliques et butanoliques turion ,(EBT) (IC50=9.43 mg/ml) et ethanolique EET IC50 c'est 15.05 mg/ml).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a révélé que la plante *(Asparagus officinalis)* étudiée possède des propriétés antimicrobiennes notables contre divers pathogènes. Ces résultats sont particulièrement prometteurs pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens naturels. D'après nos résultats, les extraits de l'*Asparagus officinalis* **(turions)**, ont montré une activité inhibitrice uniquement sur la croissance d'une seule souche fongique (*Aspergillus brasiliensis*), avec des diamètres de 16,2 mm pour l'extrait d'acétate dans la dilution 3 (D3), 12 mm **(EE) (D2 et D3)**, 17mm **(EM)(D1)** et 13 mm **(EB)(D1)**.

Les résultats de cette étude ouvrent de nombreuses perspectives pour la recherche et l'exploitation des plantes aromatiques et médicinales de la région. Il est recommandé de poursuivre les recherches pour isoler et identifier les composés actifs spécifiques, et d'explorer leurs applications potentielles dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire.

En conclusion, cette étude a mis en lumière l'énorme potentiel des plantes aromatiques et médicinales locales, non seulement en termes de recherche scientifique mais aussi pour des applications industrielles pratiques. Nous espérons que ces résultats encourageront de nouvelles recherches et initiatives visant à valoriser et à protéger ces précieuses ressources naturelles. La poursuite de ces travaux pourrait contribuer de manière significative au développement durable et à l'innovation dans divers secteurs.

Horizons de recherche :

- Potentiel Thérapeutique et Applications Industrielles des Plantes Aromatiques et Médicinales de la wilaya de Médéa.
- Exploration des Ressources Naturelles : Richesse en Composés Phénoliques et Activités Biologiques des Plantes de de la wilaya de Médéa
- Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales : Composés Phénoliques et Activités Biologiques"
- Biodiversité et Potentiel Médicinal des Plantes Aromatiques de de la wilaya de Médéa : Évaluation des Composés Phénoliques et Activités Biologiques"
- Ressources Naturelles de la wilaya de Médéa : Étude des Plantes Aromatiques et Médicinales et Leurs Propriétés Biologiques"
- Richesse Phytothérapeutique de de la wilaya de Médéa : Analyse des Plantes Aromatiques et Médicinales et Leurs Applications Potentielles

Références

1. **Abu-Rabia, A., 2005.** Urinary diseases and ethnobotany among pastoral nomads in the Middle East. J. Ethnobiol. Ethnomedicine.
2. **Ali-Delille, L., 2013.** Les plantes médicinales d'Algérie. Berti éditions.
3. **Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah, S., 2018a.** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L. Bull. Société R. Sci. Liège.
4. **Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah, S., 2018b.** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L. Bull. Société R. Sci. Liège.
5. **Al-Snafi, A.E., 2015.** Journal of Pharmaceutical Biology.
6. **Bahorun, T. (1997)** Substances naturelles actives La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Recherche alimentaire et agricole.
7. **BARBARIE, D., 2006.** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier. Leban. Sci. J.
8. **Benages, S., 1990.** El espárrago.
9. **Benhouhou, S., 2015.** A brief overview on the historical use of medicinal plants in Algeria. Consulté: 15mai2015.
10. **Benslimane, A., Bouzidi, S., Methia, M., 2018.** Displacements and stresses in pressurized thick-walled FGM cylinders: Exact and numerical solutions. Int. J. Press. Vessels Pip.
11. **Boubetra, K., Amirouche, N., Amirouche, R., 2017.** Le genre Asparagus L. en Algérie: Systématique, chorologie et importance en écologie forestière. Biocénose 8.
12. **Brahmi, N., Madani, K., Chibane, M., Mekhoukhe, A., 2016.** Etude de l'activité antioxydante des composes phénoliques extraits de quelques plantes médicinales de la région de Bejaia. Rev. Subst. Nat. Innov. Thérapeutique 2.
13. **Cherif, H. s, Chaouia, C., Hamaidi, M. s, Rouibi, A., Boukhatem, M. n, Benouaklil, F., Chabane, D., Feknous, S., Boulaghmen, F., Miliani, A., Saidi, F., 2015.** LES SITES SECRETEURS DE QUELQUES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES D'ALGERIE. AGROBIOLOGIA 5.

14. **Dif, M.M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., Bouterfas, K., 2015.** Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes. Phytothérapie 13.

15. **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C., 2008.** Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. C. R. Biol. 331..

16. **Feknous, I., Saada, D.A., Boulahlib, C.Y., Alessandroni, L., Souidi, S.W., Chabane, O.A., Gagaoua, M., 2023.** Poultry meat quality preservation by plant extracts: an overview. Sci. J. Meat Technol. 64.

17. **Franck, E.E., Atakpama, W., Tchacondo, T., Batawila, K., Akpagana, K., 2020.** Importance du temps en médecine traditionnelle : cas de l'usage de trois plantes de la pharmacopée togolaise. Nutr. Santé 9.

18. **Gadikou, K.J., Atakpama, W., Egbelou, H., Kombate, B., Batawila, K., Akpagana, K., 2022.** VALEUR D'IMPORTANCE D'USAGE DES PLANTES MÉDICINALES VULNÉRABLES DE LA RÉGION MARITIME DU TOGO. AGROBIOLOGIA 12.

19. **Gourinat, A.-C., O'Connor, O., Calvez, E., Goarant, C., Dupont-Rouzeyrol, M., 2015.** Detection of Zika virus in urine. Emerg. Infect. Dis. 21.

20. **Guo, Q., Wang, N., Liu, H., Li, Z., Lu, L., Wang, C., 2020a.** The bioactive compounds and biological functions of *Asparagus officinalis* L.–A review. J. Funct. Foods 65.

21. **Hambaba, L., Boudjellal, K., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C., Boudiaf, K., 2012.** Étude in vitro des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits du fruit d'*Elaeagnus angustifolia L.* Phytothérapie 10.

22. **Hammiche, V., Gheyouche, R., 1988.** PLANTES MEDICINALES ET THERAPEUTIQUES. 1 ERE PARTIE: LES Plantes MEDICINALES DANS LA VIE MODERNE ET LEUR SITUATION EN ALGERIE. Algerian Ann. Agron. 12.

23. **Harb, R.K., El-Kobisy, O.S., Desoukey, S.F., 2015.** BOTANICAL INVESTIGATIONS ON Asparagus officinalis L. plant (ASPARAGACEAE). Egypt. J. Agric. Sci. 66.

24. **Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J. Nutr. Biochem. 13.

25. **Iqbal, M., Bibi, Y., Raja, N.I., Ejaz, M., Hussain, M., Yasmeen, F., Saira, H., Imran, M., 2017.** Review on therapeutic and pharmaceutically important medicinal plant Asparagus officinalis L. J Plant Biochem Physiol 5.

26. **Lahsissene, H., Kahouadji, A., Hseini, S., 2009.** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). Lejeunia Rev. Bot.

27. **Liao, J., Xia, P., 2024.** Continuous cropping obstacles of medicinal plants: Focus on the plant-soil-microbe interaction system in the rhizosphere. Sci. Hortic. 328.

28. **Linnaeus, C., 1797.** Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitas ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. Impensis GC Nauk.

29. **Missaoui, M., D'Antuono, I., D'Imperio, M., Linsalata, V., Boukhchina, S., Logrieco, A.F., Cardinali, A., 2020.** Characterization of micronutrients, bioaccessibility and antioxidant activity of prickly pear cladodes as functional ingredient. Molecules 25.

30. **Mousavizadeh, S.J., Hassandokht, M.R., Kashi, A., 2015.** Multivariate analysis of edible Asparagus species in Iran by morphological characters. Euphytica 206.

31. **Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., Ignacimuthu, S., 2006.** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. J. Ethnobiol. Ethnomedicine 2, 43 https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-43

32. naturelle, M. national d'Histoire, n.d. *Asparagus officinalis L.*, 1753 - Asperge officinale, Asperge, Asparagus [WWW Document]. Inventaire Natl. Patrim. Nat. URL

33. **Ngene, J.-P., Ngoule, C.C., Kidik, C.-M.P., Ottou, P.M., Dibong, S.D., Mpondo, E.M., 2015.** Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). J. Appl. Biosci. 88.

34. **Palfi, M., Jurković, Z., Ćosić, J., Tomić-Obrdalj, H., Jurković, V., Knežević, N., Vrandečić, K., 2017.** Total polyphenol content and antioxidant activity of wild and cultivated asparagus in Croatia. Poljoprivreda 23.

35. **Perbal, G., Rivière, S., 1976.** Relation entre réaction géotropique et évolution du statenchyme dans la racine d'Asperge. Physiol. Plant. 38, 39–47.

36. **Quy Diem Do Quy Diem Do, A. E. Angkawijaya, Phuong Lan Tran Nguyen Phuong Lan Tran Nguyen.**, 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica 25.

37. **Samarth, R.M., Panwar, M., Kumar, Manish, Soni, A., Kumar, Madhu, Kumar, A., 2008.** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. Food Chem. 106.

38. **Shafodino, F.S., Lusilao, J.M., Mwapagha, L.M., 2024.** Preparation of medicinally active extracts and phytochemical characterisation of phytoconstituents from medicinal plants. Nat. Prod. Res.

39. **Sheng-Ji, P., 2001.** Ethnobotanical approaches of traditional medicine studies: some experiences from Asia. Pharm. Biol. 39 Suppl 1.

40. **Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M., 2009.** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules 14.

41. **Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L., 2004.** Antioxidants and Prevention of Chronic Disease. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 44.

42. **Yu, J., Zheng, Y., Song, C., Chen, S., 2023.** New insights into the roles of fungi and bacteria in the development of medicinal plant. J. Adv. Res.

Annex

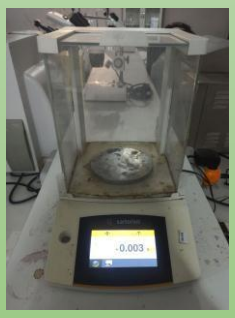
Annex I :

Tableau 01 : Le matériel de laboratoire

Verreries et matériel en plastique	Solvants
- Pipettes - Micro pipette (1000 µl, 200 µl) - Tubes à essai - Flacons (250 ml) - Erlenmeyer - Béchers - Spatule - Para film - Tube en plastiques citratés - Eprouvette graduées - Papier filtre (0.45µm). - Burette graduée - Cuve en verre - Tubes à essais - Embouts - Fioles - Tubes secs à bouchons - Flacons en verre ambré - Papier film - Porte tube à essai - Papier d'aluminium - Entonnoir en verre - Compte-gouttes - Écoviont -boite de pétri	- Ethanol -Méthanol -Ethyle acétate -butanol - L'eau distillée - Hydroxyde de sodium (NaOH) - Folin-Ciocalteu - Acide gallique -Aide ascorbique - Carbonate de sodium (Na2CO3) - Réactif de FCR (Folin- Ciocalteau) - Carbonate de Sodium - Le chlorure d'aluminium -DPPH

Annexe Ⅱ : Appareillages de laboratoire

Balance



Agitateur



Rotavapor



Bec benzène



Vortex



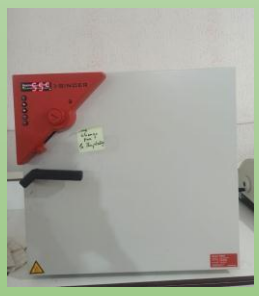
Moulin à herbes



Densitomètre



Etuve



Spectrophotomètre

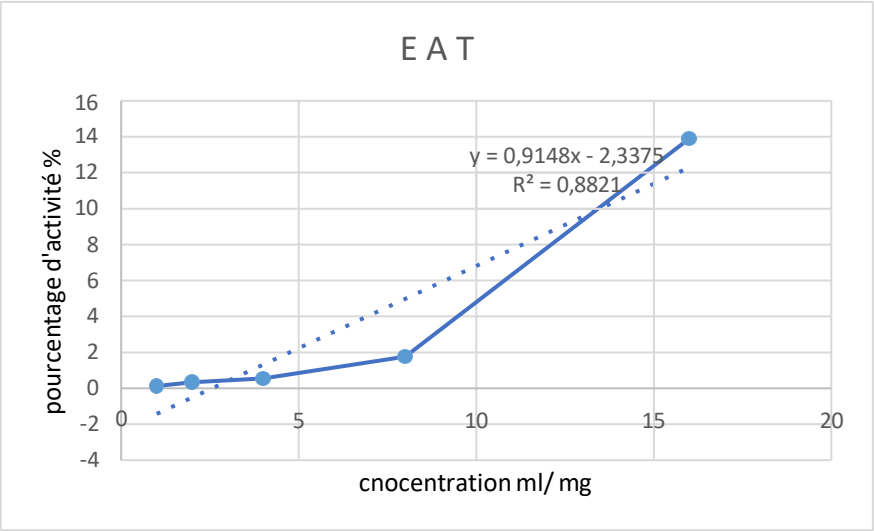


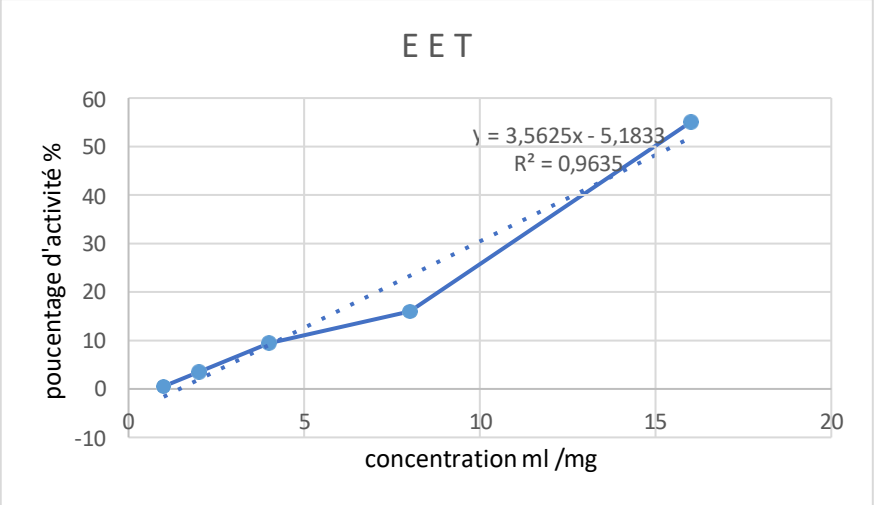
Figure a : appareillage de laboratoire

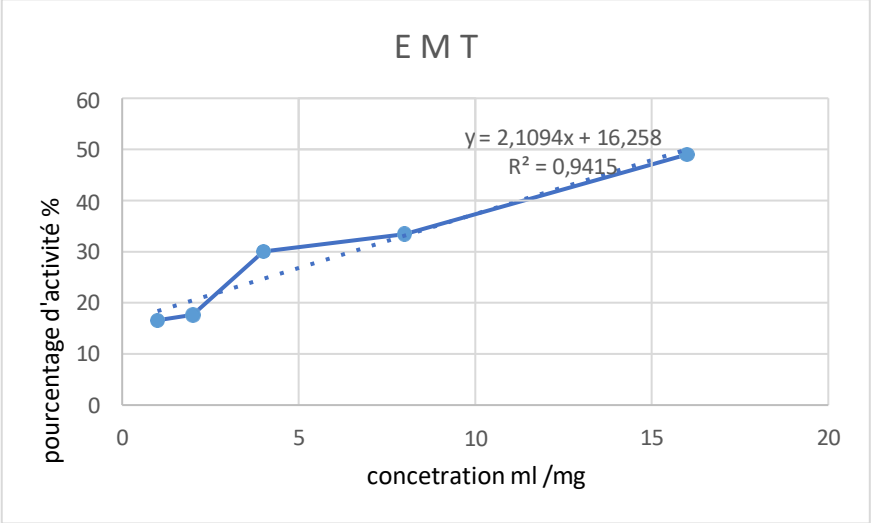
Résultat et discussion

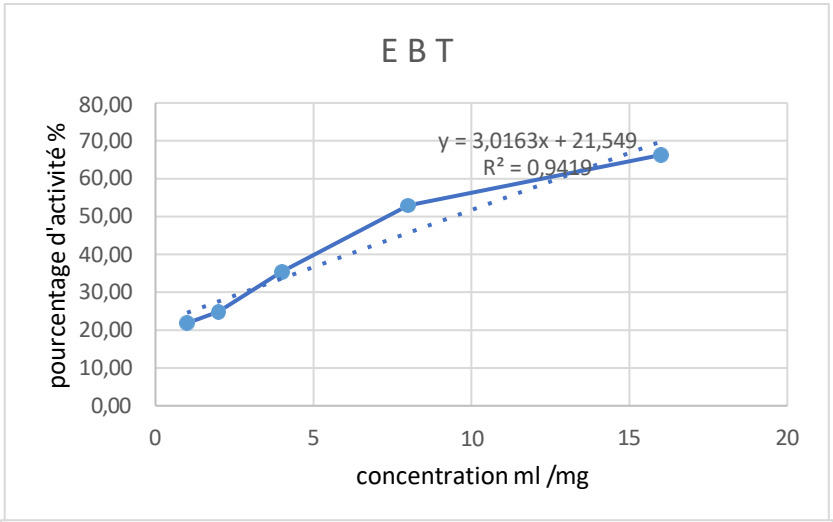
Annex III :

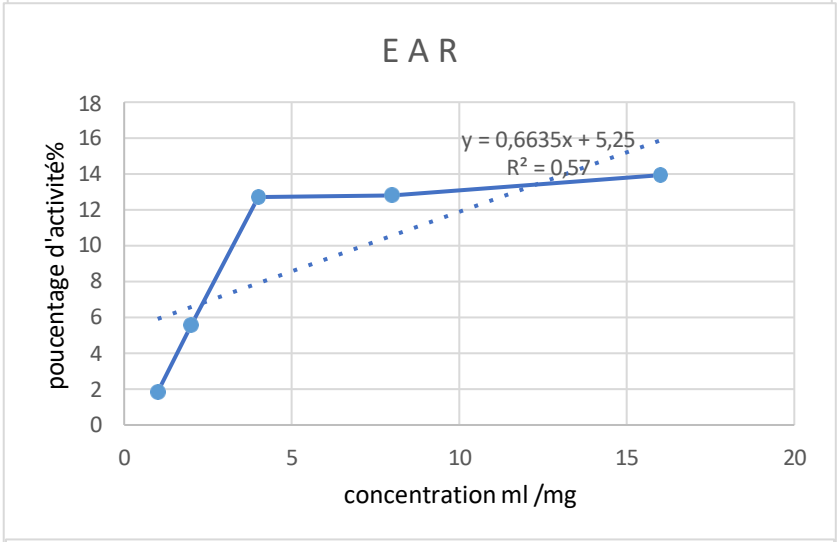
I - Activités antioxydant

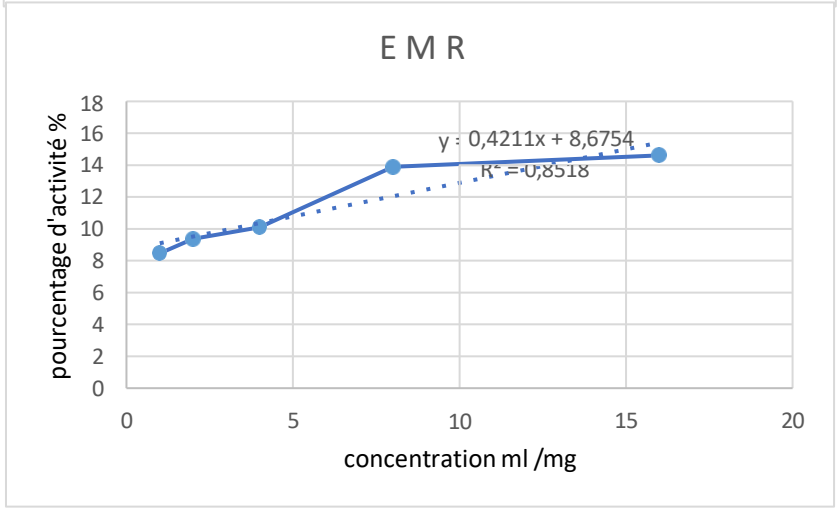


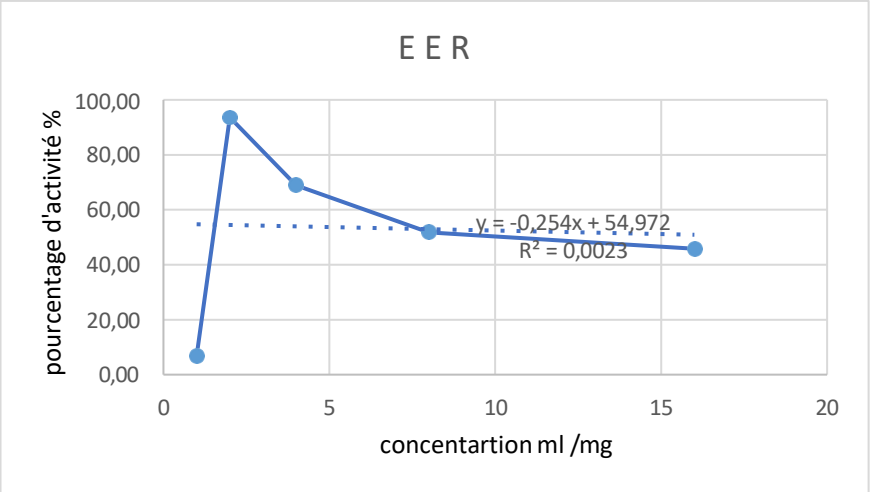





E B T
pourcentage d'activité %
80,00
70,00
60,00
50,00
40,00
30,00
20,00
10,00
0,00
0
5
10
15
20
concentration ml /mg
y = 3,0163x + 21,549
R² = 0,9419


E A R
poucentage d'activité%
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
0
5
10
15
20
concentration ml /mg
y = 0,6635x + 5,25
R² = 0,57


E M R
pourcentage d'activité %
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
0
5
10
15
20
concentration ml /mg
y = 0,4211x + 8,6754
R² = 0,8518



II- Effet antimicrobienne

Tableau 01 : diamètre de *Asparagus officinalis*

	Zone d'inhibition (mm)						
Extraits Souches		Turion			Racine		
	SOLVANT	P	D2	D3	P	D1	D2
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	ETH	0	0	0	0	0	0
	MeOH	0	0	0	0	0	0
	BUT	0	0	0	0	0	0
	ACETAT	0	0	0	0	0	0
Escherichia coli ATCC 8739	ETH	0	0	0	0	0	0
	MeOH	0	0	0	0	0	0
	BUT	0	0	0	0	0	0
	ACETAT	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus epidermidus ATCC 12228	ETH	0	0	0	0	1	0
	MeOH	0	2	0	0	2	0
	BUT	0	1	1	0	1	0
	ACETAT	0	1	0	0	1	0
	ETH	0	0	0	0	0	0

Bacillus sibtilis ATCC 6631	MeOH	0	0	0	0	0	0
	BUT	3	0	0	0	0	0
	ACETAT	0	0	0	3	3	3
Salmonella typhimirium ATCC14028	ETH	0	0	0	0	0	0
	MeOH	0	0	0	0	0	0
	BUT	0	0	0	0	0	0
	ACETAT	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus aureus ATCC 6538	ETH	0	0	0	0	0	0
	MeOH	0	0	0	0	2	1
	BUT	0	0	1	1	1	0
	ACETAT	0	0	0	0	0	0
Candida albican ATCC10231	ETH	0	0	0	0	0	0
	MeOH	0	0	0	0	0	0
	BUT	0	0	0	0	0	0
	ACETAT	0	0	0	0	0	0
Aspergillus brasiliensis ATCC16404	ETH	0	3	3	0	0	0
	MeOH	8	4	2	0	0	4
	BUT	4	0	0	0	0	4
	ACETAT	2	0	7	5	0	5

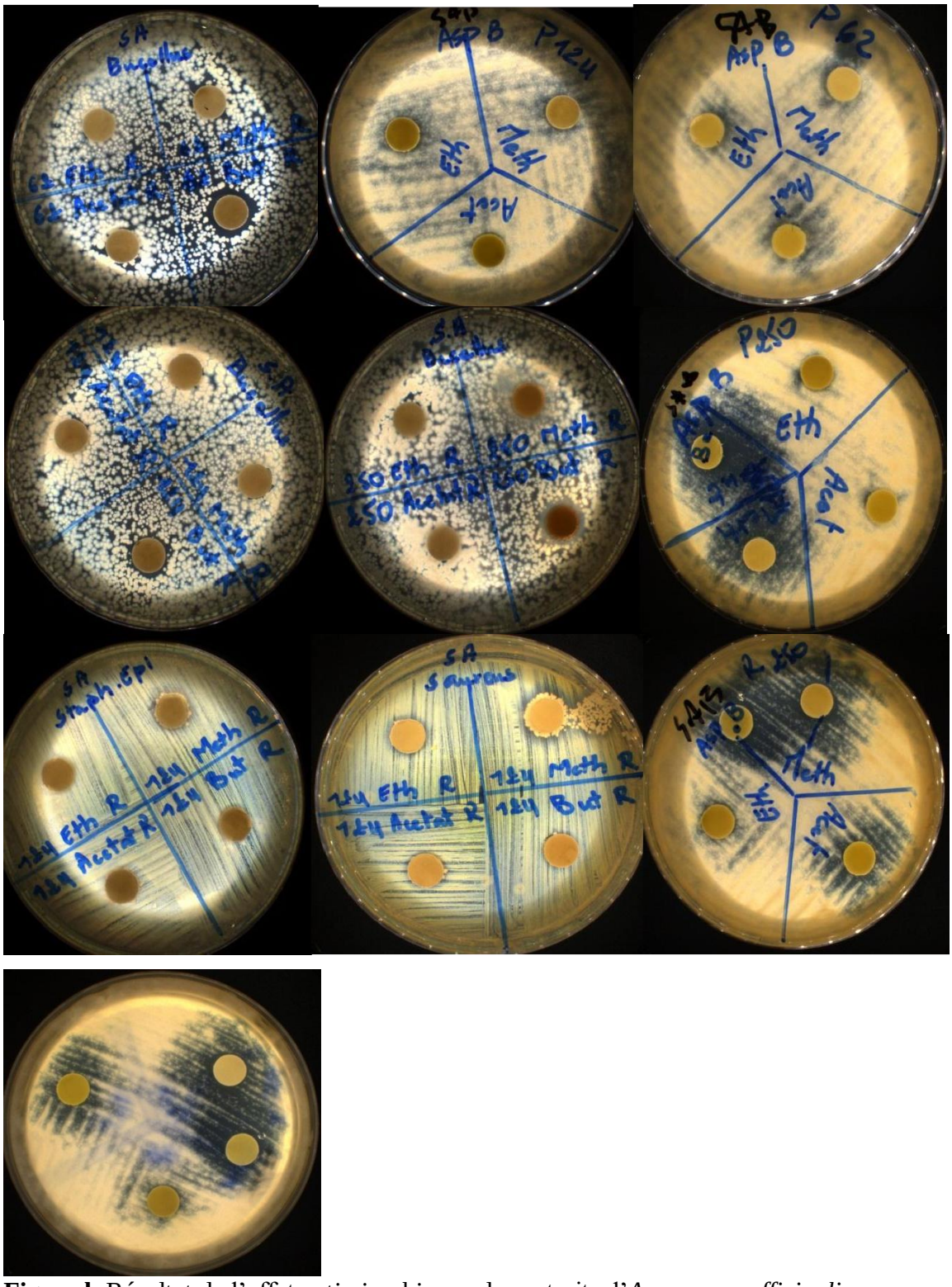


Figure b Résultat de l'effet antimicrobienne des extraits d'*Asparagus officinalis*