



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

.Université Ibn Khaldoun –Tiaret–

Faculté Sciences de la Nature et de la Vie

Département Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

*Thème*

Contribution à l'étude des activités biologiques des extraits de la plante *Chamaerops humilis* en zones semi-arides

Soutenu publiquement le 06 Juillet 2023

Présenté par :

Melle **TAHER Hanane**

Melle **CHAOUAK Chaima**

Melle **HEMAM Fatima**

Membres du jury :

Grade

université

Président: **BENAHMED M.**

MCA

Université Ibn Khaldoun

Examinatrice : **OMAR Y.**

MCA

Université Ibn Khaldoun

Encadrant: **ARABI Zohra**

MCA

Université Ibn Khaldoun

Encadrant: **ARABI Rania**

Doctorante

Université Ibn Khaldoun

Année universitaire : 2022/2023

# **Remerciements**

## REMERCIEMENTS

Avant toute chose nous remercions **Allah** tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail

Tout d'abord, nous tenons à remercier du fond du cœur, notre promotrice madame **ARABJ Zohra**, professeur à l'université IBN-Khaldoun, Tiaret, pour la totale confiance qu'elle nous a accordée, son soutien, ses précieux conseils, ses encouragements et sa disponibilité dans le travail ont permis le bon déroulement de ce mémoire

J'adresse également mes grands remerciements et ma gratitude au **Dr Laâhdar** pour son aide et son soutien dans toutes les périodes difficiles que nous avons traversées lors de la préparation du mémorandum.

Nous remercions également tous les ingénieurs de laboratoire, **Ben Halima, Hawari, Al- Bashir et Leela**, pour leur aide et leurs conseils au laboratoire. Merci pour les précieuses informations que nous avons apprises avec vous.

Nos gratitude vont également à Monsieur **BENHAMED. M** qui a avec beaucoup d'amabilité accepté de présider le jury. Nous lui exprimons nos profondes reconnaissances et nos sincères remerciements

Que Madame **OMAR.y.** soit chaleureusement remerciée d'avoir voulu examiner de près notre travail, qu'il trouve ici l'expression de nos profonds respects

Enfin, nous saisons l'occasion pour exprimer nos gratitude et nos remerciements envers : Tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour leur soutien et leur formation.

Nos remerciements vont également à tous les étudiants de toute la promotion de 2021 de science alimentaire et contrôle de qualité

## **Dédicace**

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience.

Et maintenant je dédie ce modeste travail à :

ma mère « **aicha** »

À la femme qui est fière de moi, qui dieu la bénisse, pour ses encouragements, sa patience, son sacrifice, et pour son soutien Moral à mon égard, ma chère maman que dieu te protège.

A mon père « **mhamed** »

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller Toujours de l'avant, bien qu'il ne soit pas présent aujourd'hui, mais il est toujours présent dans mon cœur, que dieu ait pitié de lui.

A ma tante « **ida** » et mon oncle « **ben chokra** », merci pour votre soutien

Offert enfin ce qui je suis.

A mes chers frères

**mohamed** et **tayeb**

Mes adorables sœurs

**asmaa** et **salsabil**

Pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse

A toute la famille **chaouak** et **omran**

A mes chers trinômes

**fatima** et **hanan**

A mes fidèles amies

**tahani ; zinab ; houda ; hanza ; nada**

**Chaouak chaima**

## **Dédicace**

Je dédie ce modest travel à:

Ma mère **<dhbiya>** mon exemple éternel, qui a veillé sur moi depuis toujours, qui m'a fait confiance, et qui accepte mes choix sans pour autant toujours forcément les comprendre.

Mon père **<ALLJ>**

Mes belles-sœurs Rahma, hajer,

Mes chers frères mohamed, abdelbasst a mes trinômes chaima, hanan a ma chère encadrante  
madame **ARABJ ZOHRA**

A mes amis chaima, **zineb, Hoda, thani, kanza**

Encore un grand merci à tous m'avoir conduit à ce jour mémorable.

**Hemem fatima**

## ***Dédicace***

je m'incline devant dieu tout puissant qui m'a ouvert la porte du savoir et m'a aidé la franchir. A l'occasion de cette journée mémorable qui clôtur le cycle de mes études je dédie ce modeste mémoire qui est l'accomplissement de longues années d'études, en signe de reconnaissance, de respect et de gratitude: A mes très chers parents **MOHAMMED** et **KHAYRA** . Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. et la famille **SAHRAOUI** que dieu leurs procure bonne et longue vie . A me sœur : NORA. A me frère **RABEH** . A mes chères cousines : **ZAHRA WAFAA SOUAD FATJHA JIHAM RADOUANE .A** tous mes enseignants de l'école primaire jusqu'à l'université . A mes chères amies : **FATJMA ; CHAJMA** . tous mes collègues et mes amis . A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de se travail.

***Taher hanan***

## Liste des abréviations

ABS	Absorbance
B	Bacillus
CH.H	chamaerops humilis
CH <sub>2</sub> O	formaldéhyde
DMSO	Diméthylsulfoxyde
E	Escherichia coli
DPPH	2,2-diphényl picrylhydrazyl
F	feuille
m	masse de l'extrait
M	masse de la poudre
Mg EAG/ml d'extrait	mg équivalent en acide gallique par millilitre d'extrait
Mg QE /ml	mg équivalent en quercitrine par millilitre d'extrait
P	Pseudomonas aeruginosa
R	racine
R	Rendement
S	Staphylococcus aureus
S	stipe
UV	Ultraviolet
UV/Vis	ultraviolet-visible

# *Table des matières*

*Remerciements*

*Dédicaces*

*Table des matières*

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

*Liste des abréviations*

<b>Introduction</b>	1
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique sur le Palmier nain</b>	
1.1. Définitions.....	3
1.2. Répartition et localisation.....	3
1.3. Description botanique du palmier nain.....	4
1.3.1. Stipe.....	5
1.3.2. Inflorescences et fleurs.....	5
1.3.3. Fruits.....	6
1.4. Classification.....	6
1.5. Activité biologique.....	6
1.6. Utilisation médicinale de <i>Chamaerops humilis</i> .....	6
1.7. Données phytochimiques de la plante	7
<b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>	
2.1. Matériel Expérimental.....	8
2.1.1. Matériel biologique.....	8
2.1.1.1. Matériel végétal.....	8
2.2. Préparation des extraits.....	8
2.2.1. Séchage de la plante.....	8
2.2.2. Broyage de la plante.....	9
2.2.3. Préparation des extraits par macération .....	9

2.2.4. Séchage des extraits.....	10
2.2.6. Mode opératoire de l'extraction.....	12
2.1.1.2. Matériel microbiologique.....	13
2.1.1.2.1. Souches bactériennes.....	13
2.1.1.2.1.1. Matériel de laboratoire.....	13
2.1.1.2.2. Souches fongiques.....	14
2.1.1.2.2.1. Milieu de culture d'antibactérien et antifongique.....	15
2.1.1.2.2.2. Produits.....	15
2.1.1.2.2.3. Mode opératoire de l'analyse photochimique screening.....	16
2.2. Dosages.....	17
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	17
2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	17
2.2.3. Dosage des tanins condensés.....	18
2.3. Activité antioxydant DPPH.....	18
2.3.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire par piégeage du radical libre (2,2- Diphényl-1-picrylhydrazyl : DPPH) .....	18
2.3.2. Analyses statistiques.....	20
2.4. Activité antibactérienne.....	20
2.4.1. Préparation du frottis.....	20
2.4.2. Test de conformation.....	21
2.4.2.1. Test de catalase.....	21
2.4.2.2. Test d'oxydase.....	21
2.4.2.3. Test d'ONPG.....	21
2.4.3. Préparation de l'extrait testé : méthode de disque.....	22
2.4.3.1. Préparation du milieu de culture.....	22
2.4.3.2. Préparation de l'inoculum.....	22
2.4.3.3. Réalisation de l'ensemencement.....	23
2.4.3.4. Imprégnation des disques.....	23

2.4.3.5. Application des disques.....	23
2.4.3.6. Incubation.....	23
2.4.3.7. Dépôt des disques.....	23
2.4.4. Préparation de l'extrait testé selon la méthode de puits	23
2.4.4.1. Préparation du milieu de culture.....	24
2.4.4.2. Préparation de l'inoculum.....	24
2.4.4.3. Réalisation de l'ensemencement.....	24
2.4.4.4. Préparation de puits.....	24
2.4.4.5. Dépôt des disques.....	25
2.4.4.6. Lecture.....	25
2.5. Activité antifongique.....	25
2.5.1. Préparation du frottis en milieu stérile.....	25
2.5.2. Coloration de gram simple.....	25
2.5.3. Préparation de l'extrait testé par la méthode de puits	26
2.5.4. Préparation du milieu de culture.....	26
2.5.5. Préparation de l'inoculum.....	26
2.5.6. Réalisation de l'ensemencement.....	27
2.5.7. Préparation de puits.....	27
2.5.8. Lecture.....	27

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

3.1. Rendements en extrait bruts.....	29
3.2. Analyses phytochimiques.....	29
3.2.1. Dosage des composés phénoliques.....	30
3.2.2. Dosage de flavonoïde.....	31
3.2.3. Dosage tanins condensés.....	31
3.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	32
3.3.1. Détermination de l'IC50.....	32
3.4. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	34

Résultat du test de conformation .....	34
Résultat du test de catalase .....	34
Résultat du test de oxydase .....	34
Résultat du test d'ONPG .....	35
3.4.1. Résultats du test antibactérien.....	35
3.5. Evaluation de l'activité antifongique.....	38
<b>Conclusion</b> .....	40
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé (français, anglais , arabe)</b>	

## *Liste des figures*

Figure.1. Distribution des espèces actuelles de Palmiers.....	4
Figure.2. Morphologies des feuilles.....	5
Figure.3. Utilisation de <i>Chamaerops humilis</i> dans le traitement traditionnel.....	7
Figure.4. (a) Séchage et (b) broyage de la plante .....	9
Figure.5. Extraits méthanoliques des différentes parties de la plante .....	10
Figure.6. Extrait méthanolique obtenu à partir des feuilles .....	11
Figure.7. Dispositif utilisé pour hydrodistillation simple .....	12
Figure.8. Organigramme montrant les étapes du phytochimique screening .....	16
Figure.9. Tubes à essai des différentes préparations du phytochimique screening .....	17
Figure.10. Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) .....	19
Figure.11. Courbe d'inhibition .....	32
Figure.12. Courbe CI50 des différents extraits (feuilles, tiges avec gaines) .....	33
Figure .13. résultat du test de catalase.....	34
Figure .14. résultat du test de oxydase.....	34
Figure .15. résultat du test d'ONPG.....	35
Figure.16. Résultats du test antibactérien sur les quatre souches bactériennes par deux méthodes .....	36
Figure.17. Résultats du test antibactérien sur les quatre souches bactériennes par deux méthodes .....	37
Figure.18. Résultats du test antibactérien sur les quatre souches bactériennes par deux méthodes .....	
Figure. 19 . Courbe d'étalonnage des acides phénoliques.....	
Figure.20. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.....	
Figure.21. Courbe d'étalonnage des tanins condensés.....	
Figure.22. Courbe d'inhibition	

## *Liste des tableaux*

Tableau.1. classification du palmier doum.....	6
Tableau.2. Matériels de laboratoire utilisés pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.	14
Tableau.3. Produits utilisés pour l'évaluation des activités biologiques.....	15
Tableau.4. Rendement en extrait de C.H et Rendement en hydrodistillation selon plusieurs auteurs .....	29
Tableau.5. Résultats des analyses phytochimiques screening.....	30
Tableau.6. Résultats du dosage des polyphénols.....	30
Tableau.7. Résultats du dosage des Flavonoids totaux.....	31
Tableau.8. Résultats du dosage des tanins condensés.....	31
Tableau.9. CI50 des différents extraits (feuilles, tiges avec gaines).....	33
Tableau.10. Spectre d'inhibition des feuilles par deux méthodes.....	35
Tableau.11. Spectre d'inhibition des stipepar deux méthodes.....	36
Tableau.12. Spectre d'inhibition des racine par deux méthodes.....	37
Tableau.13. Le résultat de l'effet antimicrobienne de l'extrait selon plusieurs auteurs.....	38
Tableau.14. Les résultats de l'activité antifongique des extraits.....	38

# **Introduction**

### Introduction

La couverture végétale constitue une des composantes principales des écosystèmes naturels. La végétation joue un rôle essentiel dans la structure et le fonctionnement de l'écosystème dont elle constitue une expression du potentiel biologique (Azzaoui et *al.*, 2017)

L'Algérie avec son climat varié et généralement très ensoleillé, possède un patrimoine naturel exceptionnel caractérisé par une flore considérable avec plus de 3000 espèces végétales recensées dont 250 endémiques (Hanifi, 1991 ; Khadraoui et *al.*, 2015).

Le palmier nain de son nom scientifique *Chamaerops humilis* L. est une monocotylédone appartenant à la famille des Arecaceae. Sur le plan phytogéographique c'est une espèce Ouest-méditerranéenne (Quézel et Santa, 1962)

En Algérie ce taxon est largement répandu dans la partie occidentale Algérienne Hasnaoui (2008). Plusieurs auteurs se sont penchés sur le rôle socio-économique, ethno-pharmaceutique et ethnobotanique de cette plante, nous citons les travaux de Bellakhdar et *al.*, 1991 ; Hasnaoui et *al.*, 2013).

De nombreuses recherches scientifiques ont été effectuées sur le rôle déterminant du palmier nain en médecine traditionnelle. Les feuilles et les fruits ont des vertus médicinales (hypoglycémiant, anti-inflammatoire, anabolisant, antiseptique, antilithique, et diurétique (Bellakhdar et *al.*, 1991; Beghalia, et *al.*, 2008; Hasnaoui, et *al.*, 2011; Benmehdi et *al.*, 2012; Hasnaoui et *al.*, 2013. Cette plante est aussi utilisée pour le traitement de nombreuses maladies principalement celles qui touchent le tube digestif (Gaamoussi et *al.*, 2010 ; Hasnaoui, et *al.*, 2011 ; Bnouham et *al.*, 2002).

Actuellement, les études des huiles essentielles et extraits de *Chamaerops humilis* L et leurs effets antibactériens, antifongiques et antioxydants sont devenues des sujets importants et d'actualité qui montrent les propriétés inhibitrices de cette plante et l'intérêt de son utilisation comme alternative en médecine traditionnelle. Les travaux réalisés par Hasnaoui et *al.* en 2013 montrent l'effet antibactérien des H.E du *CHAMEROPS HUMILIS* sur certaines souches bactériennes. Quant à l'activité anti-oxydante reste inconnue et non étudiée car très peu d'études ont été faites pour caractériser cette activité.

### Objectif

Cette plante est très utilisée par la population dans le traitement traditionnel de plusieurs maladies. Cependant, elle n'a pas fait l'objet des recherches scientifiques dans les régions arides et semi-arides. Cette étude est alors réalisée dans cette optique pour mettre en valeur les propriétés biologiques de *Chamaerops humilis*, à savoir ses propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes.

Ce mémoire est divisé en trois chapitres

Le premier est consacré à l'étude bibliographique de la famille des palmiers et de l'espèce *Chamaerops humilis*. Il est constitué d'une description botanique de la plante et d'une présentation des diverses molécules qu'elle contient, ensuite nous rappellerons quelques généralités sur les radicaux libres et les activités antibactériennes. Enfin, nous nous intéresserons aux systèmes naturels de défense contre le l'activité antibactérienne

Le deuxième est consacré à la partie matériel est méthodes, il s'intéresse d'une part à l'extraction et aux dosages des différents composés présents au niveau de plante *Chamaerops humilis* ainsi qu'à l'identification et la quantification de ces composés, et d'autre part à la valorisation des activités biologiques l'extrait méthanolique de la plante.

Le troisième englobe tous les résultats trouvés dans le cadre de cette étude ainsi qu'une discussion détaillée sur les points focaux.

# **Chapitre 1 : Synthèse bibliographique sur le Palmier nain**

### 1.1. Définition

Le *Chamaerops* est un mot grec composé Chamai : nain, rhops : buisson (Hasnaoui et *al.*, 2001), il pousse à l'état spontané et croit à l'état sauvage dans de nombreux pays du circum méditerranéen (Algérie, Maroc, Grèce...). Il est caractéristique des zones chaudes et tempérées du globe. En Algérie cette espèce occupe de nombreux écosystèmes (Deysson, 1979).

Les travaux de Quezel et Santa en 1963, mettent l'accent sur la spontanéité de ce taxon en Afrique du Nord en général et particulièrement en Algérie. Cette espèce était utilisée à des fins économiques. Ecologiquement, elle a tendance à occuper certaines altitudes correspondant à des étages de végétations et des étages bioclimatiques de tout le pourtour méditerranéen (Hasnaoui, 2008.).

### 1.2. Répartition et localisation

Le *Chamaerops humilis* appartient à la famille des *Palmaceae*. Il se localise sur des fourrés secs et des pentes sableuses du bassin méditerranéen, endémique des régions Ouest du Bassin Méditerranéen (Negre, 1951). Selon le Maire (1952), il s'agit des espèces indigènes en Europe et en Afrique du Nord (figure.1), où ils sont principalement originaires des régions tropicales et subtropicales (Couvreur et *al.*, 2011). Il est répandu dans la région méditerranéenne occidentale (Maire r 1957).



Figure.1. Distribution des espèces actuelles de Palmiers (Belhaoues, 2018)

### 1.3. Description botanique du palmier nain

Le *Chamaerops humilis* est une espèce généralement dioïque (fleurs mâles et fleurs femelles sur des plantes différentes). C'est un palmier nain, presque acaule à l'état sauvage, ne dépassant pas deux mètres, qui peut cependant atteindre six à huit mètres de haut en culture. Il se caractérise notamment par son stipe drageonnant. Sa croissance lente favorise l'apparition de nombreux rejets à sa base à l'origine de son apparence en touffe (Tela Botanica, 2012)

Selon Alapetite (2013) : « L'appareil végétatif de la majorité des palmiers présente une architecture caractéristique et aisément reconnaissable. Il se constitue d'un tronc, appelé stipe pouvant être de grande taille et portant des feuilles palmées ou pennées ». elle ajoutait : « Les palmiers appartiennent au groupe des monocotylédones dont les membres se caractérisent par l'absence de cambium, tissu indifférencié assurant la production des organes nouveaux. Par conséquent, il n'y a ni accroissement des palmiers en épaisseur, ni augmentation du diamètre du tronc ».

### 1.3.1. Stipe

Le stipe ne présentant jamais de ramifications, et de diamètre constant de la base au sommet (Hasnaoui, 1998), Souvent multiple, court, penché, recouvert par les bases très fibreuses des anciennes feuilles. De nombreux rejets apparaissent à la base (Olivier Albano, 2004,2005 ). Il peut s'allonger et atteindre plusieurs mètres dans les zones protégées , jusqu'à 9 m de hauteur et 15 cm de diamètre du stipe ( Maire, 1957 ) .

### 1.3.2. Inflorescences et fleurs

Celles-ci sont le plus souvent ramifiées et produisent de très nombreuses petites fleurs.



**Figure.2. Morphologies des feuilles ((photographies**

**Palmweb In Belhaoues, 2018)**

### 1.3.3. Fruits

Les fruits se divisent en trois parties distinctes : l'épicarpe, le mésocarpe, et l'endocarpe ; ce dernier englobe la graine qui renferme à son tour l'albumen (Rezaire, 2012 *In* Belhaoues, 2018).

### 1.4. Classification

**Tableau.1. classification du palmier doum (Maire ,1957 ;Hasnaoui ,2008).**

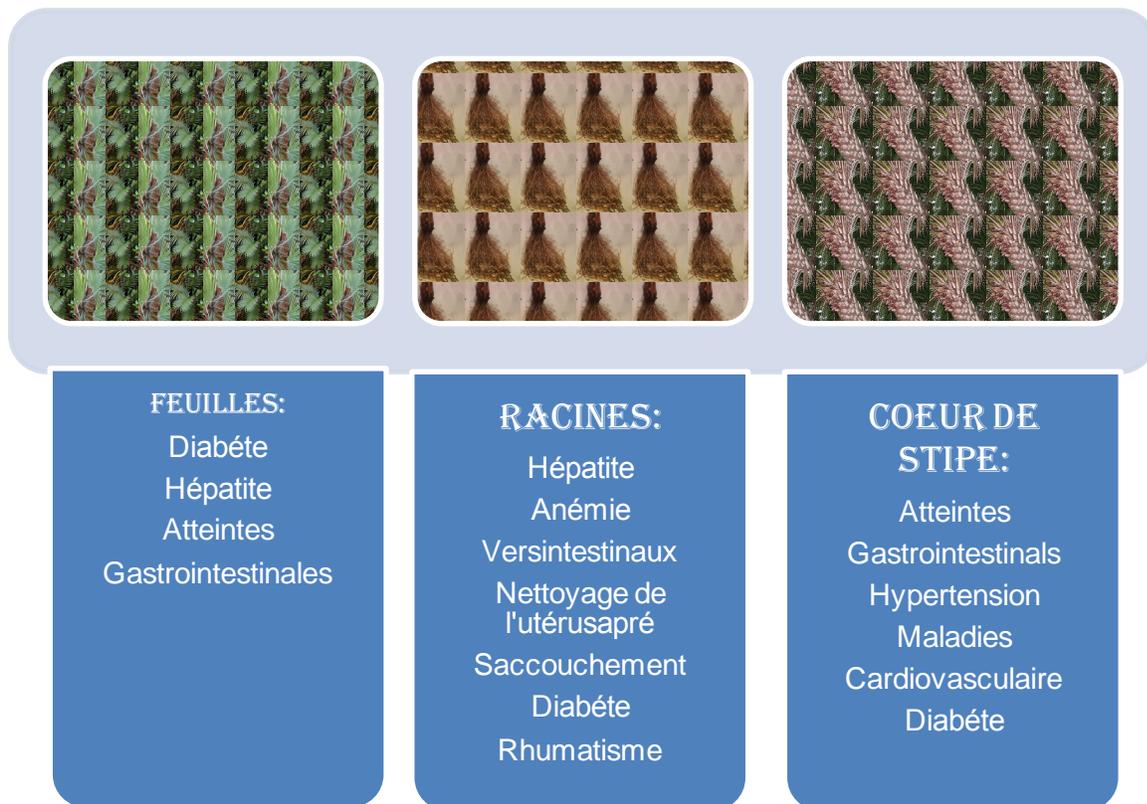
Règne	PLANTE
Sous-règne	Spermaphyte
Division	Angiosperme
Classe	Monocotylédones
Ordre	Arécales
Famille	Arécacées
Sous-famille	Coryphoideae
Genre	Chamaerops
Espèce	<i>Chamaerops humilis L.</i>

### 1.5. Activité biologique

Le *Chamaerops humilis* renferme un grand nombre de métabolites secondaires responsables des activités biologiques attribuées aux extraits de plantes médicinales. En effet, plusieurs travaux scientifiques ont démontré que les extraits de cette plante présente des activités antioxydantes et antibactériennes. Nous citons les travaux de Belhaoues (2018), El Aarage (2022).

### 1.6. Utilisation médicinale de *Chamaerops humilis*

Plusieurs recherches ont montré et confirmé l'intérêt de cette espèce dans le domaine de la phytothérapie. Elle est utilisée pour le traitement des maladies digestives. La gaine des feuilles est utilisée contre les maux d'estomac (Hasnaoui, et *al.*, 2008).



**Figure.3. Utilisation de *Chamaerops humilis* dans le traitement traditionnel**

### 1.7. Données phytochimiques de la plante

Les extraits des feuilles et des fruits de cette plante contiennent plusieurs composés chimiques, notamment, tannins galliques, dérivées alcaloïdiques, flavonoïques, composés réducteurs, saponines, stéroïdes et terpénoïdes (Benhamadi, 2012 et coelho, 2017 *In* Belhaoues, 2017)

# **Chapitre II : Matériel et méthodes**

Nous avons mené une étude analytique, réalisée au sein de deux laboratoires (biochimie et microbiologie) de la Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université d'Ibn Khaldoun-Tiaret ; pour vérifier la disponibilité des moyens matériels nécessaires pour la réalisation de la partie expérimentale du travail.

Nous nous sommes fixés pour objectif de démontrer les activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques des extraits de la plante *Chamaerops humilis*.

Pour ce faire, nous nous sommes basés sur :

- Des travaux antérieurs anciens et récents issus de recherches déjà faites sur l'espèce choisie, nous citons les travaux de Belhaoues (2017) ; El Aarage (2022) ; Nouara (2014) et Hasnaoui (2013).
- Des protocoles expérimentaux décrivant toutes les techniques utilisées pour extraire et évaluer les activités biologiques de l'extrait de *Chamaerops humilis*.

## **2.1. Matériel Expérimental**

### **2.1.1. Matériel biologique**

#### **2.1.1.1. Matériel végétal**

La plante *chamaerops humilis* a été récoltée de la région entreprise régionale du génie rural sersou ZAAROURA à la wilaya de Tiaret le 28 /12 /2022.

La plante a été arrachée à la hache, cette technique permet d'obtenir la plante entière

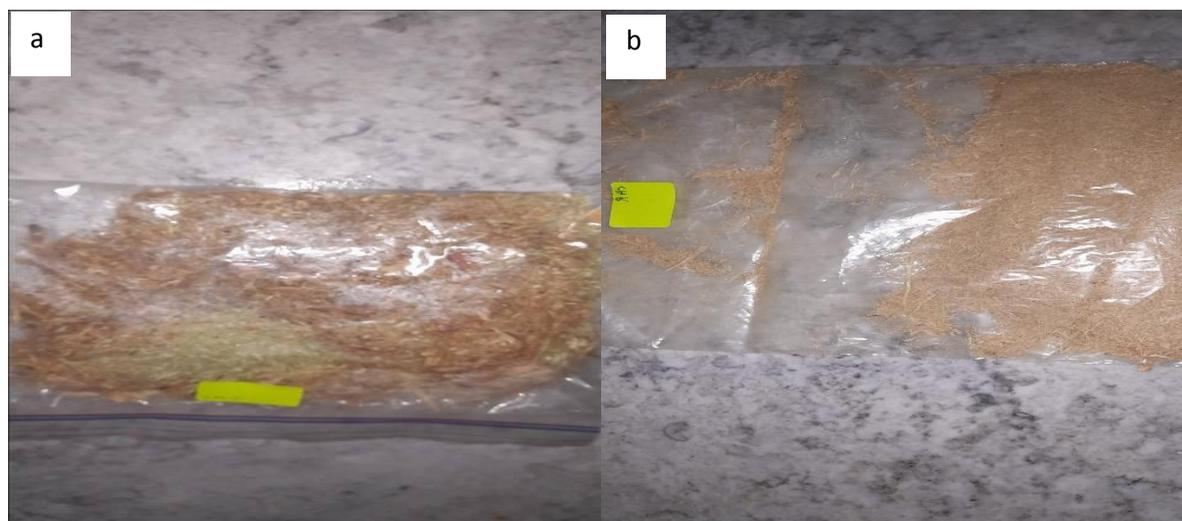
## **2.2. Préparation des extraits**

### **2.2.1. Séchage de la plante**

Les plantes ont été séchées pendant deux mois à l'abri de la lumière et dans un endroit bien aéré afin de réduire la teneur en eau et de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes comme le confirmait El Aarage (2022)

### 2.2.2. Broyage de la plante

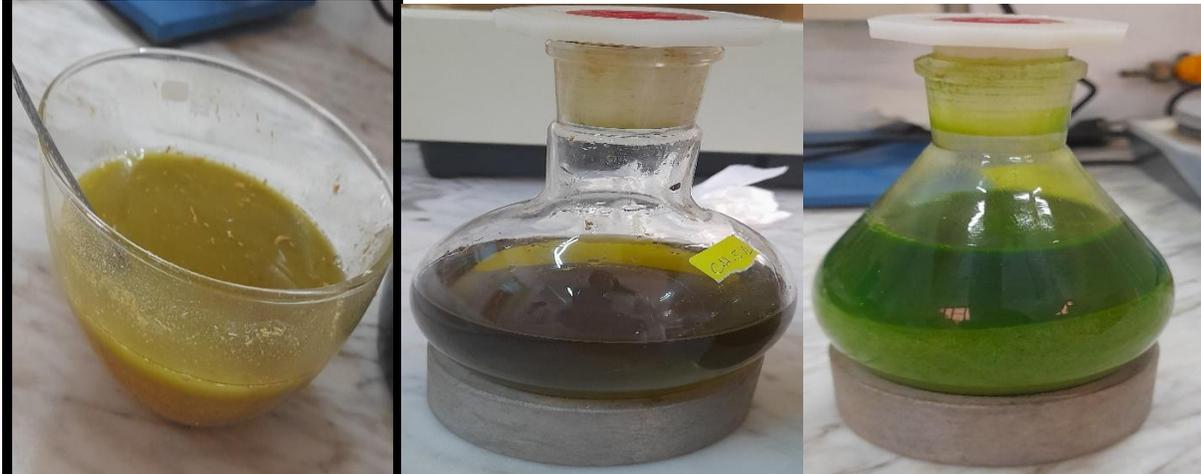
La plante a été broyée avec un broyeur électrique pour augmenter la surface spécifique et par conséquent l'augmentation de sa réactivité comme le confirmait El Aarage (2022)



**Figure.4. (a) Séchage et (b) broyage de la plante (Photos originale 2023)**

### 2.2.3. Préparation des extraits par macération

La quantité de poudre dans laquelle le solvant a été sonique jusqu'à ce qu'il soit complètement recouvert de solvant ; nous avons utilisé méthanol pour chaque extrait Les extraits sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre afin de séparer correctement la phase liquide du solide (El Aarage, 2022)



**Figure.5. Extraits méthanoliques des différentes parties de la plante** (Photos originale 2023)

#### 2.2.4. Séchage des extraits

Les extraits méthanoliques ont été séchés au Rotavapeur pour éliminer le solvant car le méthanol ne se solidifie pas.

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir de la poudre végétale. Il est exprimé en pourcentage ou sans unité. En pratique, on fait le rapport de la masse de l'extrait sur la masse de la poudre végétale qui a servi pour l'extraction qu'on multiplie par 100, ceci se traduit par la formule suivante (El Aarage, 2022)

$$R \% = (m / M) * 100$$

R : rendement de l'extraction

m : masse de l'extrait

M : masse de la poudre



**Figure.6. Extrait méthanolique obtenu à partir des feuilles** (Photos originale 2023)

### 2.2.5. Evaporation rotative

L'évaporation rotative utilise une technique rapide et efficace de séparation, c'est un appareil basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement, appelé souvent 'rotavapor' (Rezzab et Kirat, 2017). L'évaporateur rotatif utilisé lors de l'expérimentation est de type Buchi R-210.

#### 2.2.5.1. Principe de l'évaporateur rotatif

*« Le mélange de solvant et de soluté est placé dans le ballon droit, celui-ci est plongé dans un bain-marie. Il est incliné et animé d'un mouvement de rotation de manière à créer un film de liquide et ainsi accroître la surface d'évaporation du solvant. La pression à l'intérieur du montage est abaissée au moyen d'une trompe à eau ce qui augmente la vitesse d'évaporation. Après condensation dans le réfrigérant, le solvant est récupéré dans le ballon de gauche » (Ould Amar, 2013).*

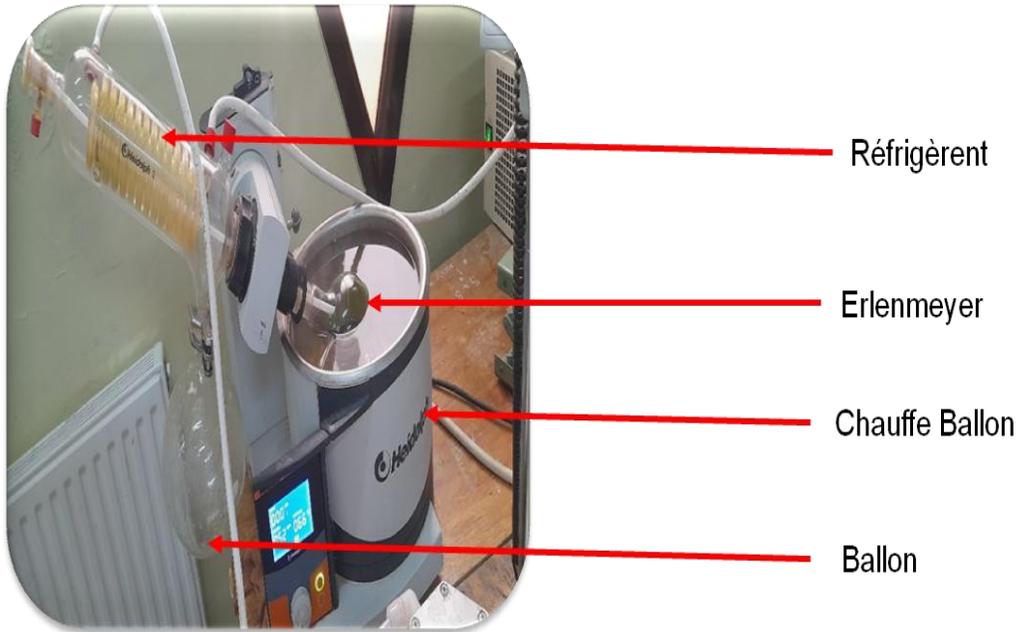


Figure.7. Dispositif utilisé pour hydrodistillation simple. (Photo originale2023)

### 2.2.6. Mode opératoire de l'extraction

- Nous avons mis une quantité de la matière végétale (stipe =130g, Racine =40g et feuille =104g) dans un ballon d'un volume de 2 L et nous avons ajouté ( stipe =610ml ; Racine= 300ml ; feuille=395ml ) de méthanol jusqu'à couverture de toute la matière végétale, ceci pour le premier jour, nous avons répété les mêmes étapes pour le deuxième et le troisième jours tout en changeant le volume de méthanol.
- Pour le deuxième jour (stipe= 320ml ; Racine=110ml ; feuille=200ml) volume de méthanol
- Pour le troisième jour (stipe= 300ml ; Racine=110ml ; feuille=171ml) volume de méthanol
- Puis, le béccher a été couvert avec du papier d'aluminium
- Laisser reposer une nuit.
- Nous filtrons le mélange à l'aide de papier filtre dans un ballon

- Après filtration, le filtrat obtenu est concentré sous pression réduite à 50 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif et résidus sec (extrait brut)
- Séchage de L'extrait brut dans un incubateur à température 37 °C pendant 24 H.

### **2.1.1.2. Matériel microbiologique**

#### **2.1.1.2.1. Souches bactériennes**

L'évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait *chamaerops humilis* a été faite sur quatre souches bactériennes sensibles, à savoir :

- *Escherichia coli*.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Bacillus cereus*
- *Pseudomonas aeruginosa*

#### **2.1.1.2.1.1. Matériel de laboratoire**

La réalisation de ce travail a nécessité l'utilisation du matériel cité dans le tableau ci-dessous :

**Tableau.2. Matériels de laboratoire utilisés pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.**

Matériel Méthode	Appareillage	Verrerie
Extraction de <i>Chamaerops humilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydro distillateur de type simple</li> <li>• Balance</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ballon</li> <li>• Bêchers</li> <li>• Eprouvette graduée</li> <li>• Fiole</li> <li>• Flacon et verre de montre</li> <li>• Entonnoir</li> </ul>
Activité antibactérienne et Antifongique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agitateur magnétique</li> <li>• Vortex</li> <li>• Autoclave</li> <li>• Spectrophotomètre</li> <li>• Incubateur</li> <li>• Bec bunsen</li> <li>• Microscope</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Boites de pétri</li> <li>• Tubes à essais</li> <li>• Bêchers</li> <li>• Pipette pasteur</li> <li>• Micropipette</li> <li>• Eppendorf</li> <li>• Filtre sureng</li> <li>• Papier disque</li> <li>• Spatule</li> <li>• Ecouvillon</li> <li>• Anse de platine</li> <li>• Papier absorbant</li> <li>• Pince</li> <li>• La lame</li> </ul>
Activité antioxydantes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balance</li> <li>• Agitateur magnétique</li> <li>• Vortex</li> <li>• Spectrophotomètre</li> <li>• bain de marie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tubes à essais</li> <li>• Bêchers</li> <li>• Pipette pasteur</li> <li>• Micropipette</li> <li>• Spatule</li> <li>• Flacon et verre de montre</li> <li>• Entonnoir</li> <li>• Cuvette plastic</li> </ul>

**2.1.1.2.2. Souches fongiques**

Le test antifongique a été effectué sur une souche fongique :

- *Candida albicans*

### 2.1.1.2.2.1. Milieu de culture d'antibactérien et antifongique

- Gélose nutritive : pour l'isolement des bactéries.
- Gélose Chapman : est un milieu sélectif des bactéries du genre *staphylococcus*.
- Gélose Hektoen : est un milieu sélectif pour l'isolement des bactéries bacilles Gram négatif.
- Gélose de Muller Hinton : est une gélose standardisée recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode d'antibio gramme.
- Gélose de sabourand : favorise la lecture de l'isolement des champignons et des moisissures et pour réaliser le test d'aromatogramme.

### 2.1.1.2.2.2. Produits

**Tableau.3. Produits utilisés pour l'évaluation des activités biologiques**

Produit antibactérienne et antifongique	Produit antioxydant
-Antibiotique Tetracycline	-Méthanol
-Antifongique Nystatine	-Réactif folin cicalteau
-Diméthylsulfoxyde (DMSO)	-Acide galilique
-Méthanol	-Copeaux de magnésium
-Eau distillé stérile	-Alcool isomylique
	-Fecl3
	-Hcl
	-H2so4
	-Vanilline
	-DPPH
	-Nahco 3
	-FORMALDEHYDE (CH2O)

2.1.1.2.2.3. Mode opératoire de l'analyse phytochimique screening

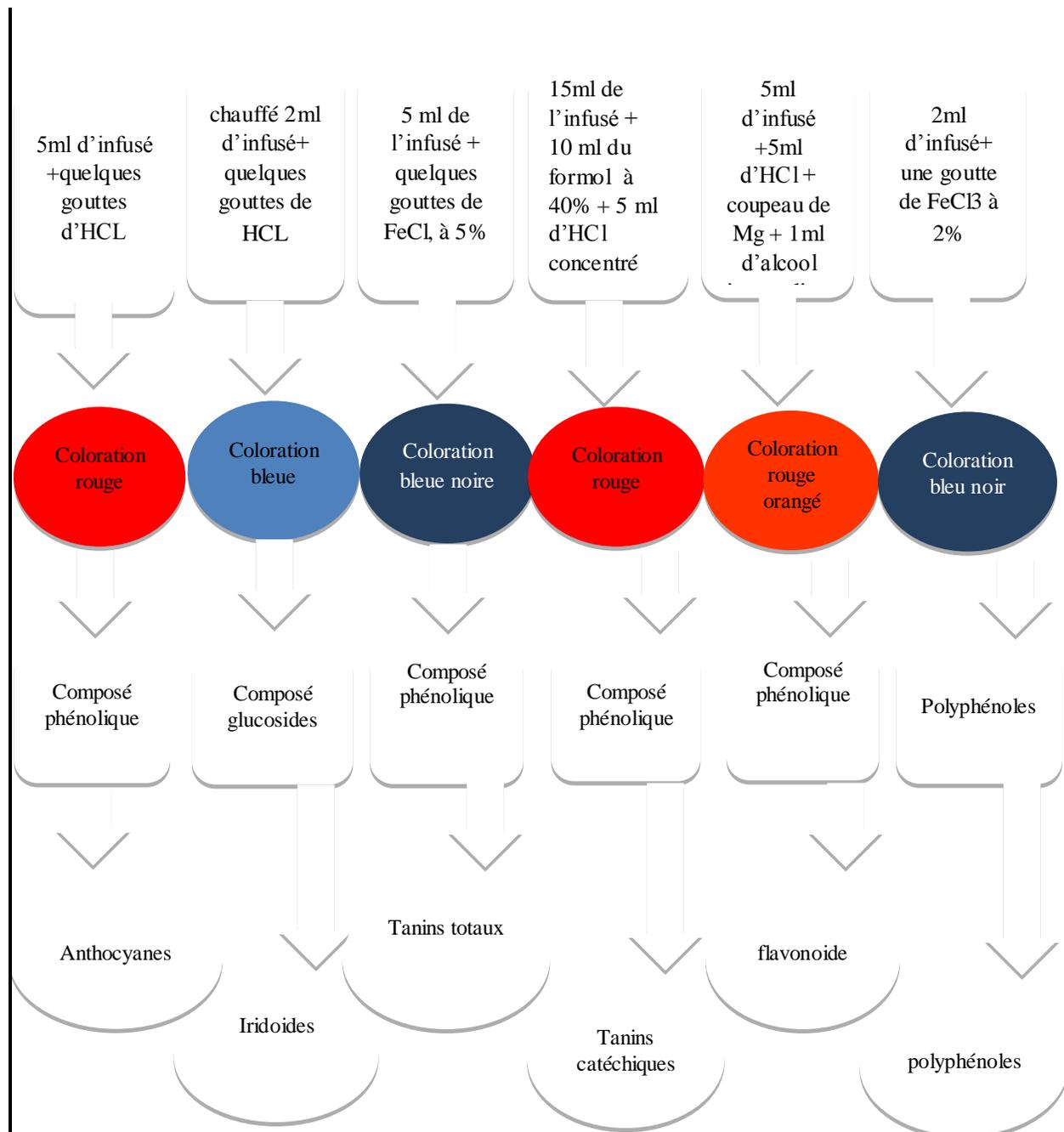


Figure.8. Organigramme montrant les étapes du phytochimique screening



**Figure.9. Tubes à essai des différentes préparations du phytochimique screening**

(Photos originale 2023)

## 2.2. Dosages

### 2.2.1. 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. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965) en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à essai, un volume de 200  $\mu$ l de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800  $\mu$ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 500 mg/l).

### 2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

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

Dans un tube à essai, 250  $\mu$ l d'extrait, ou d'étalon, ou de l'eau distillée pour le témoin, ont été ajoutés d' $\text{AlCl}_3$  à 10 % ont été additionnés, et à 75  $\mu$ l de NUTRITE DE SODIUM ( $\text{NaNO}_2$ ) à

5 %. Après 5 minutes, 150 µl chlorure d'aluminium le milieu est mélangé vigoureusement. Après 6 minutes, un volume de 500 µl de soude NaOH à 1 M a été ajouté au milieu. L'absorbance est lue immédiatement à 510 nm contre le témoin. Une solution méthanolique de quercétine a été préparée. Des solutions fille préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 0-100-200-300-400 et 500 mg/l, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

### 2.2.3. Dosage des tanins condensés

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TCs et la formation de complexes rouges [8, 9], cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline [10]. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985) [11]. Un volume de 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 3000 µl de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 1500 µl de l'acide chlorhydrique (HCl) concentré 37% a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm contre un blanc. Différentes concentrations comprises entre (0 et 500 mg/l) préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

### 2.3. Activité antioxydant DPPH

Ce test consiste en la réduction d'une solution alcoolique du radical 2,2-diphénylpicrylhydrazyl (DPPH●) en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire DPPH-H (Figure 27). En effet, la présence des radicaux DPPH● donne une coloration violette intense à la solution et qui absorbe fortement à 515 nm. Au cours de la réaction, la réduction des radicaux DPPH● par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution.

#### 2.3.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire par piégeage du radical libre (2,2- Diphényl-1-picrylhydrazyl : DPPH)

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Blois, 1958), une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de

méthanol. Dans des tubes en verre, on prépare une série de dilutions de l'extrait ainsi que celle du contrôle positif Acide ascorbique avec une concentration de la solution mère de (4 mg/10 ml) afin d'obtenir les concentrations suivantes (25 ; 50 ; 100 ; 200 ; 400 µg/ml). Après on introduit 1,950 µl de la solution DPPH.

Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. Concernant le contrôle négatif, il contient seulement la solution de DPPH et le méthanol avec un volume égal de 2,5 ml. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis.

L'activité antioxydante est estimée selon l'équation suivante :

$$(I \%) = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Où :

(I %) : pourcentage de l'activité antiradicalaire

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon

Abs Contrôle : absorbance du contrôle négatif

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures séparées.

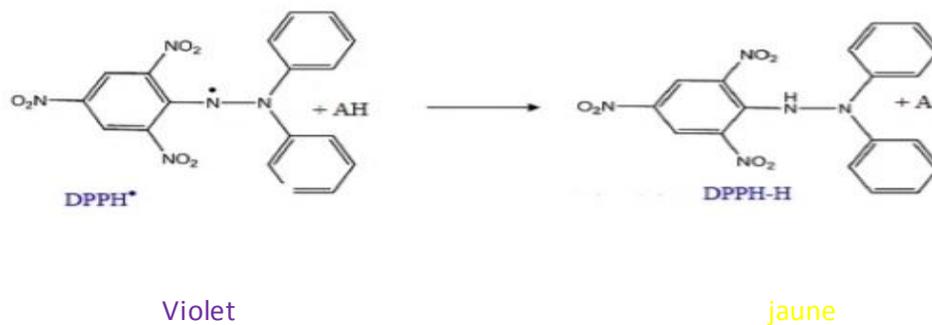


Figure.10. Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Ghnimi , 2015)

### 2.3.2. Analyses statistiques

Toutes les expériences ont été réalisées en triple et les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart-type en utilisant Microsoft Excel 2013.

## 2.4. Activité antibactérienne

### 2.4.1. Préparation du frottis

- Déposer une goutte d'eau distillé sur lame propre
- Etaler 1 ou 2 colonies sur la goutte
- Sécher le frottis
- Fixer le frottis
- Coloration de gram
- Couvrir le frottis avec le violet de gentiane laisser agir 1 min
- verser l'excès de violet
- couvrir avec le lugol ; laisser agir 30 s
- rincer le frottis avec l'alcool
- rincer avec l'eau distillée
- Couvrir le frottis avec la fuchsine 1 min
- rincer avec l'eau distillée
- La lame est ensuite rincée et séchée pour une analyse des résultats de procédure de coloration au microscope.

En raison de leur structure de paroi plus épaisse et de composition chimique particulière, les bactéries Gram + gardent la coloration violette. Les bactéries Gram -, avec une paroi plus fine et plus perméable à la décoloration, perdent la couleur violette. De manière à les visualiser, on recoloré avec de la fuschine (rose). Les bactéries Gram+ resteront violettes alors que les Gram- seront maintenant teintées en rose", note le Dr Boussem.

### **2.4.2. Test de conformation**

#### **2.4.2.1. Test de catalase**

- Déposer une goutte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur lame propre
- Etaler 1 colonie sur la goutte
- Si la formation des bulles (catalase +)
- Pas de formation des bulles (catalase -)

#### **2.4.2.2. Test d'oxydase**

- Déposer une goutte d'eau distillée sur lame propre
- Etaler 1 colonie sur la goutte
- Changement de colonie en violet (+)
- Pas Changement
- de colonie en violet (-)

#### **2.4.2.3. Test d'ONPG**

- Réaliser une suspension épaisse des bactéries testés en eau physiologie
- Ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG
- Incuber 24h à 37°C

- Lire les résultat :

la couleur jaune (ONPG+) :la bactérie possède la  $\beta$ -galactosidase

pas de couleur jaune (ONPG -) :la bactérie ne possède pas la B-galactosidase.

### 2.4.3. Préparation de l'extrait testé : méthode de disque

- Préparer une dilution de 50mg/ml de DMSO de l'extrait testé
- Agiter le mélange à l'aide d'un vortex pendant 5 minutes
- Filtrer la solution obtenue à l'aide de filtre seringue 0.45  $\mu$ m
- Conserver la solution à l'abri de la lumière à 4°C jusqu' utilisation

#### 2.4.3.1. Préparation du milieu de culture

- Faire fondre la gélose Mueller Hinton (MH) dans un bain marie
- Couler la gélose MH dans les boites de pétri sur une épaisseur de 4mm
- Laisser sécher avant l'emploi

#### 2.4.3.2. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques
- Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%
- Homogénéiser la suspension bactérienne ; son opacité doit être équivalent à 0.5Mc Ferland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625nm
- L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum

### 2.4.3.3. Réalisation de l'ensemencement

- Tromper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne
- L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi interne du tube ; afin de le décharger au maximum
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée ; sèche ; de haut en bas en stries serrées

### 2.4.3.4. Imprégnation des disques

- Imprégner les disques cellulose de 6mm de diamètre avec 25ul de la solution DMSO de l'extrait testé

### 2.4.3.5. Application des disques

- Déposer et presser les disques chargés par l'extrait à tester à l'aide d'une pince stérile sur la surface gélosée

### 2.4.3.6. Incubation

- Incuber les boites ensemencées pendant 24H à 37°C

### 2.4.3.7. Dépôt des disques

- Des disques d'antibiotiques de référence de tétracycline 30 ug / ml (contrôle +) et des disques imprégnés de DMSO (contrôle-) ont été testés afin de comparer leurs activités avec l'extrait testé

Toutes les étapes ont été effectuées dans des conditions stériles. Le test a été réalisé en quadruple

### 2.4.4. Préparation de l'extrait testé selon la méthode de puits

- Préparer une dilution de 50mg/ml de méthanol de l'extrait testé
- Agiter le mélange à l'aide d'un vortex pendant 5 minutes

- Filtrer la solution obtenue à l'aide de filtre seringue 0.45  $\mu$ m
- Conserver la solution à l'abri de la lumière à 4°C jusqu'à utilisation

#### 2.4.4.1. Préparation du milieu de culture

- Faire fondre la gélose Mueller Hinton (MH) dans un bain marie
- Couler la gélose MH dans les boîtes de pétri sur une épaisseur de 6mm
- Laisser sécher avant l'emploi

#### 2.4.4.2. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques
- Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%
- Homogénéiser la suspension bactérienne ; son opacité doit être équivalent à 0.5Mc farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625nm
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum

#### 2.4.4.3. Réalisation de l'ensemencement

- Tromper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne
- L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi interne du tube ; afin de le décharger au maximum
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée ; sèche ; de haut en bas en stries serrées

#### 2.4.4.4. Préparation de puits

- Faire un puits dans le milieu de culture à l'aide d'une pipette pasteur

- Déposer une goutte de gélose avec une micropipette dans le puit pour séparer la surface de boîte de pétri et l'extrait pour éviter passage de l'extrait sous le milieu de culture
- Remplir le puits avec 40ul d'extrait à l'aide d'une micropipette Incubation
- Incuber les boitesensemencées pendant 24H à 37°C

#### 2.4.4.5. Dépôt des disques

- Des disques d'antibiotiques de référence de tétracycline 30 ug / ml (contrôle +) et des disques imprégnés de l'eau distillé (contrôle-) ont été testés afin de comparer leurs activités avec l'extrait testé

Toutes les étapes ont été effectuées dans des conditions stériles. Le test a été réalisé en quadruple

#### 2.4.4.6. Lecture

La souche est considéré comme non sensible pour un diamètre inférieur à 8mm ; sensible entre 8et 14mm ; très sensible entre 15 et 19 mm et si le diamètre est supérieur à 20mm la souche est extrêmement sensible

### 2.5. Activité antifongique

#### 2.5.1. Préparation du frottis en milieu stérile

- Déposer une goutte l'eau distillé sur lame propre
- Etaler 1 ou 2 colonies sur la goutte
- Sécher le frottis
- Fixer le frottis Candida albicans

#### 2.5.2. Coloration de gram simple

- Couvrir le frottis avec le bleu de méthylène laisser agir 1 min
- verser l'excès de bleu méthylène

- rincer avec l'eau distillée
- La lame est ensuite rincée et séchée et fixer pour une analyse des résultats de procédure de coloration aux microbiologies

### **2.5.3. Préparation de l'extrait testé par la méthode de puits**

- Préparer une dilution de 50mg/ml de méthanol de l'extrait testé
- Agiter le mélange à l'aide d'un vortex pendant 5 minutes
- Filtrer la solution obtenue à l'aide de filtre seringue 0.45 um
- Conserver la solution à l'abri de la lumière à 4°C jusqu' utilisation

### **2.5.4. Préparation du milieu de culture**

- Faire fondre la gélose SABOURAUD dans un bain marie
- Couler la gélose SABOURAUD dans les boites de pétri sur une épaisseur de 6mm
- Laisser sécher avant l'emploi

### **2.5.5. Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques
- Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%
- Homogénéiser la suspension fongique ; son opacité doit être équivalent à 0.5Mc Ferland ou à une DO de 0.15 à 0.20 lue à 625nm
- L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum

### 2.5.6. Réalisation de l'ensemencement

- Tromper un écouvillon stérile dans la suspension fongique
- L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi interne du tube ; afin de le décharger au maximum
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée ; sèche ; de haut en bas en stries serrées

### 2.5.7. Préparation de puits

- Faire un puits dans le milieu de culture à l'aide d'une pipette pasteur
- Déposer une goutte de gélose avec une micropipette dans le puit pour séparer la surface de boîte de pétri et l'extrait pour éviter passage de l'extrait sous le milieu de culture
- Remplir le puits avec 40ul d'extrait à l'aide d'une micropipette Incubation :
- Incuber les boîtes ensemencées pendant 24H à 37°C Dépôt des disques
- Des disques d'antibiotiques de référence de NYSTATINE 30 ug / ml (contrôle +) et des disques imprégnés de l'eau distillé (contrôle-) ont été testés afin de comparer leurs activités avec l'extrait testé

Toutes les étapes ont été effectuées dans des conditions stériles.

### 2.5.8. Lecture

La souche est considéré comme non sensible pour un diamètre inférieur à 8mm ; sensible entre 8et 14mm ; très sensible entre 15 et 19 mm et si le diamètre est supérieur à 20mm la souche est extrêmement sensible.

# **Chapitre III : Résultats et discussion**

### 3.1. Rendements en extrait bruts

Les extractions de la partie aérienne (feuilles, racine ; stipe) de *Chamaerops Humilis*, récoltée en 28 Décembre 2022 dans la région de EPE ERGR SERSOU (wilaya de TIARET), sont réalisées par la technique d'hydrodistillation simple. Le rendement obtenu est de l'ordre de 0,02% par rapport à la masse de la matière sèche, jusqu'à ce que le solvant s'évapore. Nous avons calculé le rendement de l'extrait obtenu par hydrodistillation (tableau.4.).

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau.4 , puis ils sont comparés aux résultats issus des travaux antérieurs (tableau.5). les rendements obtenus de chaque partie de la plante sont respectivement : 2,09% pour les feuilles, 7,37% pour le stipe et de 6,78% pour les racines.

**Tableau.4. Rendement en extrait de C.H et Rendement en hydrodistillation selon plusieurs auteurs.**

Extrait	Rendement %
<i>Chamaerops Humilis</i>	5.27 %
El Aarage, 2022	12,74 %
El Aarag, 2022	13,85 %

### 3.2. Analyses phytochimiques

Les analyses phytochimiques qualitatives réalisées sur les extraits de la plante ont montré les résultats regroupés dans le tableau.6.

Les tests phytochimiques nous ont permis de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présents dans la plante, Les résultats obtenus ont révélé la présence des tanins totaux, des polyphénols dans tous les extraits bruts. Tandis que les tanins catéchiques et les iridiodes sont absents dans les trois extraits bruts. Nous avons constaté aussi que les racines et les stipes de la plante possèdent des anthocyanes et des flavonoïdes Tandis ces métabolites ne sont pas présentes dans l'extrait brut des feuilles.

**Tableau.5. Résultats des analyses phytochimiques screening**

EXTRAIT	FEUILLE	RACINE	STIPE
Anthocyanes	-	+	+
Iridoïdes	-	-	-
Tanins totaux	+	+	+
Tanins	-	-	-
flavonoïde	-	+	+
polyphénols	+	+	+

**3.2.1. Dosage des composés phénoliques**

Les analyses quantitatives des phénols totaux et flavonoïdes totaux, tanins condensés ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique et quercitine, catechine comme standard. Les valeurs obtenues sont exprimées en (mg EAG/g ES) ; ( mg EQ/g ES ) ; ( mg EC/g ES)

**Tableau.6. Résultats du dosage des polyphénols**

Extrait méthanolique	Quantité des polyphénols totaux (En mg EAG/g ES)	Équation de la courbe	R <sup>2</sup>
Feuille	168,026±1,58	Abs= 0,982x + 0,0016	0,9983
Racine	201,90± 11,30		
Stipe	200,716±47,53		

AG : acide gallique, EAG : équivalent d'acide gallique, ES : extrait sec

## 3.2.2. Tableau.7. Résultats du dosage de flavonoïde

Extrait méthanolique	Quantité de Flavonoïds Totaux (En mg EQ/g ES)	Équation de la courbe	R <sup>2</sup>
Feuille	3,622±1,70	Abs= 1,372x + 0,0068	0,9988
Racine	3,877±7,66		
Stipe	1,625±0,64		

Que : quercétine, EQ : équivalent de quercétine, ES : extrait sec

## 3.2.3. Tableau 8. Résultats du dosage des tanins condensés

Extrait méthanolique	Quantité des tanins condensés (En mg EC/g ES)	Équation de la courbe	R <sup>2</sup>
Feuille	6,47±0,52	Abs= 1,58x + 0,006	0,999
Racine	6,371±1,18		
Stipe	6,01±2,55		

Cat : catéchine, EC : équivalent de catéchine, ES : extrait sec

### 3.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Le radical DPPH est généralement l'un des composés les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• et comparés aux molécules de références (acide ascorbique).

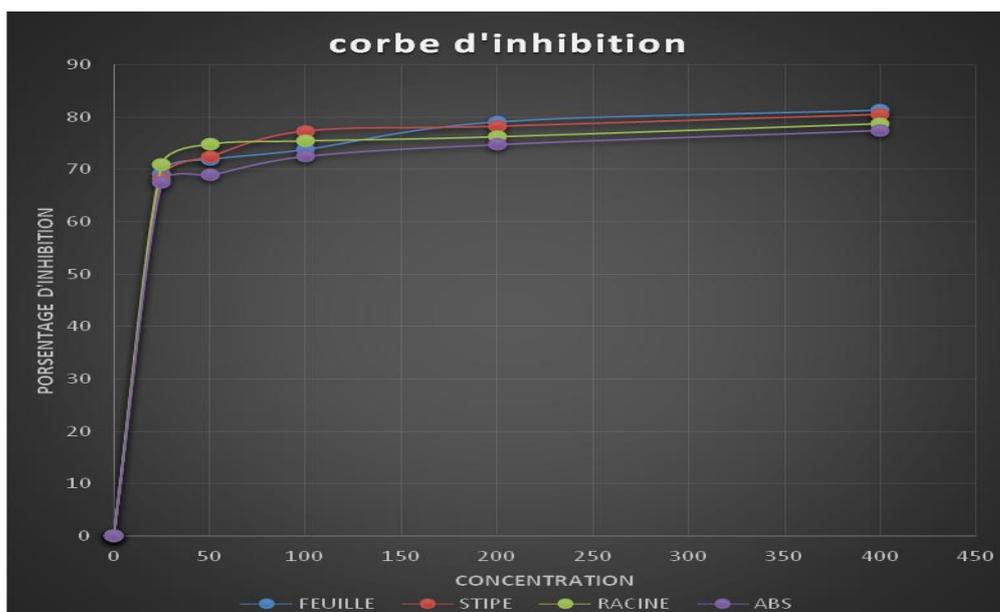


Figure.11. Courbe d'inhibition

La figure ci-dessus (figure.16) montre (les résultats de mesure des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des composés testés. Il ressort que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour les différents extraits de *Chamaerops humilis*. En outre on note que le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique est supérieur à celui des extraits de *Chamaerops humilis* pour toutes les concentrations (El Aarage, 2022)

#### 3.3.1. Détermination de l'IC50

L'IC50, paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH•, Plus la valeur de l'IC50 est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Tableau.9. CI50 des différents extraits (feuilles, tiges avec racine)

Produits	E. Racine	E. Feuille	E. Stipe	Acide Ascorbique
CI 50 (mg/ ml)	1.44	18.8	12.6	31.4

Les résultats obtenus montrent que les extraits du palmier nain (*Chamaerops humilis L.*) possèdent un grand potentiel antioxydant

Les résultats des IC50 présentés dans le tableau.10, montrent que l'acide ascorbique possède une activité anti-radicalaire inférieure à celle des extraits bruts de *Chamaerops humilis L.*, ce qui montre que les extraits du palmier nain possèdent un grand potentiel antioxydant.

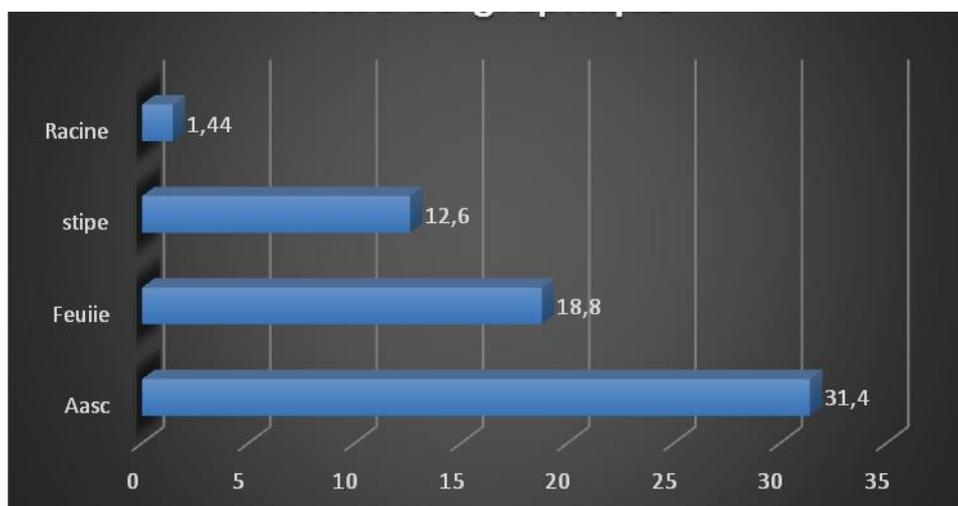


Figure.12. Courbe IC50 des différents extraits obtenus

## 1. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait C.H

### A. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de notre extrait de *Chamaerops Humilis* a été réalisée sur quatre bactéries par la méthode des aromatoigrammes en milieu gélosé. Notre objectif est de définir l'activité antibiotique de l'huile essentielle avec les bactéries, et la zone inhibition. Les résultats montrent qu'aucun spectre n'inhibe des souches testées par une maximale concentration de l'extrait.

#### Résultat du Test de conformation

#### Résultat du Test de catalase

Toutes les souches Positives (catalase+)



Figure. 13. Résultats du test de catalase (Photo originale, 2023)

#### Résultat du Test d'oxydase

Toutes les souches négatives (oxydase -)

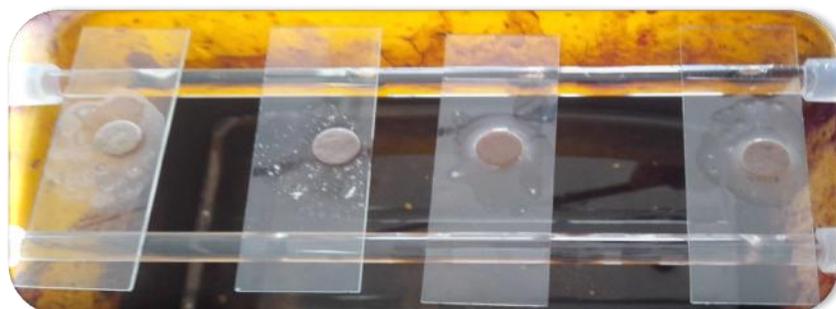
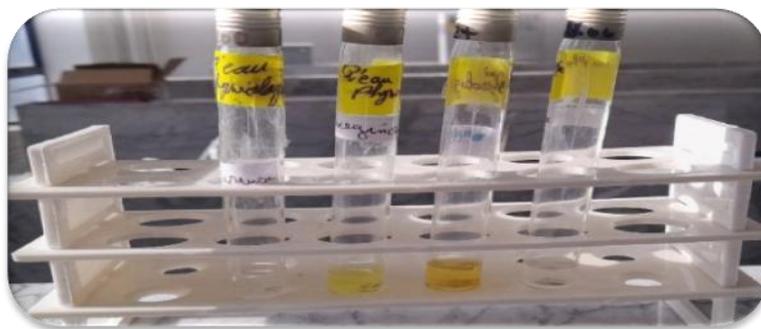


Figure. 14. Résultats du test de oxydase ( Photo originale, 2023)

**Résultat du Test d'ONPG**

**Test positif :** Escherichia coli ; Pseudomonas aeruginosa

**Teste négatif :** Staphylococcus aureus ; Bacillus cereus

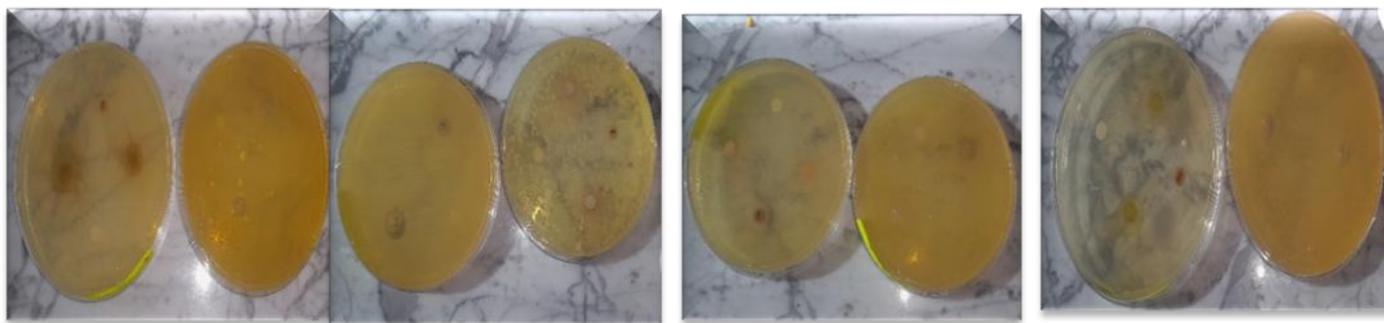


**Figure. 15. Résultats du test d'ONPG de (Photo originale, 2023)**

**Résultats du test antibactérien sur les quatre souches bactéries**

**Tableau.10. Spectre d'inhibition des feuilles par deux méthodes**

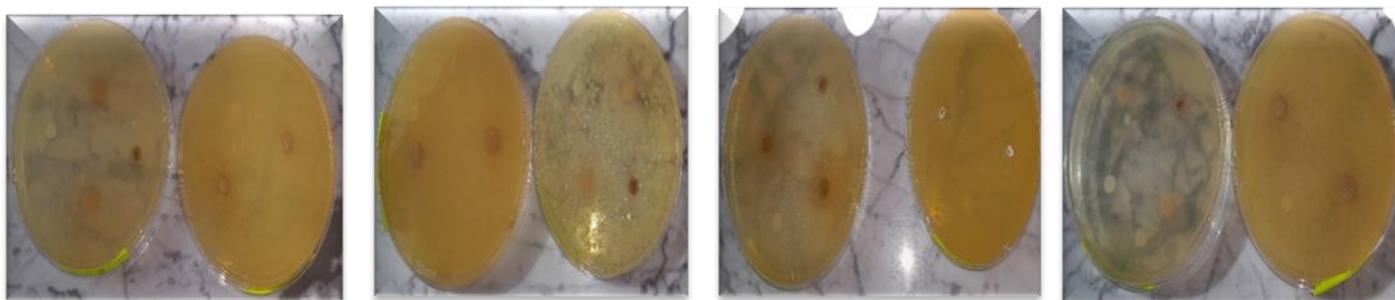
Les souches bactériennes	Spectre d'inhibition	
	Méthode	
	Puit	Disque
<i>Escherichia coli</i> (Gram -)	00	16mm
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +)	11mm	00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram+)	5mm	00
<i>Bacillus</i> (Gram +)	00	19mm



**Figure.16. Résultats du test antibactérien sur les quatre souches bactériennes par deux méthodes (photo originale 2023)**

**Tableau. 11.Spectre d'inhibition de stipe par deux méthodes**

Les souches bactériennes	Spectre d'inhibition	
	Puit	Disque
<i>Escherichia coli</i> (Gram -)	00	00
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+ )	00	00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram+ )	10mm	00
<i>Baccilluse</i> (Gram+)	15mm	00



**Figure. 17. Résultats du test antibactérien sur les quatre souches bactériennes par deux méthodes ( photo originale, 2023)**

**Tableau. 12. Spectre d'inhibition des racines par deux méthodes**

Les souches bactériennes	Spectre d'inhibition	
	Puit	Disque
<i>Escherichia coli</i> (Gram- )	25mm	00
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+ )	00	00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram+ )	00	00
<i>Bacilluse</i> (Gram+ )	8mm	00



**Figure. 18. Résultats du test antibactérien sur les quatre souches bactériennes par deux méthodes (photo originale, 2023)**

L'activité antibactérienne contre les microorganismes analysés dans cette étude a été évaluée en fonction de la présence ou de l'absence d'une zone d'inhibition par rapport à l'antibiotique TETRACYCLINE utilisé comme antibiotique de référence.

Les résultats montrent que l'activité inhibitrice était plus contre *Escherichia coli* ; *Bacillus* .L'extrait méthanolique de *Chamaerops humilis* de Tiaret a une activité contre les souches *Bacillus* et *Staphylocoques* avec un diamètre d'inhibition compris entre 10 mm et 25 mm, cela signifie qu'il est très sensible

L'extrait méthanolique de feuilles de *Chamaerops humilis* a montré une activité contre *Bacillus* ; *Staphylococcus aureus* ; *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition entre 11 mm et 19 mm par les deux méthodes ( disque / puit) ; Les racines de *Chamaerops humilis* ont

montré une activité contre *Escherichia coli* ; *Bacillus* avec un diamètre d'inhibition entre 8mm et 25 mm en utilisant la méthode de puit, l'extrait méthanolique de stipe pour *chamaerops humilis* a montré une activité contre *Bacillus* ; *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition entre 10mm et 15 mm en utilisant la méthode de puit, d'où nous concluons que l'extrait méthanolique des feuilles montre une activité d'inhibition plus concentrée que les racines et le stipe .

**Tableau.13. Le résultat de l'effet antimicrobienne de' l'extrait selon plusieurs auteurs :**

Auteurs	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Baccilluse</i>
El aaraqe, 2022	0	0	0	12mm
Belhaoues, 2018	20mm	10mm	/	/
Hasnaoui, 2013	2mm	2mm	2mm	0

### 3.5. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique a été déterminée in vitro en utilisant la méthode de puit contre souches fongique *Candida albicans*.

**Tableau.14 Les résultats de l'activité antifongique des extraits**

Extrait	Feuille	Racine	Stipe
<i>Candida albicans</i>	15mm	10mm	15mm

L'activité antifongique contre la souche analysée dans la présente étude a été évaluée en fonction de la présence ou l'absence de zone d'inhibition

Les résultats révèlent la présence d'activité vis-à-vis de souche testé (présence de zone d'inhibition faible). Une étude réalisée par El Aarage (2022) a montré que les extraits méthanoliques ont une activité inhibitrice contre M 3, avec une CMI de  $3,5 \pm 0$  mg/l pour l'extrait méthanolique et CMI de  $3 \pm 0$  mg/l pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

# **Conclusion**

### Conclusion

Ce travail s'est intéressé à l'étude et l'évaluation des activités biologiques d'une plante médicinale par excellence *Chamaerops humilis* L. Trois types d'activités ont été caractérisés, à savoir : activité antibactérienne, antifongique et antioxydante.

L'extraction des principes actifs est réalisée par solvant méthanoïque à différentes parties de *Chamaerops humilis*. Le dosage des polyphénols totaux a montré que le méthanol permettait d'extraire la plus importante quantité de polyphénols.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante ont montré une bonne activité antioxydante des extraits méthanoïques de cette plante, qui a montré une activité supérieure. La forte activité antioxydante est justifiée par la richesse en composés phénoliques, réputés être d'excellents agents antioxydants.

Par ailleurs, l'activité antibactérienne ciblant différentes souches bactériennes gram positif et gram négatif a été mise en évidence dont les résultats ont montré une activité faible de l'extrait méthanolique vis-à-vis de *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Baccilluse*. Une très faible activité antifongique a été aussi enregistrée pour les extraits sur les différentes souches fongiques testées.

Les résultats obtenus sont importants et valident scientifiquement l'usage traditionnel de cette plante médicinale. Ils représentent des données appréciables qui peuvent contribuer dans la réalisation des études plus approfondies pour mettre en valeur cette espèce qui mérite une attention particulière de la part des scientifiques.

# **Références bibliographiques**

### Références bibliographiques

**Bellakhdar, J ; Claisse, R ; Fleurentain, J and Younos, C., 1991.** Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology*, 35 : 123-143.

**Beghalia, M ; Ghalem, S ; Allali, H ; Belouatek, A and Marouf, A., 2008.** Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 : 66-70

**Benmehdi. H, Hasnaoui.O , Benali.O , Salhi.F., 2012.** Phytochemical investigation of leaves and fruits extracts of *Chamaerops humilis* L.J. *Mater. Environ. Sci.* 3 (2) 320-237.

**Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A. & Ziyya A., 2002.** Ethnopharmacology Forum Medic. Plants used in the treat. Of diabetes in Morocco. *Int J. Diabetes & Metab.* 10 : 33-50.

**Belhaoues S., 2017.** Etude phytochimique et activité biologiques des extraits de feuilles et de fruit *chamaerops humilis*

**CUENOD A., 1954.** Flore analytique et synoptique de la Tunisie. Tunis 287p.

**Deysson, G., 1979.** Organisation et classification des plantes vasculaires. Ed SEDES. Tome II. 2ème partie. Systématique. 540p.

**El Aarage, B., 2022.** Contribution à la recherche des activités antioxydantes et antimicrobiennes de *Chamaerops humilis* L.

**Gaamoussi F., Israili Z. & Lyoussi B., 2010.** hypoglycemic and hypolipidemic effects of an aqueous extract of *Chamaerops humilis* leaves in obese, hyperglycemic And hyperlipidemic meriones shawi rats *Pak. J. Pharm. Sci.*, 23(2), pp.212-219.- hypoglycemic and hypolipidemic effects of an aqueous extract of *Chamaerops humilis* leaves in obese, hyperglycemic And hyperlipidemic meriones shawi rats *Pak. J. Pharm. Sci.*, 23(2), pp.212-219.

**Giordani R et Kaloustian J., 2006.** Action anticandidosique des huiles essentielles : Leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. 121-124.- Action anticandidosique des huiles essentielles : Leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. 121-124.

**Halimi, A., 1997.** Guide to medicinal plants in Algeria. Report of the ministry of agriculture and maritime fisheries, pp : 207.

**Hasnaoui, O.; Adli, D. E., Halla, N., Kahloula, K., 2014.** Evaluation De L'activité Antifongique Des Huiles Essentielles De Chamaerops Humilis L. Sur Des Souches Isolées Des Silos De Stockage. PhytoChem & BioSub Journal Vol. 8(4) 2014 Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances ISSN 2170 – 17.

**Hasnaoui O., Adli D. E. and Sennour R., 2013.** Antibacterial Activity of Essential Oils of Chamaerops humilis (Arecaceae) on Some Pathogenic Bacteria ; RJPBCS 4(4) ; 626 - 633 Antibacterial Activity of Essential Oils of Chamaerops humilis (Arecaceae) on Some Pathogenic Bacteria ; RJPBCS 4(4) ; 626 -633

**Hasnaoui, O.; Benali, O.; Bouazza, M. and Benmehdi, H., 2013.** Ethnobotanical approaches and phytochemical analysis of Chamaerops humilis L. (Arecaceae) in the area of Tlemcen (western Algeria) ; RJPBCS 4(2) : 910-918-

**Hasnaoui, O., Bouazza. M., Benali, O. and Thinson, M., 2011.** Ethno Botanic study of Chamaerops humilis L. Var. argentea Andre (Arecaceae) in western Algeria. Agricultural journal 6(1) :1-6. ISSN :1816-9155.

**Hasnaoui, O., 2008.** Contribution to Study of the Chamaerops in the Region of Tlemcen : Ecological and Cartographical Aspects. University of A.B.B., Tlemcen, Algeria, pp : 81-88.

**Hasnaoui, O., 2008.** Contribution à l'étude de la Chamaerops de la région de Tlemcen. Thèse de Doct. Uni. Abou Bakr Belkaid Tlemcen. Pp : 20-70 + annexes.

**Hasnaoui, O. ; Bouabdellah, G. ; Hamdane, F., 2001.** Extraction des huiles essentielles du Palmier nain (Chamaerops humilis L) et contribution à l'étude de leur effet antibactérien sur certaines souches pathogènes. Université Dr Tahar Moulay, Faculté des Sciences et Technologie, Département de Biologie.

**Hasnaoui, O., 1998.** Etude des groupements à chamaerops humilis I var. Argentea dans la région de tlemcen algérie thèse de master (ouvrage]. - tlemcen alegérie : [s.n.], 1998. -inst sci de la nature tlemcen : p. 176.

**Quezel, P. et Santa, S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I.

**Quezel, P. et Santa, S., 1962 – 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : Ed. C.N.R.S., 2 Vol, 1170p TELA BOTANICA., 2013- Chamaerops humilis. Base de Données Nomenclature de la Flore de France par Benoît Bock. BDNFF v4.02 [http : //www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org).

**Merlo, M. E.; Alemán, J.; Cabell, O. and Penas, J., 1993.** On the mediterranean Fan palm (Chamaerops humilis). Principes, 37(3) ; 151-158.

**Maire, R., 1957.** Flore de l'Afrique du Nord. T1. Ed. Le chevalier. Paris. 100.

**Maire, R., 1952.** Flore de l'Afrique du Nord. paris. : s. n , 1952.-t1 .Ed .Le chevalier .

**Negre, R., 1951.** Petite flore des régions arides du Maroc occidental. Tome I. CNRS. Paris ,413p.

**Olivier albano, P., 2004-2005.** Le palmier pas à pas. France : [s.n]. 2004 - 2005. - sarl edisd, la calade, 3120 route d'avignon : pp. 65-66.

**Olivier albano, P., 2002.** La connaissance des palmiers. France : [s.n.], 2002. sarl edslo , la calade , 3120 route d'avignon13090 aix - en provence\_france : p . 131 132

**Ould Amar, B., 2013.** Investigation des taux de HAP dans les sols avoisinant les centres de stockage et/ou de distribution des hydrocarbures. Mémoire de fin d'étude Master II. Chimie. Université ABB. Tlemcen.

## Annexes

### Dosage des composés phénoliques

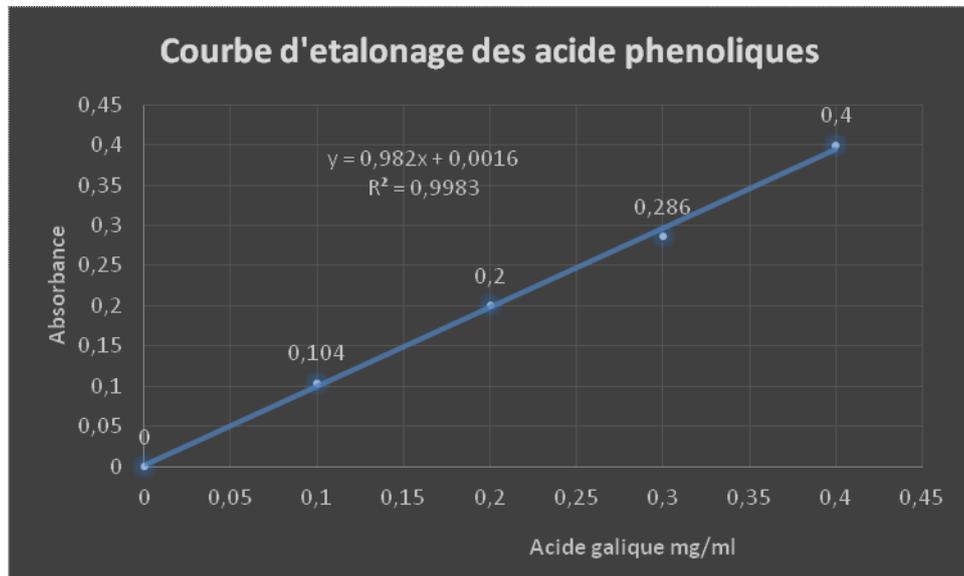


Figure.19. Courbe d'étalonnage des acides phénoliques

### Dosage de flavonoïde

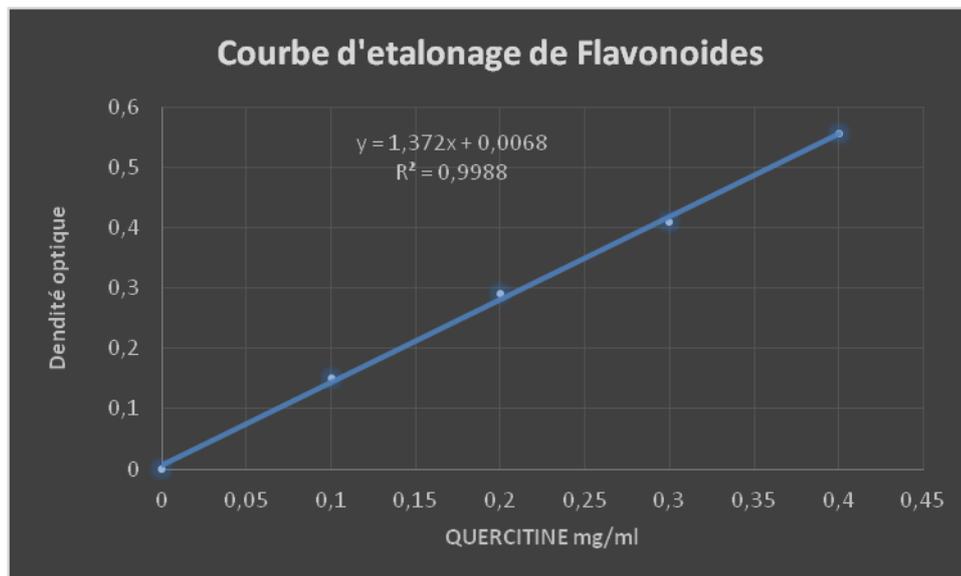


Figure.20. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

## Dosage tanins condensés

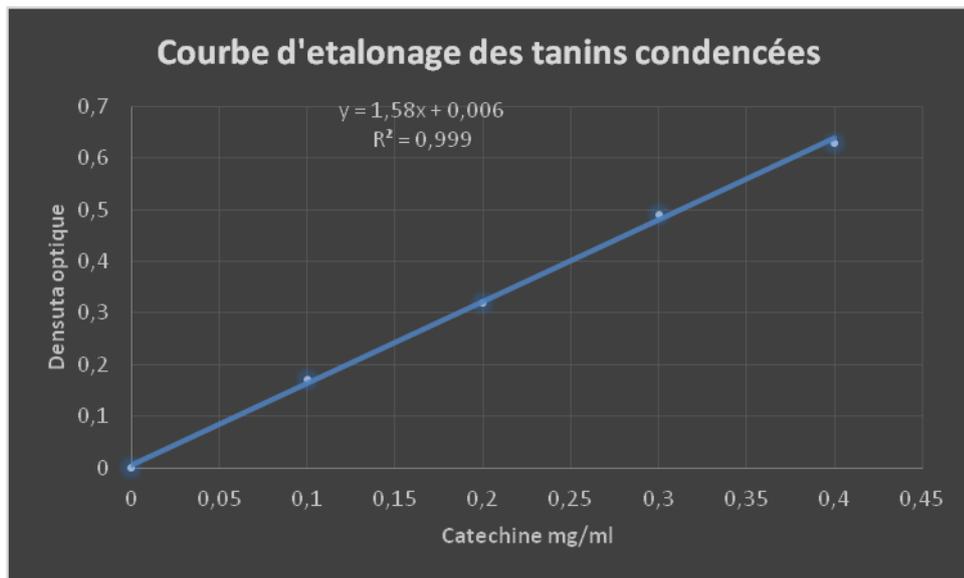


Figure.21. Courbe d'étalonnage des tanins condensés

## Evaluation de l'activité antioxydante

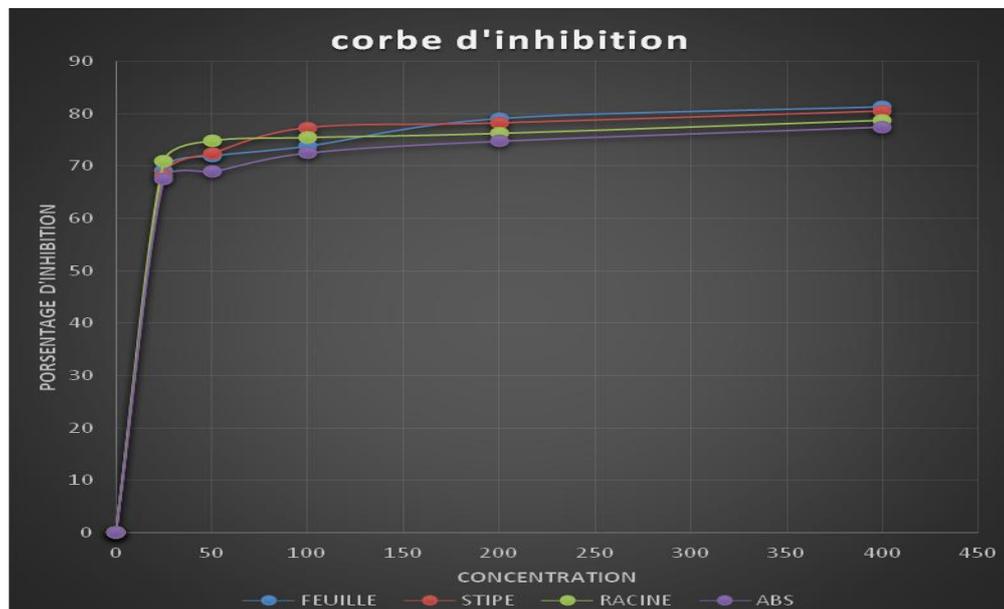
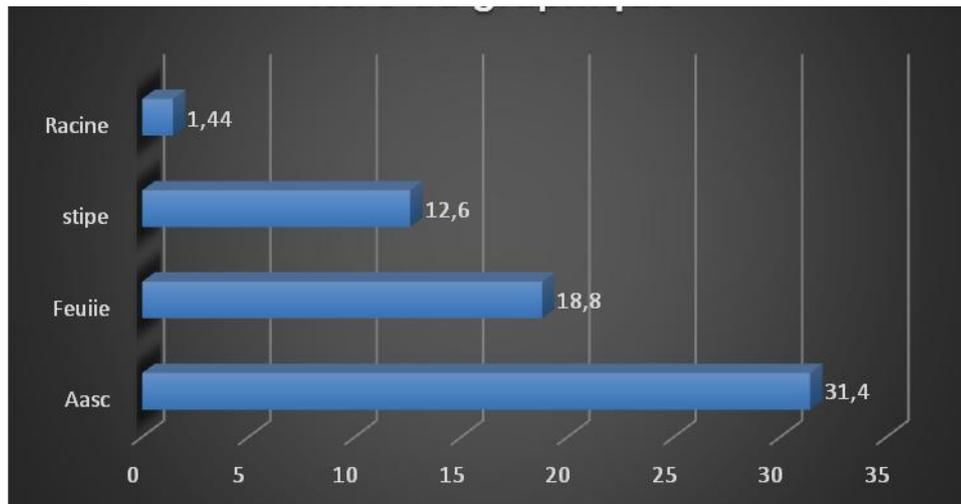


Figure.22. Courbe d'inhibition

## Détermination de l'IC50



**Figure.23.** Courbe CI50 des différents extraits obtenus

# Résumé

## Résumé

Dans la présente étude, Nous avons évalué les activités antioxydantes et antibactériennes et antifongiques des différentes fractions obtenues à partir d'extraits de feuilles et de racine, stipe de *Chamaerops humilis L.* Les rendements des extraits par distillation à la vapeur d'eau sont de l'ordre de 5,27% , L'activité antibactérienne a été déterminée par diffusion en milieu gélosé et par micro-dilution en milieu liquide contre quatre souches de bactéries Gram positif et Gram négatif . L'activité antifongique a été déterminée par diffusion en milieu gélosé et par micro-dilution en milieu liquide contre souche, L'activité antioxydante a été mesurée les teneurs totales en phénoliques et en flavonoïdes par méthode spectrophotométrique et l'activité antioxydante a été estimée en utilisant le ( DPPH) comme radical libre.

Ces mêmes fractions ont également montré plus faible activités antibactériennes contre les 4 souches bactériennes avec des CMI de 50mg/ml et la souche fongique avec des CMI de 50mg/ml. Quant aux résultats de l'activité antioxydante, La teneur en flavonoïdes varie de  $1,625 \pm 0,64 \text{ mg/g}$  à  $3,877 \pm 7,66 \text{ mg/g}$ , tandis que la teneur en phénols totaux était de  $168,026 \pm 1,58 \text{ mg/g}$  à  $201,90 \pm 11,30 \text{ mg/g}$  et la teneur en tanins condensés  $6,01 \pm 2,55 \text{ mg/g}$  à  $6,47 \pm 0,52 \text{ mg/g}$  dans toutes les parties. La valeur CI50 pour le radical DPPH avec des extraits méthanoliques de *Chamaerops humilis L.* s'est avérée être de  $180,71 \mu\text{g ml}$ . Ces résultats suggèrent que les extraits de méthanol ont un bon potentiel en tant que sources de différents composés bioactifs, antioxydants, antibactériennes et antifongiques .

**Mots clés :** *Chamaerops humilis*, activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante, semi-aride

## Abstract

In the present investigation, antioxidant and antibacterial activities of different fractions obtained from leaf and fruit extract of *Chamaerops humilis L.* ,

In the present study, the antioxidant and antibacterial activities of different fractions obtained from leaf and root extracts, stem of *Chamaerops humilis L.*, yields by steam distillation the yield is almost zero have provided yields of 5.27%, Antibacterial activity was determined by diffusion in agar medium and by micro-dilution in liquid medium against four strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria. The antifungal activity was determined by diffusion in agar medium and by micro-dilution in liquid medium against strain, The antioxidant activity was measured the total contents of phenolics and flavonoids by spectrophotometric method and the antioxidant activity was estimated in using the (DPPH) as free harbor.

These same fractions also showed the lowest antibacterial activities against the 4 bacterial strains with MICs of 50mg/ml and the fungal strain with MICs of 50mg/ml, for the antioxidant activity results, the flavonoid content ranged from  $1.625 \pm 0.64 \text{ mg/g}$  at  $3.877 \pm 7.66 \text{ mg/g}$ , while the content of total phenols was  $168.026 \pm 1.58 \text{ mg/g}$  at  $201.90 \pm 11.30 \text{ mg/g}$  and the content of condensed tannins  $6, 01 \pm 2.55 \text{ mg/g}$  to  $6.47 \pm 0.52 \text{ mg/g}$  in all parts. The IC50 value for radical DPPH with methanolic extracts of *Chamaerops humilis L.* was found to be  $180.71 \mu\text{g ml}^{-1}$  . These results suggest that methanol extracts have good potential as sources of different bioactive compounds and antioxidants and antibacterial and antifungal.

**Key words:** *Chamaerops humilis*, antibacterial activity, antifungal activity, antioxidant activity, semi-arid

## المخلص

في هذه الدراسة ، فإن الأنشطة المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا للكسور المختلفة التي تم الحصول عليها من مستخلصات الأوراق والنباتات ، ينتج عن طريق التقطير بالبخار ، العائد تقريباً صفر قدم إنتاجية بنسبة 5.27% ، تم تحديد النشاط المضاد *Chamaerops humilis L.* جذع للبكتيريا بواسطة الانتشار في وسط أجار وبالتخفيف الدقيق في وسط سائل ضد أربع سلالات من البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام. تم تحديد النشاط المضاد للفطريات عن طريق الانتشار في وسط أجار وبالتخفيف الدقيق في وسط سائل ضد الإجهاد ، تم قياس النشاط المضاد للأوكسدة على أنه حر . مرفأ (DPPH) إجمالي محتويات الفينولات والفلافونويدات بطريقة القياس الطيفي وتم تقدير النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام

50 MICs مل والسلالة الفطرية مع 50 MICs أظهرت هذه الكسور أيضاً أقل نشاط مضاد للجراثيم ضد السلالات البكتيرية الأربعة مع 50 MICs مل ، لنتائج نشاط مضادات الأوكسدة ، تراوح محتوى الفلافونويد من  $1.625 \pm 0.64 \text{ mg/g}$  عند  $3.877 \pm 7.66 \text{ mg/g}$  ملجم / جم ، بينما كان محتوى الفينولات الكلي  $168.026 \pm 1.58 \text{ mg/g}$  عند  $201.90 \pm 11.30 \text{ mg/g}$  ملجم / جم ومحتوى العفص المكثف 6 ،  $01 \pm 2.55 \text{ mg/g}$  ملجم / جم *Chamaerops humilis L.* الجذري مع المستخلصات الميثانولية من DPPH لـ IC50 إلى  $180.71 \pm 0.52 \text{ mg/g}$  ملجم / جم في جميع الأجزاء . تم العثور على قيمة تبلغ  $180.71 \mu\text{g/ml}$  ميكروغرام مل ، وتشير هذه النتائج إلى أن مستخلصات الميثانول لها إمكانات جيدة كمصادر للمركبات النشطة *Chamaerops humilis L.* بيولوجياً ومضادات الأوكسدة ومضادات الجراثيم والفطريات

## لكلمات المفتاحية

..، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للفطريات ، نشاط مضاد للأوكسدة ، شبه جاف *Chamaerops humilis* :