

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF- M'SILA

Faculté des Sciences

Département des Microbiologie et
Biochimie

N° :...../PV/2019



DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie

FILIERE : Sciences Biologique

OPTION : Microbiologie Appliquée

**Mémoire présenté pour l'obtention
Dudiplôme de Master Académique**

Par :

HADJI Ourida

&

TARFAYA Fatima

Intitulé

**Evaluation du pouvoir antioxydant,
antilithésique et antimicrobien de *Brassica spp.***

Soutenu le :

14/07/2019

Devant le jury composé de :

Encadreur	: Dr BENSEMANE L.	(MCB)	Université de M'sila
Président	: Mr KHARBACHE A.	(MAA)	Université de M'sila
Examineur	: Dr BISSET S.	(MAA)	Université de M'sila

Année universitaire : 2018 /2019.



Nous tenons à remercier avant tout, Dieu le tout puissant, qui nous a permis cet instant, de nous avoir guidés et aidés à réaliser ce travail en nous donnant la force, la patience et la volonté.

*Nous remercions notre encadreur **Dr. BENSEMANE Latifa** pour son entière disposition, ses judicieux conseils, sa patience, sa rigueur persévérante, mais aussi et surtout pour son esprit maternelle tout au long de notre travail.*

*Nous remercions sincèrement tous les membres de jury : **Mr KHARBACHE A.** de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury et d'évaluer ce modeste travail et **Dr BISSET S.** d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Nous adressons nos plus vifs remerciements à : **Mr SARI Djamel** qui nous a aidé à authentifier notre plante.*

Nous remercions également tous les enseignants du département de Microbiologie et Biochimie de l'université de M'sila, et nos sentiments et profonde gratitude vont à nos professeurs qui, tout au long des années d'études, nous ont transmis leur savoir sans réserve.

Nous remercions fortement tous les ingénieurs des laboratoires de Microbiologie et Biochimie pour nous avoir facilité le travail en offrant tous les moyens logistiques disponibles.

Nos remerciements vont aussi à tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration du présent travail.

Dédicaces

Avant tout mes remerciements vont d'abord à notre DIEU le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Je dédie ce modeste travail :

- ❖ *A mes très chers parents **Djamel** et **Meriam** qui ont tout fait pour mon bonheur et ma réussite.*
- ❖ *A mes très chères **sœurs** et chers **frères**.*

Dieu les protège et les garde pour moi

- ❖ *Ainsi qu'à toute ma famille et mes amis surtout **DABIH Djihad**.*
- ❖ *Sans oublier l'enseignant **Dr MEGLALI Omar** qui m'a beaucoup encouragée.*

OuRiDa



Dédicaces

A l'aide de Dieu 'ALLAH' le tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie, et m'a donné la santé, le courage et la patience durant les périodes difficiles.

Je dédie ce modeste travail :

*A Mes parents **SALAH & OURIDA** pour leur amour et leur soutien moral et leurs conseils les plus précieux qui m'ont servi dans ma vie et leur encouragement sans limite.*

*A mes frères pour le courage **HAFID & BOUZID** à qui je souhaite une vie pleine de bonheur.*

*A mes très chères sœurs qui m'ont toujours aidé moralement durant mes études : **SAMIHA** et son mari **SALAH** et leur petit fille **BASSMA**.*

*A mon adorable belle-sœur **CHAIMA**.*

*A tous mes oncles surtout **IMAD & FOUAD** et toutes mes tentes.*

*A mon chère fiancé **ISMAIL** qui m'a épaulé durant cette période.*

*A toutes mes amies : **AHLEM, NADJAT, NAOUL, SOUMAYA, NESRINE, FOUZIA, SARA, DJAHIDA, AHLEM, FRAIHA, CHAHINAZE, AMINA, NOURA, SIHEM, KARIMA, KHADIJA, DENIA, DJOMANA, HANAN, SABRINA,** et **BOUCHRA** pour leur soutien, leur patience et surtout pour leur amour, qui m'ont toujours encouragé et souhaité la réussite.*

A toute la promotion Master Microbiologie Appliquée 2018-2019.

FaTiMa



Sommaire

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations et des acronymes

Résumés

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : Etude bibliographique 5

I.1. Généralités sur les Brassicaceae 5

I.1.1. Description et caractéristiques 5

I.1.2. Classification botanique 6

I.1.3 Utilisation 7

I.1.3. Les intérêts 8

I.2 Les métabolites secondaires 8

I.2.1 Polyphénols 8

I.2.2 Flavonoïdes 9

I.2.3 Les huiles essentielles 9

I.3 Activité antioxydante et le stress oxydant 10

I.3.1 Les radicaux libres 10

I.3.2 Stress oxydatif 10

I.3.3 Les antioxydants 11

I.3.4 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante 11

I.4 L'activité antilithéasique 11

I.4.1. La lithiase urinaire 12

I.5 L'activité antimicrobienne 12

Chapitre II : Matériel et Méthodes 14

II.1.1 Matériel végétal 14

II.1.2 Les souches testées 15

II.2 Méthodes 15

II.2.1 Préparation de l'échantillon pour l'extraction de l'huile essentielle 15

II.2.2 Préparation de l'échantillon pour l'extraction de l'extrait méthanolique 16

II.3 Méthodes de dosage 18

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux 18

Sommaire

II.3.2. Dosage des flavonoïdes	19
II.4 Partie Criblage photochimique	20
II.5 Les tests des activités biologiques.....	21
II.5.1 Activité antioxydante	21
II.5.1.1 Le test de piégeage du radical DPPH	22
II.5.2 Activité antimicrobiennes.....	22
II.5.3Activité antilithiasique	24
II.5.4 Analyses statistiques	29
Chapitre III : Résultats et Discussion	28
III.1 Rendement	28
III.1.2 l'extrait méthanolique	28
III.1.3 l'huile essentielle	31
III.2 Dosage des polyphénols et flavonoïdes	29
III.3 Résultats du criblage phytochimique	33
III.4. Résultats des activités biologiques	34
III.4.1. Activité antioxydante	34
III.4.2 Activité antimicrobienne	35
III.4.3 Activité antilithiasique	41
Conclusion.....	46
Références bibliographies	46
Annexes	52

Liste des Tableaux

Tableau 01 : les principaux constituants chimiques du navet	07
Tableau 02 : les souches testées	15
Tableau 03 : Criblage phytochimique	23
Tableau 04 : Propriétés de l'huile essentielle extrait des graines du navet (<i>Brassica spp</i>)	31
Tableau 05 : les substances phytochimique de l'extrait méthanolique (<i>Brassica spp</i>)	34
Tableau 06 : Résultats de diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait Méthanolique	36
Tableau 07 : Résultats de Diamètre de la zone d'inhibition	39
Tableau 08 : Résultats du diamètre de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Brassica spp</i>	40

Listes des Figures

Figure 01 : Différents organes de *Brassica spp*
06

Figure 02 : Les activités biologiques des polyphénols
09

Figure 03: Les parties de *Brassica spp* utilisées
15

Figure 04: les étapes de préparation de l'échantillon pour l'huile essentielle
16

Figure 05: les étapes de préparation de l'échantillon pour l'extrait méthanolique
17

Figure 06: L'appariel d'extraction (soxhlet)
18

Figure 07 : L'appariel rotavapeur type BUCHRI
18

Figure 08 : les étapes du dosage des polyphénols
20

Figure 09 : les étapes du dosage des flavonoïdes
21

Figure 10 : La formule de réduction de DPPH
24

Figure 11 : Mode opératoire pour réaliser l'activité antioxydante
25

Figure12 : Préparation des solutions mères
28

Figure13 : Mode opératoire pour réaliser l'activité antilithiasique
29

Figure 14 : L'aspect de l'extrait méthanolique
31

Figure 15 : Courbe d'étalonnage des polyphénols.
31

Figure 16 : Comparaison des teneurs en polyphénols entre navet et pomme de terre
33

Figure 17: Comparaison des teneurs en polyphénols entre navet et carotte
33

Figure 18: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes
34

Figure 19: Les teneurs de flavonoïdes de deux extraits méthanolique
34

Figure 20: l'effet antiradicalaire de la plante *Brassica spp*
37

Figure 21 : L'activité antibactérienne pour différentes concentrations de l'extrait
38

Figure 22 : Le diamètre de la zone d'inhibition des souches testées en fonction des
Différentes concentrations de l'extrait méthanolique
38

Figure 23 : Concentration inhibitrice de l'extrait méthanolique et contrôle positif.
39

Figure 24: L'activité antibactérienne de l'extrait et de l'huile essentielle
40

Figure 25 : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle
41

Figure 26 : Diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle
42

Figure 27 : Courbe de cristallisation oxalocalique de l'extrait de *Brassica spp.*
43

Figure 28 : Le taux dissolution du calcul en fonction des échantillons
44

Liste des abréviations et des acronymes

Abs : Absorbance.

AC : Activité

a_{Ech} : Absorbance de l'échantillon

AlCl₃ : trichloride d'aluminium

a_x : Absorbance de l'oxalate de calcium

BHT : Butyl hydroxy toluene

°C : Degré Celsius

Ca : Calcium

Ca₂C₂O₄ : Oxalate de calcium

DMSO : Dimethyl sulfoxide

DPPH : 2,2-DiPhényl-1-Picryl-Hydrazyl.

E : Est

EAG : Equivalent d'acide Gallique.

Ech : Echantillon

EQ : Equivalent de la quercétine.

ERO : Espèce réactive d'oxygène.

FAO : Organisation mondiale de la Santé (OMS)

FeCl₃ : Acide sulfurique

h : Heure

HE : Huile essentielle

H₂O₃ : Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

g : Gramme

Graph Pad : Logiciel Graph pad

Kcal : Kilocalorie

Km : kilomètre

L : Litre

mM : Millimole

Mg : Milligramme

Mg : Magnésium

ml : Millilitre

min : Minute

MH : Masse d'huile

MP : Masse de la poudre
N : Nord
NaCl : Chlorure de sodium
Na₂C₂O₄ : Oxalate de Sodium
Nm : Nanomètre
NB : Bonne note
NO⁺ : Cation nitrosomium
NO⁻ : l'anionnitroxyl
O₂ : Oxygène singulet (1)
O₂⁻ :L'anion superoxyde
OH[•] : Le radical hydroxyle
ONOO-I : Peroxynitrite
PIP : Pipéracilline
Ps : Poids de l'extrait
Ph : Poids de la poudre.
PP : Vitamine
PSS : Pôle Social et Santé
R : Rendement
RL : Radicale libère
RNS : Les espèces réactives de l'azote
SD ou P: Significative différente
SM : Solution mère
TI : Taux d'inhibition
UI : Unité international
UV : Ultra violet
v:v : Volume
µl : Microlitre
° : Degré

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Une alimentation équilibrée est une adaptation équilibrée entre les différents nutriments : lipides, glucides et protides. Mais c'est aussi un apport suffisant en vitamines et en oligo-éléments. C'est aussi une répartition harmonieuse de la ration alimentaire au cours de la journée. Et enfin, c'est une alimentation suffisante en quantité, mais pas excessive. Bref, une alimentation équilibrée, c'est une alimentation raisonnable et variée.

Une alimentation saine et équilibrée permet de maintenir ou d'améliorer la santé générale. Une bonne alimentation fournit à l'organisme les nutriments essentiels : fluide, acides aminés essentiels, protéines, acides gras, vitamines, minéraux, et suffisamment de calories.

Le régime méditerranéen est l'exemple type d'une alimentation saine :

- il se compose essentiellement d'aliments d'origine végétale (fruits, légumes, légumineuses, fruits secs, pain, pâtes);
- l'huile d'olive y est la principale matière grasse ;
- viande, produits laitiers et œufs y sont consommés avec modération.

Une alimentation saine et équilibrée se définit, selon la riche littérature, se rapportant à ce sujet, comme celle devant apporter à l'organisme tous ses besoins en nutriments essentiels lui permettant d'assurer le maintien et l'amélioration de sa santé générale. Ceci étant, une alimentation saine doit commencer par conséquent, avant tout, par une alimentation variée et où les apports en légumes et fruits, jouant un rôle important parce qu'ils contiennent des nutriments importants comme les fibres, les minéraux et les vitamines (**PSS, 2013**).

Additionnellement à cette définition, assez standardisée, nous ajoutons qu'elle doit avoir un apport suffisant en vitamines et en oligo-éléments tout comme elle doit être suffisante mais pas excessive et répartie d'une manière harmonieuse au cours de la journée. En somme, une alimentation saine doit être équilibrée, variée, raisonnable en quantité et bien répartie dans la journée.

Les légumes fournissent des vitamines, des minéraux, des fibres, une forte teneur en eau, une faible teneur en lipides et en protéines, une richesse en phytomicroconstituants, des substances essentielles dont le corps a besoin pour rester en pleine forme mais les techniques culinaires jouent un rôle sur le changement de la valeur nutritionnelle (**PSS, 2013 ; Lecerf et Bal, 1979**).

Introduction

Les nutritionnistes, pour une alimentation saine, recommandent une portion journalière de 300 grammes de légumes et un à deux fruits (**PSS, 2013.**)

En effet, nombreuses études épidémiologiques ont illustré qu'une alimentation riche en aliments d'origine végétale réduit considérablement plusieurs maladies comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancers (**Dauchet et al., 2005.**)

Néanmoins, il est constaté ces dernières années, que la consommation des aliments d'origines végétales, malgré leurs faibles apports caloriques et qu'ils sont peu nourrissants, a fortement augmenté et qu'elle pose un véritable enjeu de santé publique. Cet événement social est fortement lié à la prise de conscience quant au rapport des causes à effets entre la qualité des aliments et la santé.

L'exploitation par l'homme des propriétés de ces métabolites, à son profit dans différents domaines (médecine, industries chimiques, pharmacologie, agroalimentaire), remonte très loin dans l'histoire de l'humanité et, à l'heure actuelle, les résultats de très nombreuses recherches ont fortement contribué à la mise en évidence de diverses propriétés biologiques de certains composés et plus particulièrement des composés phénoliques.

Ces composés phénoliques sont largement utilisés actuellement en thérapie comme, vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques (xanthine oxydase, lipoxygénase, etc.), antioxydants et antimicrobiens. (**Ghedira, 2005.**)

Le navet, espèce potagère de la famille des Brassicaceae ou Crucifères, objet de notre étude, est une plante considérée comme une importante source naturelle d'antioxydants. Elle est utilisée, en médecine traditionnelle, pour traiter une variété de maladies comme l'hépatite, ictère, furoncle, et les maux de gorge. **Berdja et al, 2016** notent que le navet contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que les flavonoïdes. Aussi, Il s'ensuit que les légumes devraient être étudiés davantage pour découvrir leur potentiel bioactif.

Cette recherche a pour but d'évaluer les activités antioxydante, antimicrobienne et antilithéasique des substances naturelles provenant d'une variété de navet autochtone appelée "*Left saidi* " laquelle est cultivée, exclusivement, dans trois régions en Algérie : Sétif, Mascara et Tlemcen. C'est un légume à un goût très prononcé dont la culture occupe de très faibles surfaces à l'échelon nationale et sa production se limite à la période allant de décembre à avril.

Introduction

La première partie de notre travail se rapporte à la bibliographie de la famille des Brassicaceae, espèce "Navet" et ce, particulièrement du point de vue botanique et chimique. Ensuite, il est présenté

le dépistage phytochimique de l'espèce navet (*Brassica spp.*) ainsi qu'une estimation quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes de ses racines (partie consommable) et des huiles essentielles extraites à partir de ses graines.

La deuxième partie de notre travail est consacrée à l'étude des activités antioxydante, antilithéasique et antimicrobienne des extraits méthanoliques et antimicrobienne des huiles essentielles de ce légume.

Le travail est présenté à travers trois chapitres :

1. Le premier chapitre aborde l'état de connaissances sur les Brassicaceae et les vertus thérapeutiques de cette famille des plantes ;
2. Le deuxième chapitre est consacré à l'exploration de l'ensemble des expériences faites regroupant le matériels et les différents procédés méthodologiques ;
3. Le troisième chapitre abordant les résultats et la discussion est suivi d'une conclusion au cours de laquelle, et à la lumière des résultats obtenus, il est suggéré quelques perspectives d'études de recherche à poursuivre.

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Etude bibliographie

Dans un souci de bien-être et de santé, la recherche et la nouveauté industrielle se dirigent aujourd'hui vers l'utilisation de substances naturelles, aussi bien dans le domaine de la Nutrition que dans ceux de la Cosmétique ou de la Pharmacie. Éléments indissociables de la biodiversité de la flore d'Algérie qui, de par sa situation géographique, elle bénéficie d'une flore très diversifiée par des espèces appartenant à différents éléments géographiques (INRA/FAO, 2006). Les légumes constituent une bioressource encore trop peu exploitée, et dont les potentialités ont été encore peu recherchées.

I.1.Généralités sur les Brassicaceae

La famille des Brassicaceae, appelées anciennement les Crucifères, comprend 3400 espèces réparties en 340 genres, sont distribuées sur toute l'étendue du globe, mais plus abondants dans l'hémisphère Nord. C'est une famille facile à définir et très reconnaissable par ses fleurs à pétales disposés en croix, d'où le nom ancien de crucifères (de latin « cruce ferre », porter un choix). Certaines sont adaptées à des milieux particuliers, comme les montagnes ou les déserts et présentent alors une lignification poussée et une surface foliaire réduite (Sakhri et Tatemante, 2018). La famille comprend de nombreuses plantes d'importance économique qui ont été largement modifiées et domestiquées par les humains, en particulier ceux du genre Brassica, qui comprend le chou, le chou-fleur, le brocoli, les choux de Bruxelles, le chou frisé, le colza, le navet, le rutabaga et le cresson (site n°1).

Brassica c'est le genre le plus important économiquement et inclut 37 espèces différentes et nombreuses sont cultivées, fournissant des racines, feuilles, tiges, bourgeons comestibles, des fleurs et des graines (Rakow, 2004).

I.1.1. Description et caractéristiques

Le navet est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle de la famille des Brassicaceae cultivée comme légume-racine l'année du semis. La racine est renflée et charnue, très variable dans sa forme : cylindrique, conique, sphérique, piriforme, allongée ou aplatie, et dans sa couleur : jaune pâle, blanche, grise ou noire, bicolore rose-blanc... Elle est quelquefois plus ou moins sucrée, d'autres fois piquante et un peu âcre.

La variété de navet, de notre étude, possède des tiges dressées avec 8-12 feuilles formant une couronne. Les feuilles sont vertes et gaufrées ressemblant aux feuilles de menthe. À la surface du légume se trouve des rameaux racinaires de différentes tailles.

La deuxième année la plante émet une tige florale lisse ramifiée de quatre-vingts centimètres jusqu'à un mètre de haut environ.

Les feuilles sont entières, oblongues, d'un vert franc et plus ou moins rudes au toucher. Les fleurs en croix sont jaunes. Les fruits sont des siliques longues, cylindriques, acuminées, contenant chacune de 15 à 25 petites graines sphériques rougeâtres, quelquefois presque noires (Vilmorin et Cie 1925).

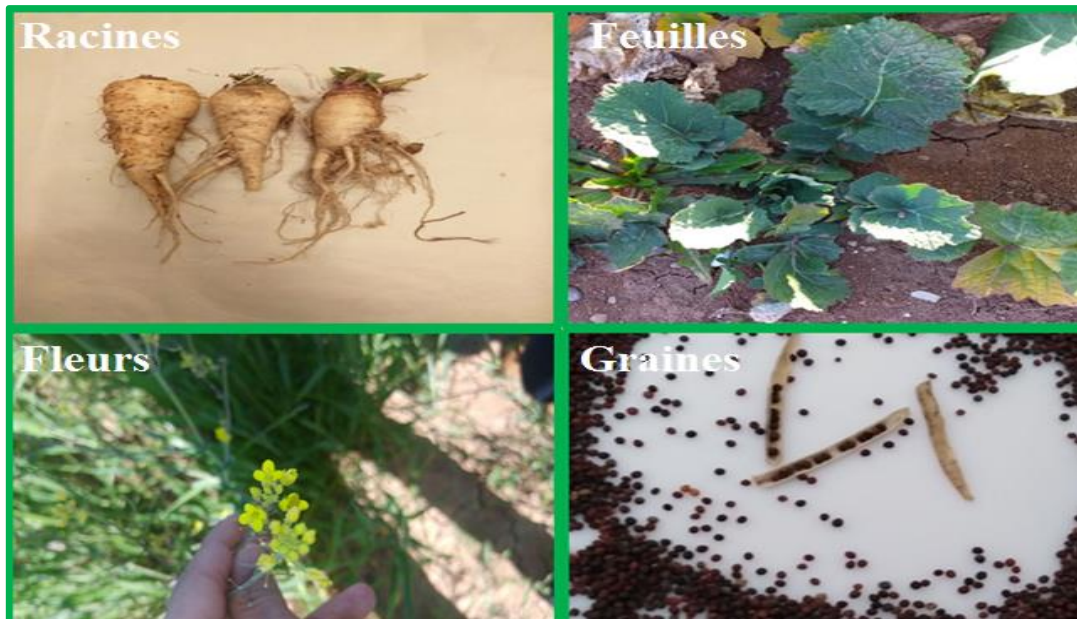


Figure 01 : Différents organes du navet de l'étude (*Brassica spp.*).

I.1.2. Classification botanique

La plante *Brassica* est classée selon **Sakhri et Tatemante, 2018** comme suit :

Règne : Plantae.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Ordre : Capparales.

Famille : *Brassicacées*.

Sous-famille : Brassicoideae.

Genre : *Brassica*.

Espèce : *Brassica spp.*

Noms communs : navet, naveau.

Noms vernaculaires : **français** : navet, naveau, rave, **espagnol** : *nabo*,

italien : *navone* ou *rapa*, **turc** : *şalgam*, **arabe** : لفنت [*left*] ou شلجم [*chaljam*].

Tableau 01 : les principaux constituants chimiques du navet (Sakhri et Tateman, 2018).

Les organes	Les constituants chimiques	
Les racines	-Eau (92g/100g) -Calories (27kcal/100g) -Protides (1g/100g) -Lipides (0.1g/100g) -Glucides (6.5g/100g) -Ca (30mg/100g) -P (27mg/100g) -Fe (0.3 mg/100g)	-Na (67mg/100g) -K (191mg/100g) -Mg (11mg/100g) -Vitamine A (0UI/100g) -Vitamine B1 (0.04mg/100g) -Vitamine B2 (0.03mg/100g) -Vitamine PP (0.4mg/100g) -Vitamine C (21mg/100g)
Les feuilles	-Eau (91g/100g) -Calories (27kcal/100g) -Protides (1.5g/100g) -Lipides (6g/100g) -Glucides (0.3g/100g) -Ca (191mg/100g) -P (42mg/100g) -Fe (1.1mg/100)	-Na (40mg/100g) -K (296mg/100g) -Mg (31mg/100g) -Vitamine A (7600UI/100g) -Vitamine B1 (0.8mg/100g) -Vitamine B2 (0.1mg/100g) -Vitamine PP (0.6mg/100g) -Vitamine (60mg/100g)

I.1.3 Utilisation

L'usage du navet dans l'alimentation humaine remonte à des temps anciens. D'abord cueilli à l'état sauvage, il fera le concept de cultures qui donneront de multiples variétés. Les potagers maghrébins l'ont probablement hérité des maraîchers andalous... Le navet ne paraît pas avoir de nom propre dans nos langages. Le terme de *left* ou *kherdel* qui désigne navet aurait servi plutôt pour le chou-navet, la moutarde, le chou, le chou-fleur, le brocoli, la colza, le rutabaga, etc... Il faut souligner que toutes ces plantes font partie de la même famille botanique, celle des brassicacées, dont les saveurs sont assez proches les unes des autres, caractérisées par une note piquante...

Une quantité considérable de plantes soit sauvages et mi-sauvages, soit cultivées servent de complément alimentaire très important (Tchiéganget et Aissatou, 2004), les légumes sont une importante source protéique (Cardoso, 2018).

Le navet était déjà utilisé par les Chinois il y a 4000 avant J.C. Des écrits rapportent aussi leurs utilisations culinaire, médicale ou magique par les Egyptiens et les Romains (Robert, 1991).

De nombreuses espèces sont utiles pour :

- L'alimentation humaine: comme exemples chou (*Brassica oleracea*), navet (*B. napus*) ;
- L'alimentation animale, sous forme de fourrages ou de tourteaux d'oléagineux ;

- Des fins industrielles, certaines graines sont employées pour la fabrication d'huiles à usage alimentaire : colza (*B. napus v. oleifera*), navette (*B. rapa v. oleifera*) ; les autres, dont la composition en acides gras toxiques (acide érucique notamment) les rend impropres à l'alimentation humaine, sont, de préférence, réservées aux applications industrielles ;
- Usages condimentaires et pour leurs propriétés médicinales, sous forme de farine, d'émulsions de moutarde (*Brassica hirta*, *B. nigra*) (*sinapismes*) (**Robert, 1991**).

I.1.3. Les intérêts

Le navet contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que la quercétine qu'est indiquée dans toutes les situations inflammatoires parce qu'elle inhibe la formation des médiateurs de l'inflammation les prostaglandines et les leucotriènes (**Boots et al., 2008**).

De nombreux travaux indiquent que la quercétine possède des propriétés antioxydantes très efficaces. Il semble aussi qu'un grand nombre d'effets biologiques de la quercétine et d'autres flavonoïdes puisse être expliqué par leur activité antioxydante et leur capacité à détruire les radicaux libres. La fonction antioxydante de la quercétine est renforcée par la vitamine C (**Torres, 2008**).

I.2 Les métabolites secondaires

I.2.1 Polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines...etc (**Boizot et Charpentier, 2006**). Les actions protectrices des polyphénols peuvent comprendre :

- Inhibition des E.R.O (O₂) ;
- Piégeage des radicaux libres ;
- Chélation des ions métalliques responsables de la production des ERO ;
- Inhibition des enzymes responsables de la production des ERO (**Magalha et al., 2008**)

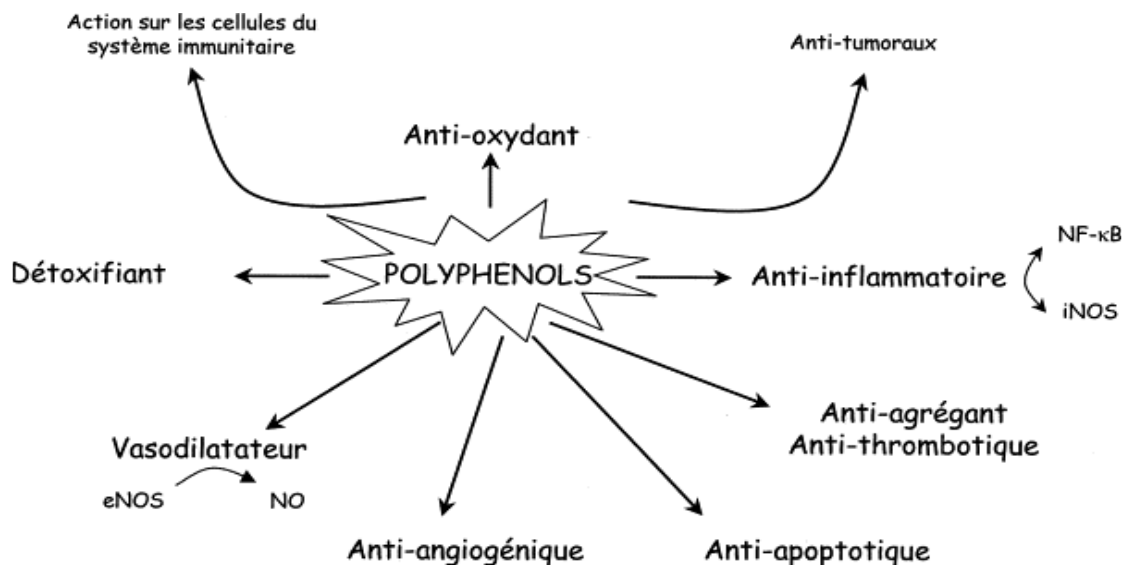


Figure 02 : Les activités biologiques des polyphénols (BOOT, 2008).

I.2.2 Flavonoïdes

L'appellation « Flavonoïde » qui en latin (= flavus) est dû à leur couleur jaune qu'ils engendrent (Wilson, 1987), formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représentent le groupe de composés phénoliques le plus diversifié : plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les flavonoïdes stabilisent les RL grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques libres au niveau de l'organisme (Derbel et Ghedira, 2005).

I.2.3 Les huiles essentielles

Traditionnellement, les huiles essentielles servent de matière première pour les parfums et les arômes. Elles sont utilisées dans les produits tels que les cosmétiques, les parfums, les produits de toilette, les produits pharmaceutiques, les préparations culinaires, les breuvages alcooliques et non alcooliques ainsi que les produits de tabac¹. Les premiers utilisateurs furent l'Inde, la Perse et l'Égypte.

Les Égyptiens utilisaient très couramment les huiles essentielles de plantes, non seulement pour la beauté, la santé, leur plaisir, mais aussi pour leurs rites religieux et surtout pour l'embaumement des corps. Cependant, ce sont les Grecs et les Romains qui ont fait

l'extension du commerce des huiles essentielles au Moyen Orient (**NyiramanaLunianga, 1991**).

Les huiles essentielles n'existent quasiment que dans les végétaux, elles sont obtenues à partir de diverses parties des plantes, telles que les graines, les bourgeons, les feuilles, les racines, les fruits, les rhizomes, les écorces et les fleurs (**ourari et Ider, 2017**).

Ce sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ..., Leurs compositions généralement assez complexes à cause de leur volatilisation (**Lamamra,2018**). Elles possèdent de nombreuses activités biologiques : antimicrobiennes, antioxydantes, antilithiasiques, etc... (**Mohammedi, 2015**).

I.3 Activité antioxydante et le stress oxydant

I.3.1 Les radicaux libres

Selon **Favier, 2003** le radical libre est une espèce caractérisée par un déséquilibre et/ou un pouvoir oxydant fort, il se distingue par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Les espèces réactives oxygénées (ERO) proviennent de produits dérivés de réactions enzymatiques essentielles, principalement de processus métaboliques endogènes. Leur formation initiale se base sur la réduction d'oxygène moléculaire. Parmi toutes les ERO, on cite un ensemble restreint de ces composés que nous nommons radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical peroxy (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxy (RO^{\cdot}). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet¹ O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, A. 2003**).

I.3.2 Stress oxydatif

Comme défini par **Haleng et al., 2007**, le stress oxydatif est un état de déséquilibre entre la génération d'espèces réactives oxygénées (ERO) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. Il déclenche des pathologies nombreuses comme l'athérosclérose, le cancer, les maladies inflammatoires et l'infertilité masculine (**Saglam et al., 2008**).

Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente:

- Excès des espèces réactives d'O₂, N₂ ou Cl₂ ;
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes) ;
- Mécanismes de réparation insuffisants.

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré.

I.3.3 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de retarder et d'empêcher l'oxydation des macromolécules principalement les lipides, les protéines et l'ADN. Elles protègent les tissus des dommages causés par l'oxygène et/ou les radicaux libres (**Adil et al., 2007**).

1.3.4 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes ont été développées pour tester la capacité de piégeage d'un radical libre et l'activité antioxydante totale d'un extrait de plante (**Oszmianski et al., 2007**).

Parmi ces méthodes :

- **Méthode de réduction de radical DPPH**

Le composé chimique 2,2- diphényl -1-picrylhydrazyle (DPPH) possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation en solution provoque aussi la couleur bleue violette bien caractéristique de la solution de DPPH. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm (**Popovici et al., 2009**) En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl -1- picryl hydrazine de couleur jaune (**Maataoui et al., 2006**)

1.4 L'activité antilithésique

La lithiase urinaire constitue un problème de santé publique. Elle a un impact économique et sanitaire négatif sur la population car elle affecte préférentiellement une population active. Environ 10 % des patients lithiasiques ont des formes multi-

récidivantes de lithiase responsable d'une morbidité importante et pouvant aboutir aux formes les plus graves telle une altération de la fonction rénale ou même une insuffisance rénale terminale (**Sadki et Atmani, 2017**).

1.4.1. La lithiase urinaire

Définie comme un agrégat cristallin survenant dans le système collecteur de l'appareil urinaire (à la différence de la néphrocalcinose où ces agrégats cristallins surviennent dans le parenchyme rénal) et qui a atteint une taille suffisante pour aboutir à des manifestations cliniques ou être visible par l'imagerie. C'est une maladie caractérisée par la présence de calculs dans un organe ou dans son canal excréteur (**Benhalima, 2013**).

Les oxalates de calcium ou lithiase minérale, sont largement décrits comme étant les principales composantes inorganiques des calcifications pathologiques (**Leroy, 2016**).

1.5 L'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne est déterminée par plusieurs tests : « le germe-test » ; mesure des doses actives ; porte-germes ; doses minimales inhibitrices et bactéricides (CMI et CMB) (**Hamidi, 2013**).

Les agents antimicrobiens désignent tout agent chimique, physique ou biologique inhibant la croissance et/ou la survie des micro-organismes. Ces substances ayant une affinité pour les cellules des parasites et le pouvoir de les tuer plus fort que les dommages qu'elles causent à l'organisme ; ce qui rendra possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme (**Hamidi, 2013**).

MATERIEL

ET

MÉTHODES

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Le travail a été réalisé au laboratoire pédagogique du département de Microbiologie et de Biochimie de l'université Mohamed Boudiaf de M'silla.

- **Matériel**

Clevenger, Soxhlet, Rotavapeur (BUCHI), balance de précision (pbibrand) et de paillasse (KERN), Etuve (MEMMERT), Spectrophotomètre (SHIMADZU), papier wattman, Micropipettes, Embouts, Passoire, Tamis, Agitateur vortex (KAKI), Agitateur magnétique (KAKI), Portoirs tubes, Tubes secs, Tubes à vis, Tubes à essai, petite flacon transparent, Eprouvette graduée, Spatule, Boîtes en verre, flacons, Bec benzen, boîtes pétri, pipette pasteur.

- **Produits chimiques:**

Solvants organiques (acéton, méthanol, Ethanol, Acide sulfurique, Chloroforme, Acide acétique glacial, FeCl_3).

Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Folin – Ciocalteu, DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), trichlorure d'aluminium, l'eau distillée, DMSO (diméthylsulfoxyde) et Eau de javel.

Milieu de culture (Muller Hinton, gélose nutritive).

II.1 Matériel biologique

II.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est une variété de navet (*Brassica spp*), nommé *Left Saïdi* (ou navet sauvage), est rencontré et cultivé particulièrement dans la région de Sétif (Est de l'Algérie) et paraît-il aussi à Mascara et Tlemcen (Ouest de l'Algérie). Au Maroc, il est connu sous le nom *Left mahfor ou merdoun*.

L'espèce a été authentifiée par le Docteur Sari Djamel, enseignant écologiste au département SNV de l'université de M'sila.

Les racines du navet, partie comestible, ont été récoltées en novembre-décembre 2018, dans la commune de Ain Arnet située à 7 Km à l'Ouest de la wilaya de Sétif (Algérie). Située à une altitude de 1020m, une latitude de $36^\circ 11' N$, une longitude : $5^\circ 19' E$ et un étage bioclimatique semi-aride.

Ces racines sont utilisées pour l'extraction méthanolique mais pour l'extraction des huiles essentielles on a utilisé les graines, récupérées de chez le même agriculteur, de l'année précédente. L'origine de cette variété de navet est la région montagneuse de Messaâd (Nord de Sétif).



Graines



Rhizomes

Figure 03 : Les parties de *Brassica spp.* utilisées

II.1.2 Les souches testées

Les germes qui ont été testés pour détecter l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et des huiles essentielles de *Brassica spp* sont présentés dans le tableau 02 :

Tableau 02 : Les souches testées

Etat frais	Souches	Gram
Bacille	Escherichia coli ATCC 8739	Gram ⁻
	Bacillus subtilus ATCC 6633	
	Salmonella entevica ATCC 14028	
Cocci	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Gram ⁺

II.2 Méthodes

II.2.1 L'extraction de l'huile essentielle

Pour l'extraction des huiles essentielles on a utilisé les graines du navet étudié, récupérées de chez un agriculteur de la même région, de l'année 2018. Laver les graines à l'eau du robinet et rincées à l'eau distillée (A), filtrer puis sécher (B) avec du papier

absorbant, puis broyer finement dans un moulin à café (C). La poudre obtenue est soumise immédiatement à une extraction par clevenger (D).



Figure 04 : les étapes de préparation de l'échantillon pour l'huile essentielle.

II.2.1.1 Méthode d'extraction de l'huile essentielle

Un volume de 1000 ml d'eau distillée est ajouté à 100 g de poudre de la matière végétale, dans un ballon de 2000 ml, ensuite, elle est mise en hydro distillation pendant 03 heures d'ébullition dans le Clevenger. Les vapeurs chargées d'huile en traversant le réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile ainsi obtenue est mise dans des piluliers en verre ambré et conservée au congélateur jusqu'à utilisation (**Lamamra, 2018**).

Le rendement (R) de l'huile essentielle (HE) est exprimé en pourcentage (%) et obtenu par la formule suivante :

$$RH \% = MH / MP \times 100 \text{ (Lamamra, 2018)}$$

MH : Masse d'huile essentielle récupérée (g).

MP : Prise d'essai de la poudre des graines (g).

RHE : Rendement en huiles essentielles (%).

II.2.2 l'extraction de l'extrait méthanolique

Après être préalablement bien lavés à l'eau du robinet et rincés à l'eau distillée (A'), éplucher pour obtenir les racines ont été coupés en rondelles très fines (B') et séchés, à l'abri

des rayons solaires (C') afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, puis broyées finement dans un moulin à café (D'). La poudre obtenue est soumise à une extraction par soxhlet (figure 06), en utilisant le méthanol comme solvant.

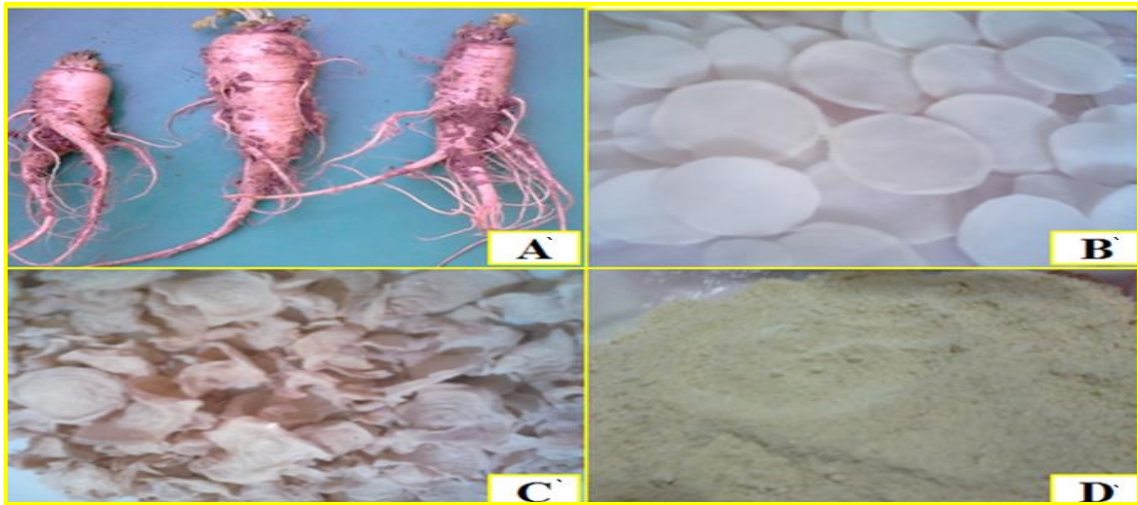


Figure 05 : les étapes de préparation de l'échantillon pour l'extrait méthanolique.

II.2.2.1 Méthode d'extraction de l'extrait méthanolique

Le volume de solvant doit être approprié à la quantité de matière végétale à extraire. Dans notre cas nous avons utilisé 24 g de poudre pour 600 ml de solvant organique. Le méthanol est éliminé par évaporation sous pression réduite à 40°C en utilisant un Rotavapeur (BUCHI). Cette opération a permis ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur brune.



Figure 06 : L'appareil d'extraction (soxhlet).



Figure 07 : L'appareil rotavapeur type BUCHRI.

Calcul du rendement

Le rendement indique la masse de l'extrait méthanolique exprimé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \left(\frac{Ps}{Ph} \right) \times 100 \text{ (Attou, 2011)}$$

Ps : Poids de l'extrait après évaporation.

Ph : Poids de la poudre végétale de départ.

II.3 Méthodes de dosage

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur les extraits de *Brassica spp.*

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

La teneur totale en composés phénoliques a été estimée par la méthode de Folin – Ciocalteu, qui consiste à utiliser ce réactif qui est réduit par les groupes hydroxyles phénoliques, conduisant à la formation d'un produit bleu en solution alcaline (Aouachria, 2017).

- **Mode opératoire**

En bref, 200 μ l de extrait méthanolique ont été ajoutés à 1 ml de solution de Folin-ciocalteu diluée au 1/10. Réactif. Après 4 min, le mélange réactionnel a été neutralisé avec 800 μ l de carbonate de sodium saturé (75 g / l). Par la suite, le secoué on a laissé le mélange reposer pendant 2 h à la température ambiante, puis mesurée à 765 nm. De l'acide gallique (20–140 mg / l) a été utilisé pour courbe d'étalonnage standard. Les résultats ont été exprimés en μ g d'acide gallique équivalent (GAE) / mg d'extrait (Aouachria, 2017).

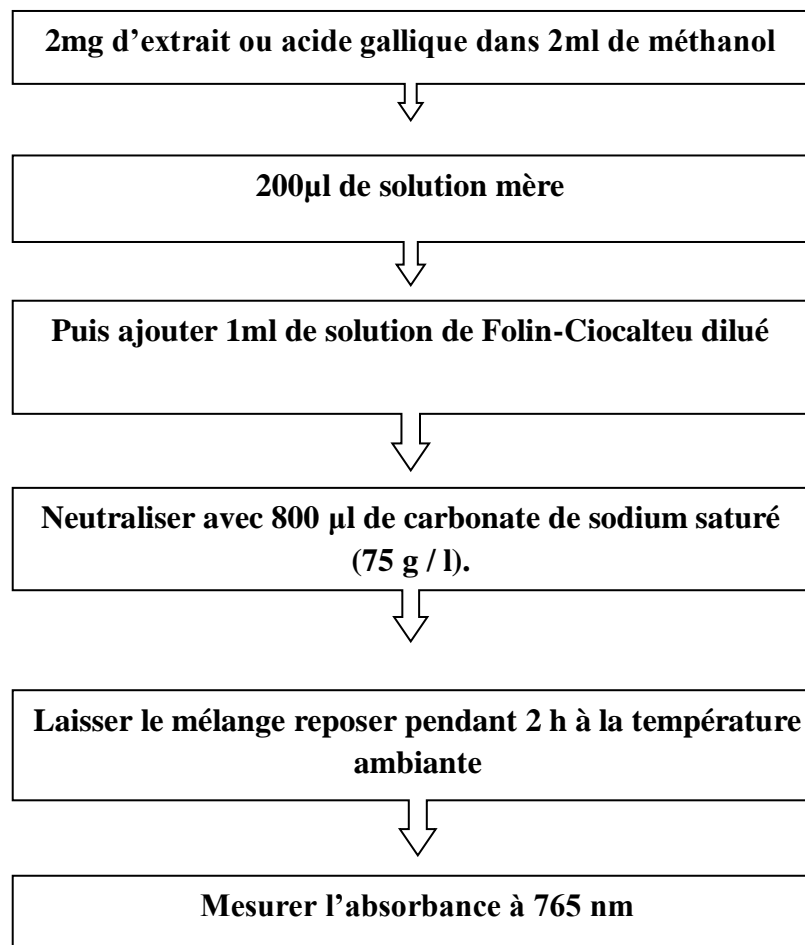


Figure 08 : les étapes du dosage de polyphénols.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Les flavonoïdes sont le type de polyphénol possédant un groupement OH libre en position 5, susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} , l'intensité de la coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Tigrine, 2016**).

- **Mode opératoire**

La méthode $AlCl_3$ a été utilisée pour déterminer la teneur totale en flavonoïdes *Brassica spp*, utilisant la réaction de complexes formation entre flavonoïdes et chlorure d'aluminium. Aliquotes de 1 ml d'extrait ont été ajoutés à des volumes égaux d'une solution de $AlCl_3$ à 2%. Le mélange a été vigoureusement secoué et l'absorbance a été lue à 430 nm après incubation dans l'obscurité à la température ambiante pendant 10 min. La

quercétine (1–40 mg / l) ont été utilisés comme étalons pour la courbe d'étalonnage.

Le contenu en flavonoïdes était exprimé en μg d'équivalent de quercétine (QE) /mg d'extrait (Aouachria, 2017).

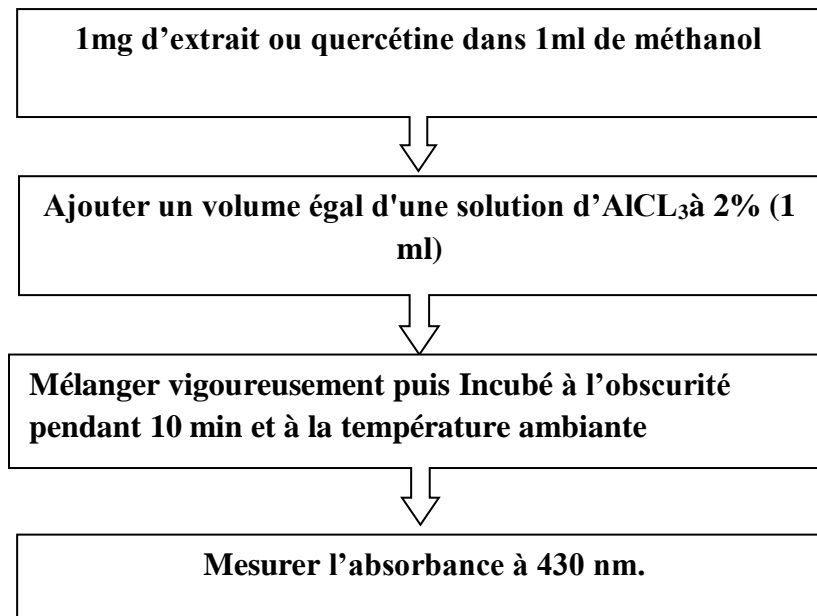


Figure 09 : les étapes du dosage des flavonoïdes.

II.4 Criblage phytochimique

Selon Ziane, 2016 le screening phytochimique a pour objectif de détecter les principaux métabolites secondaires existants dans un extrait, via une analyse qualitative, par des réactions de coloration/précipitation.

- **Produit végétal épuisé avec l'eau distillée**

Dans un bêcher on met 3g de matière végétale en présence de 20ml d'eau distillée, porter l'ensemble sur une plaque chauffante pendant 10 min à une température inférieure à la température d'ébullition, filtrer le mélange, puis soumettre l'extrait aux tests suivants:

Saponosides

Refroidir la solution et ajouter 8 ml de la solution dans un tube à essai, puis on agite fortement pendant 60 secondes et on laisse reposer 30 secondes et on mesure la hauteur de la mousse.

Cardinolids

3g d'extrait de matière végétale macérée dans 20ml d'eau distillée pendant 24 heures. Filtrer la solution, puis on fait une extraction de 10ml du filtrat avec 10ml du mélange chloroforme/éthanol évaporer la phase organique et dissoudre le résidu dans 3ml d'acide acétique glacial, ajouter quelques gouttes de FeCl_3 et 1ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition de la couleur bleue verte dans la phase acétique indique l'existence des cardinolides.

- **Produit végétal épuisé avec l'éthanol 50 %**

Mettre 3g de matière végétale en présence de 20ml d'éthanol dans un bêcher porter l'ensemble sur une plaque chauffante pendant 15 min, filtrer le mélange puis soumettre l'extrait éthanolique aux tests suivants :

Tanins

Traiter 5ml de la solution avec quelques gouttes de FeCl_3 . L'apparition d'une coloration verte indique l'existence des tanins.

- **Produit végétal épuisé avec le chloroforme**

Dans un bêcher en met 3g de matière végétale en présence de 20ml de chloroforme CHCl_3 . Porter l'ensemble sur une plaque chauffante pendant 15 min, filtrer le mélange ensuite soumettre l'extrait aux tests suivants :

Stérols insaturés et terpènes

Mettre le filtrat dans un tube a essai, ajouter 1ml de H_2SO_4 avec précaution sur les parois du tube l'apparition à l'intersection entre les deux phases d'une couleur verte qui se transforme en rouge signale l'existence des stérols insaturés et terpènes.

Tableau 03 : Criblage phytochimique (Ziane, 2016)

Groupes chimiques	Réactifs et résultats positifs
Les tanins	$\text{FeCl}_3 \rightarrow$ une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre
Saponosides	Apparition de la mousse
Stérols et tri terpènes	Liebermann-Burchard (chloroforme puis acide sulfurique) \rightarrow verte en rouge.
Cardinolids	la réaction de acide sulfurique, Chloroforme, Acide acétique glacial, FeCl_3). \rightarrow coloration bleu vert.

II.5 Les tests des activités biologiques

II.5.1 Activité antioxydante

II.5.1.1 Le test de piégeage du radical DPPH

- **Principe**

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à exercer un effet Scavenger sur le radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl). Le radical DPPH est réduit en hydrazine lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune. L'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antiradicalaire (**Tigrine, 2016**).

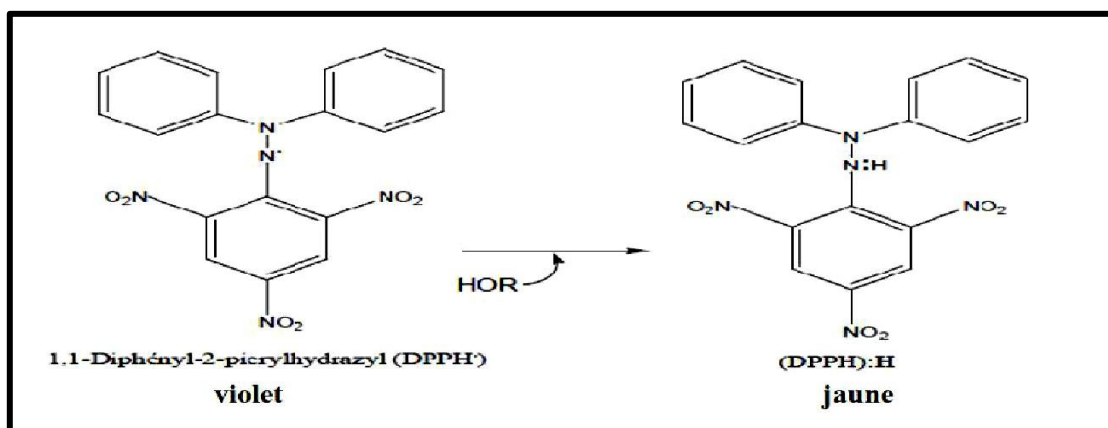


Figure 10 : la formule de réduction de DPPH.

- **Mode opératoire**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (**Tigrine, 2016**). Un volume de 100µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1 ml de la solution méthanoïque du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 100µl du méthanol avec 1ml d'une solution méthanoïque de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Des standards de référence (BHT) ont également été analysés en respectant la même procédure. (Figure ci-dessous).

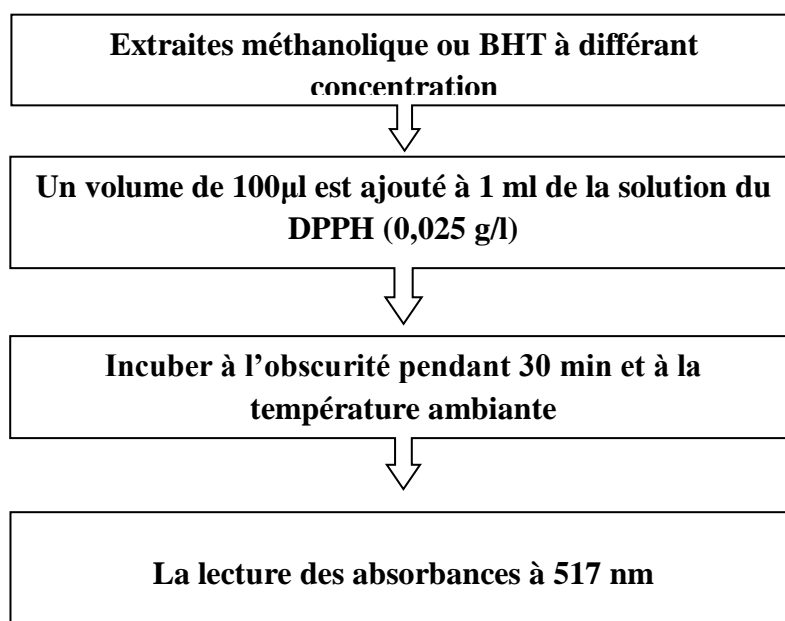


Figure 11 : Les étapes de l'évaluation de l'activité antioxydante.

Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Pourcentage d'inhibition du radical DPPH} = \frac{|\text{témoin}| - |\text{échantillon}|}{|\text{témoin}|} \times 100$$

- **Calcul de la concentration inhibitrice (IC₅₀) :**

Le résultat de l'IC₅₀ (la concentration du substrat qui cause une inhibition de 50% de l'activité de DPPH) ont été exprimé par la régression linière en utilisant le logicielle EXCEL (2010) (Tigrine, 2016).

II.5.2 Activité antimicrobienne

II.5.2.1 Activité antibactérienne

C'est une méthode de mesure in- vitro du pouvoir antibactérien des composées. La technique utilisée est celle de contact direct qui compte deux méthodes : la méthode des puits et la méthode de diffusion. On a adopté la dernière, qui est une vieille méthode, mais toujours d'actualité puisqu'elle est encore utilisée fréquemment dans les laboratoires de bactériologie pour la mesure du pouvoir antibactérien des antibiotiques de synthèse (Ziane, 2016).

- **Repiquage des espèces bactériennes**

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

- **Préparation de l'inoculum**

des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant 24 heures à 37°C.

Après révification des souches, on mesure la concentration des souches selon la loi de Lambert (0.08-0.1 à 620 nm).

- **Préparation des disques**

Des disques de papier Wathman n°1 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15- 20 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait méthanolique (brute ou dilue) ou huile essentielle à tester, des disques imprégnés de DMSO sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif.

- **Ensemencement**

Des boites de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques contenant les produits à tester (extrait méthanolique et huile essentielle) sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable. L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24-48 h d'incubation à 37° C.

- **Lecture**

Après la culture, la lecture s'effectue en mesurant sur chaque disque le diamètre d'inhibition du principe actif. Cette distance centimétrique est ensuite reportée sur l'échelle de concordance afin que la souche soit interprétée en sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-

vis du principe actif étudié. La mesure de la zone d'inhibition a lieu après 24-48 h d'incubation à 37 °C.

Remarque : on utilise l'antibiotique synthétique Pipéracilline (PIP) comme contrôle positif.

II.5.3 Activité antilithiasique

La lithiase est définie comme le résultat d'une précipitation anormale des constituants normaux de l'urine à l'intérieur du tractus urinaire, ou bien c'est la condition où les calculs urinaires sont formés ou localisés à n'importe quelle place dans le système urinaire (Sekkoum, 2012).

- **Principe**

Dans cette partie, on évalue le pouvoir antilithiasique (lithiase rénale de type oxalate de calcium) de l'extrait méthanolique de *Brassica spp.*, in vitro. Les aspects à mettre en évidence :

L'effet de l'extrait méthanolique de *Brassica spp.* sur la dissolution ou non des cristaux d'oxalate de calcium $\text{Ca}_2\text{C}_2\text{O}_4$ in vitro. On utilise le type oxalate de sodium $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ qu'on mélange avec deux solutions :

- le chlorure de calcium (CaCl_2) cette étape appelée sans inhibiteur ;
- Avec les extraits végétaux (inhibiteur) et avec l'acide citrique (inhibiteur) ce dernier utilisé comme référence. Cette étape appelée avec inhibiteur.

- **Mode opératoire**

Préparation des solutions mères (première étape) figure 12:

D'abord préparer l'eau physiologie par solubiliser 0,87g de NaCl dans 100 ml de l'eau distillée, ensuite on prend 7 mg soit par chlorure de calcium soit par oxalate de sodium sont versés dans 15 ml de l'eau physiologie et pour acide citrique ou l'extrait volume par volume (mg/ml).

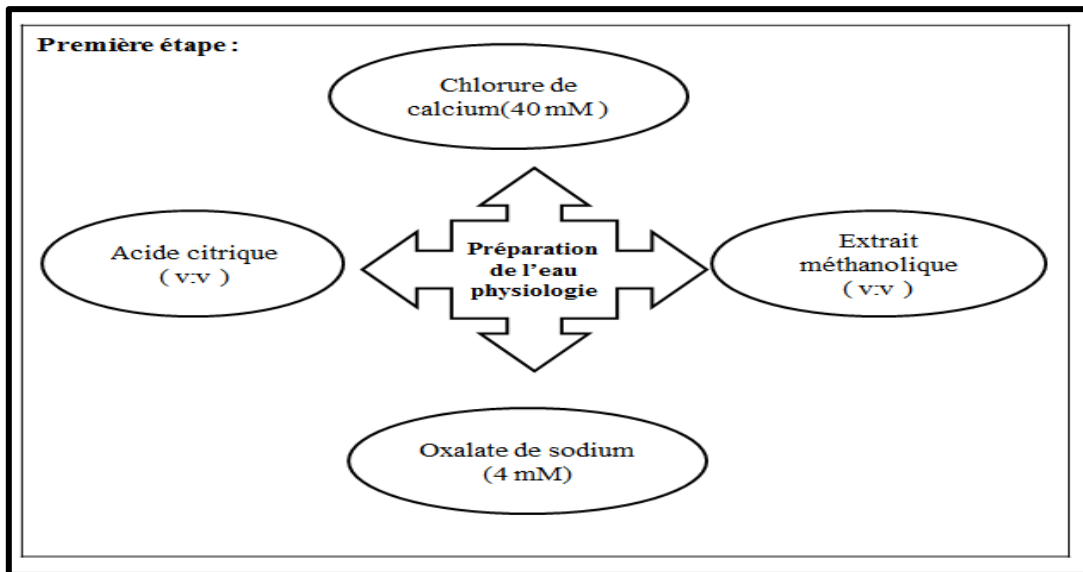


Figure 12 : Préparation des solutions mères.

On a mélangé les solutions selon le protocole (Sekkoum, 2012) de l'activité antilithiasique in vitro (Deuxième et troisième étapes) : avant on commence à régler le spectrophotométrique à 620 nm puis tarer avec du méthanol.

Avec l'inhibiteur : Dans une cuve ajout de 500 μl de l'inhibiteur (extrait ou acide citrique) avec de 500 μl de chlorure de calcium puis autoséro après ajouter de 500 μL oxalate de sodium directement mesurer l'absorbance immédiate à chaque 10 seconde jusqu'au arriver la finité de la phase de cristallisation .

Sans inhibiteur : Dans une cuve on ajoute 700 μl d'oxalate de sodium (SM) avec 700 μl de chlorure de calcium (SM) directement mesurer l'absorbance ensuite à chaque 10 secondes jusqu'arriver à la finité de la phase de cristallisation.

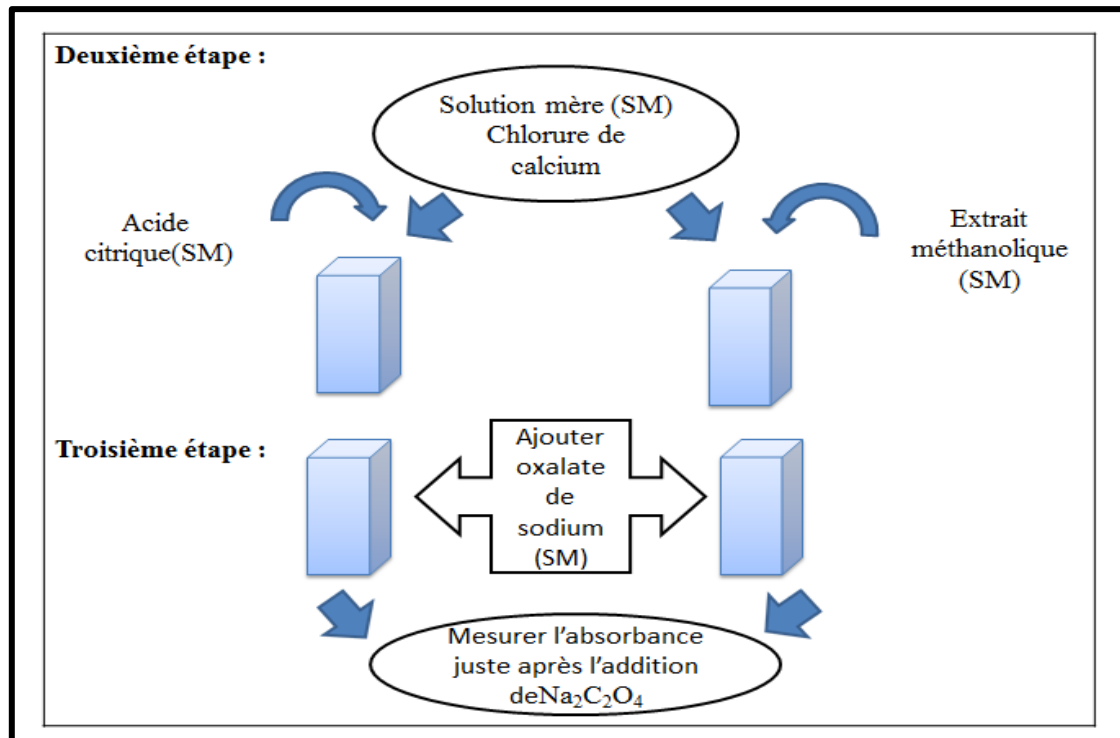


Figure 13 : Mode opératoire pour réaliser l'activité antilithiasique.

$$\text{TI \%} = \frac{a_{\text{O}} - a_{\text{Ech}}}{a_{\text{O}}} \times 100$$

a_{Ox} : l'absorbance de l'oxalate.

a_{Ech} : l'absorbance de l'échantillon.

NB. Ech : échantillon soit l'Extrait ou l'acide citrique.

II.5.4 Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm SD. Les expériences ont été réalisées pour comparer entre deux moyennes (Test *t*) et entre trois ou plus moyennes on a utilisé l'ANOVA avec le logiciel «Graph Pad ». Une différence a été considérée comme statistiquement significative lorsque $p < 0,05$.

RÉSULTATS
ET
DISCUSSION

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1 Rendement

III.1.2 l'extrait méthanolique

Le rendement de l'extrait méthanolique, de la poudre de *Brassica spp.* est de 44,14%. On remarque que ce rendement est très élevé comparativement à celui du radis noir, obtenu par **Hamhami, en 2013** qui est de 11%.




Figure 14 : L'aspect de l'extrait méthanolique.

Après presque une semaine de séchage de l'extrait méthanolique, son aspect apparaît de couleur brune et de texture visqueuse.

III.1.3 l'huile essentielle

Le rendement de l'huile essentielle des graines de *Left Saïdi (Brassica spp.)* obtenu par l'hydrodistillation est de 17%. On remarque que ce rendement est faible par rapport, par exemple, à celui des graines de colza estimé à 33.14% (**Jablaoui, 2018**).

Tableau 04 : Propriétés de l'huile essentielle extraite des graines de *Brassica spp.*

L'huile essentielle	Aspect	Couleur	L'odeur
	Liquide à température ambiante, reste liquide au congélateur.	Jaune claire	Désagréable

L'huile essentielle est habituellement liquide à température ambiante et volatile. Elle est moins colorée et sa densité est en général inférieure à celle de l'eau.

III.2 Dosage des polyphénols et flavonoïdes

L'observation de la couleur bleu après 2 h d'incubation indique la présence des polyphénols qui ont réduit le réactif Folin-ciocalteu. L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux de polyphénols présents dans l'extrait.

Une couleur jaunâtre est formée après 10 min dans l'extrait de navet suite à l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans l'extrait analysé.

Pour la détermination quantitative des polyphénols de l'extrait méthanolique de *Brassica spp.* On a utilisé la gamme d'étalonnage (Figure15) d'acide gallique ayant l'équation ($y = 0,0114x - 0,0438$, $R^2 = 0,9939$).

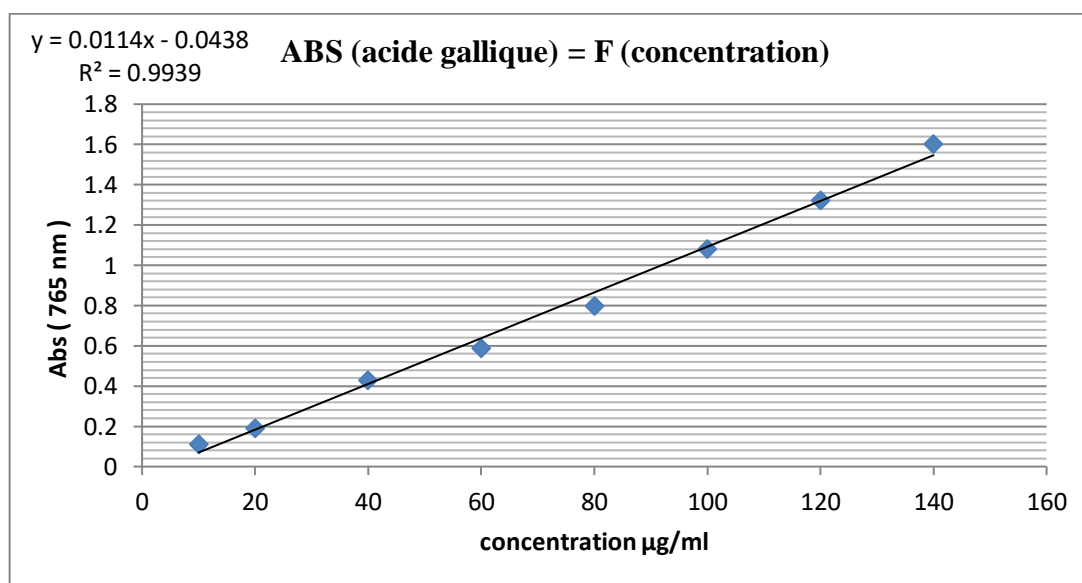


Figure 15 : Courbe d'étalonnage des polyphénols.

Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait. La teneur en polyphénols totaux est de $32,50 \pm 4,01629 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait. Des études similaires faites au Brésil et en France (Faller et Fialho 2009 et Méloetal 2006 au Brésil; Bratetal 2006), sur la pomme de terre, ont révélé, respectivement, $43,2 \mu\text{gEAG/mg}$; $23,1 \mu\text{gEAG/mg}$; $31,5 \mu\text{gEAG/mg}$ et sur la carotte, ont trouvé les valeurs suivantes : $45,1 \mu\text{gEAG/mg}$; $12,9 \mu\text{gEAG/mg}$; $10,1 \mu\text{gEAG/mg}$, respectivement.

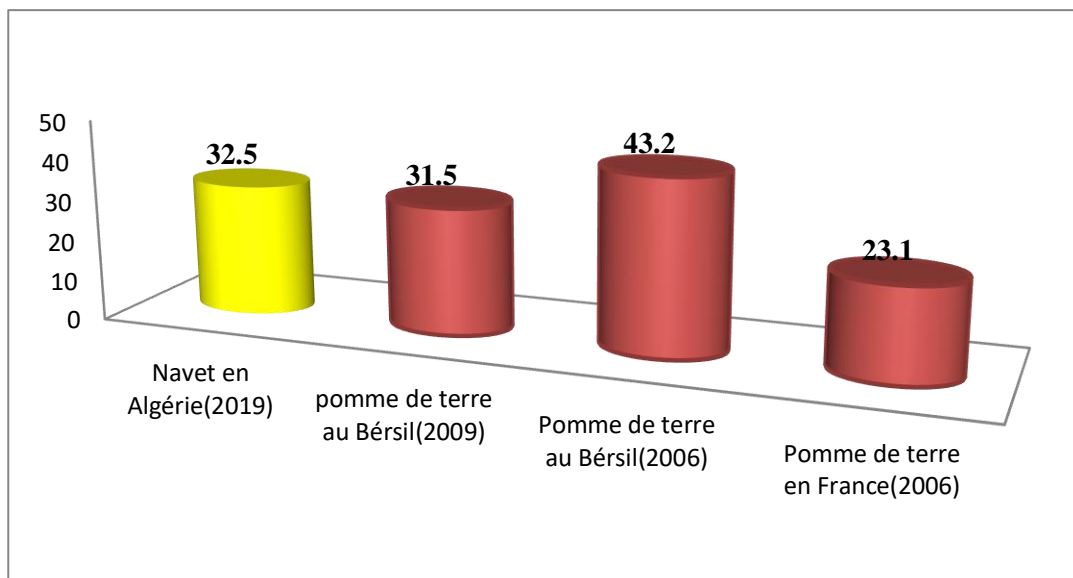


Figure 16 : Comparaison des teneurs en polyphénols entre navet et pomme de terre.

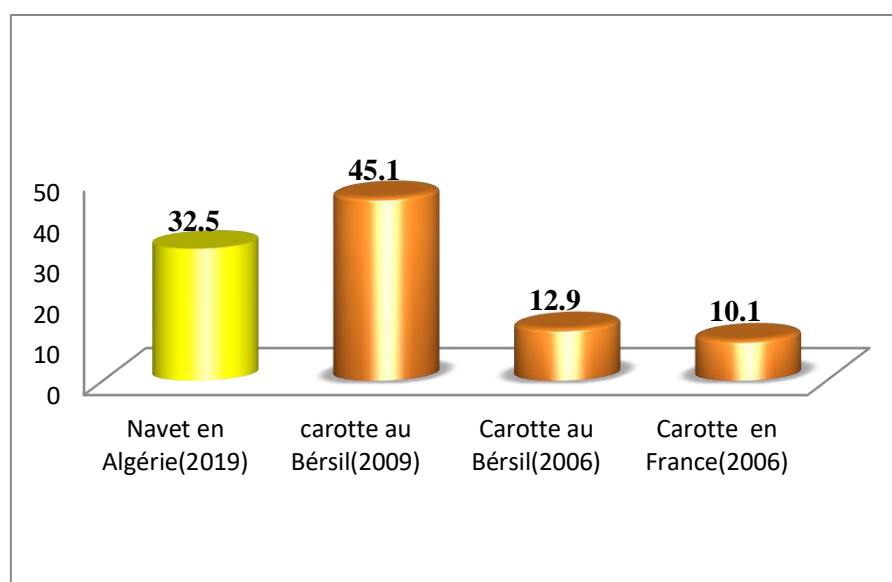


Figure17: Comparaison des teneurs en polyphénols navet et carotte

Les flavonoïdes constituent la classe des polyphénols la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (**Gomez-caravaca et al., 2006**).

Pour les flavonoïdes, on a utilisé la gamme d'étalonnage (Figure 18) de la quercétine ayant l'équation ($y = 0,0124x - 0,087$, $R^2 = 0,9979$) et les résultats sont exprimés en $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

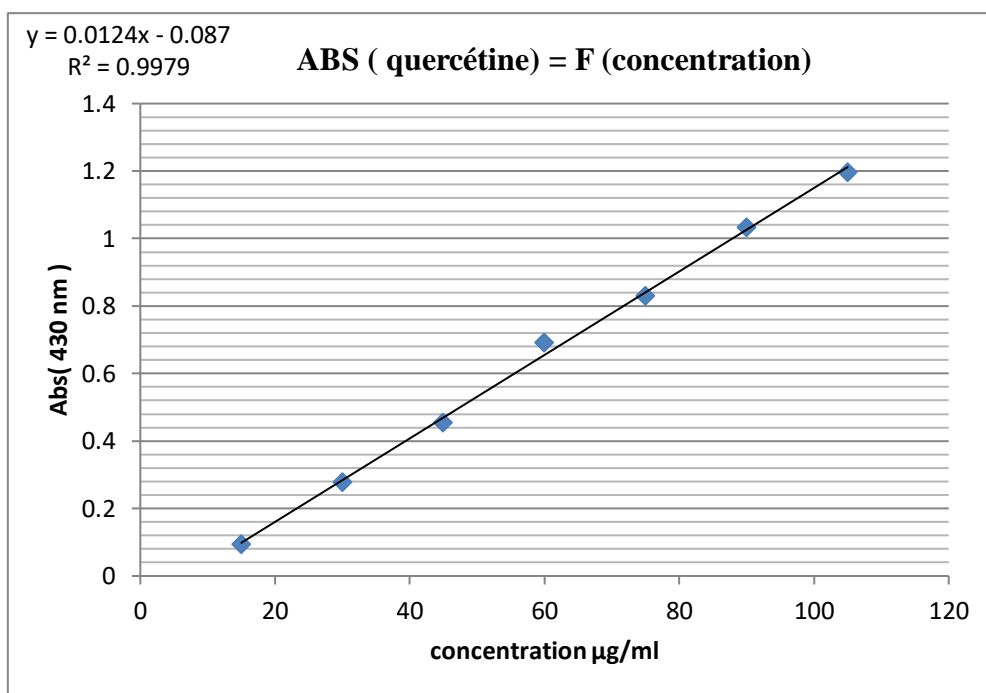


Figure18 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

La quantification de flavonoïdes a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage, est de $17,58065 \pm 0,769306 \mu\text{g EQ /mg}$ d'extrait. On remarque que cette teneur est beaucoup plus forte comparativement à la valeur de l'étude réalisée par **Kadri** en **2015** sur pomme de terre, qui est de l'ordre de $1.07 \pm 0.09 \mu\text{g EQ /mg}$ d'extrait (figure 19).

Malheureusement il n'y a d'études consacrées à cet aliment, ce qui nous a poussé à comparer les résultats du légume *Brassica spp.* avec ceux d'autres légumes de la même famille ou non.

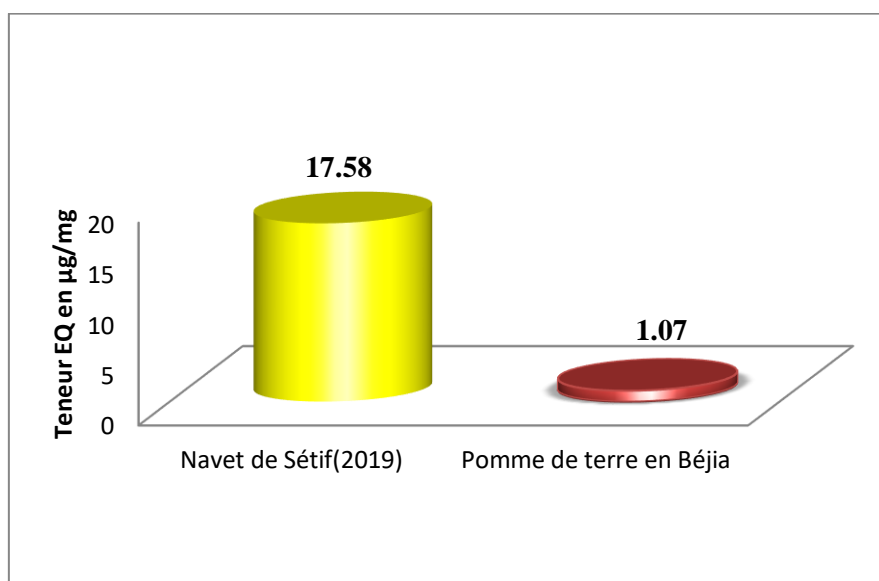


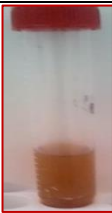



Figure 19 : les teneurs en flavonoïdes de deux extraits méthanolique.

Dans notre étude on constate que la teneur en flavonoïdes du navet (*Brassica spp*) est égale à la moitié de la teneur en polyphénols.

Remarque : On peut attribuer cette variation des teneurs, des polyphénols et des flavonoides, à la plante, son origine géographique, les facteurs climatiques, la partie de la plante étudiée et la méthodologie appliquée.

III.3 Résultats du criblage phytochimique

Tableau05 : les substances phytochimiques de l'extrait méthanolique (*Brassica spp*).

Groupes chimiques	La présence ou absence	Résultats observés
Tanins	-	
Saponosides	+	
Stérols et tri terpènes	+	
Cardinolids	+	

+ : présence ; - : absence

Les résultats du screening phytochimique montre l'absence des tanins dans notre échantillon. Selon la bibliographie, la concentration des tanins se trouve généralement dans l'écorce, comme on a utilisé le légume épluché (sans écorce), cela pourrait être la raison.

III.4. Résultats des activités biologiques

III.4.1. Activité antioxydante

Gabriela et al., 2013 indique que la méthode du radical DPPH Scavenger est très utilisée dans l'évaluation de la capacité des extraits de plantes à réduire l'effet des substances oxydantes.

Le radical libre DPPH est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les extraits testés, il permet l'estimation de l'activité antioxydante de l'extrait. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité antiradicalaire de l'extrait, et dépend de la nature, la concentration et la puissance de cet extrait.

On remarque que l'activité antiradicalaire des échantillons évolue avec l'augmentation des concentrations et que le pourcentage d'inhibition augmente progressivement jusqu'à atteindre un plateau. Le pourcentage d'inhibition (IC_{50}) radical DPPH par BHT $16,03 \pm 1,16$ mg/ml et celui de l'extrait est $84,06 \pm 2,68$ mg/ml.

Selon les résultats, illustrés ci-dessous (figure 20), on remarque que l'extrait méthanolique de la plante étudiée possède une activité antioxydante faible comparativement au standard, Le pourcentage d'inhibition de 50%, déduit à partir des courbes de pourcentages d'inhibition du standard et de l'échantillon, en utilisant le logiciel GraphPad Prism (version 08), est un important paramètre pour l'évaluation de l'activité antioxydante ; plus cette valeur (IC_{50}) est faible plus l'activité antioxydante est puissante.

On remarque que l'allure de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (Annex 02) est presque une droite de type : $y=ax+b$. La lecture de cette droite montre que le pourcentage d'inhibition ou le piégeage des radicaux libres DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait méthanolique brut. La lecture du graphe nous a permis aussi d'estimer la concentration à partir de laquelle 50% des radicaux libres ont été réduits, elle est de l'ordre de $84,06 \pm 2,68$ mg/ml. Cette valeur indique bien que notre extrait a une activité antioxydante faible par rapport à celle du standard ($16,03 \pm 1,16$ mg/ml.)

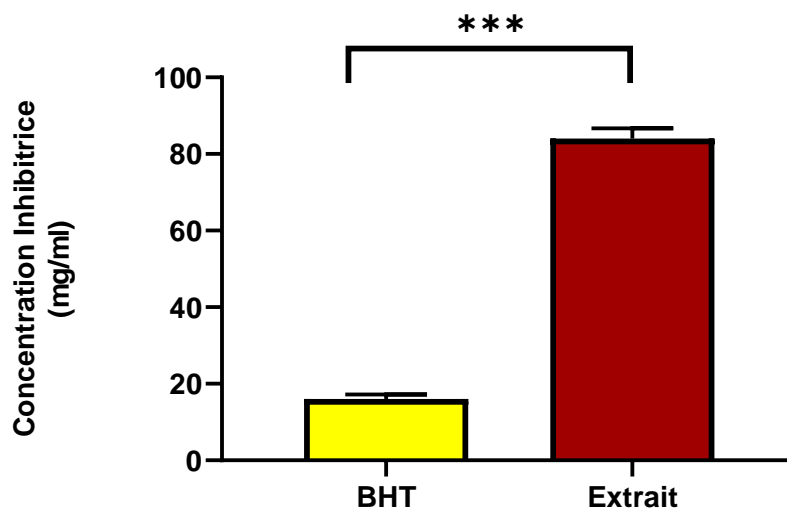


Figure20 : l'effet antiradicalaire de la plante *Brassica spp.*

III.4.2 Activité antimicrobienne

Selon les résultats, illustrés ci-dessous (Tableau 6), on remarque que l'extrait méthanolique et l'huile essentielle, à concentration déterminée (effet dose/réponse) de l'extrait de la plante étudiée, possèdent une activité antimicrobienne.

Tableau 06 : Résultats du diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique.

Souches	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)		
	500	800	1000
<i>Escherichia-coli</i>	0,9	0,9	0,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,4	0,6	0,6
<i>Bacillus subtilus</i>	1,2	0,6	0,6
<i>Salmonella entevica</i>	1,1	0,6	0,6

On observe que l'extrait de *Brassica spp.* a un effet inhibiteur sur les quatre bactéries testées, à 500 mg/ml (Figure21). *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus sensible suivit de *Bacillus subtilus*. *E. coli* et *Salmonella entevica* sont moins sensibles à notre extrait.

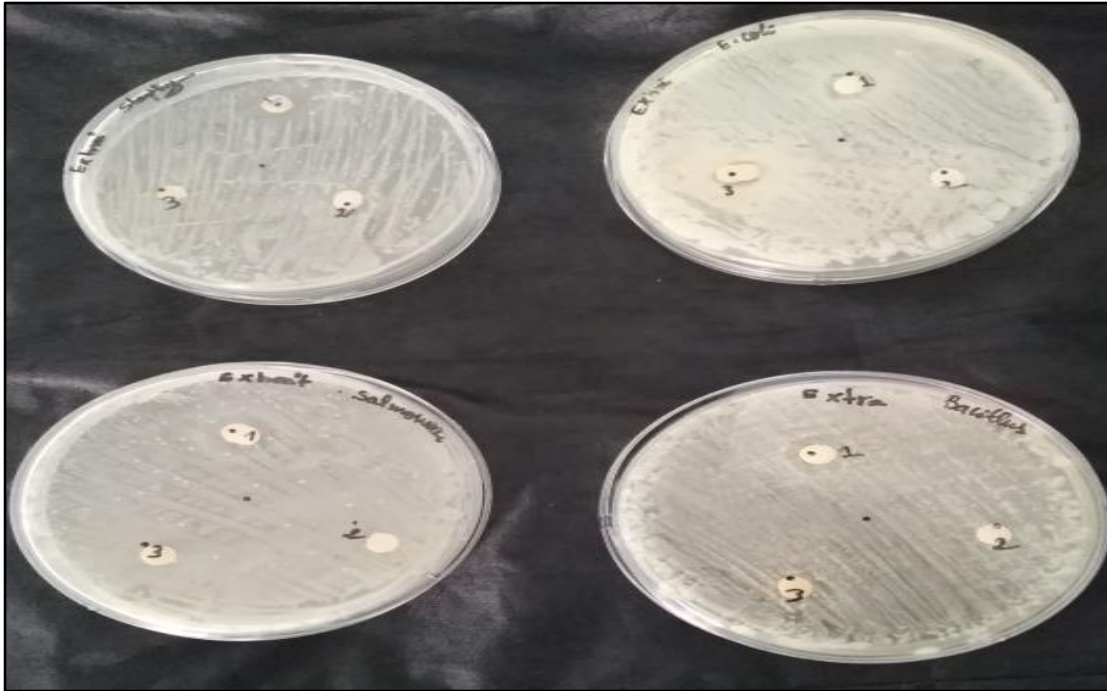


Figure 21 : L'activité antibactérienne pour les différentes concentrations de l'extrait.

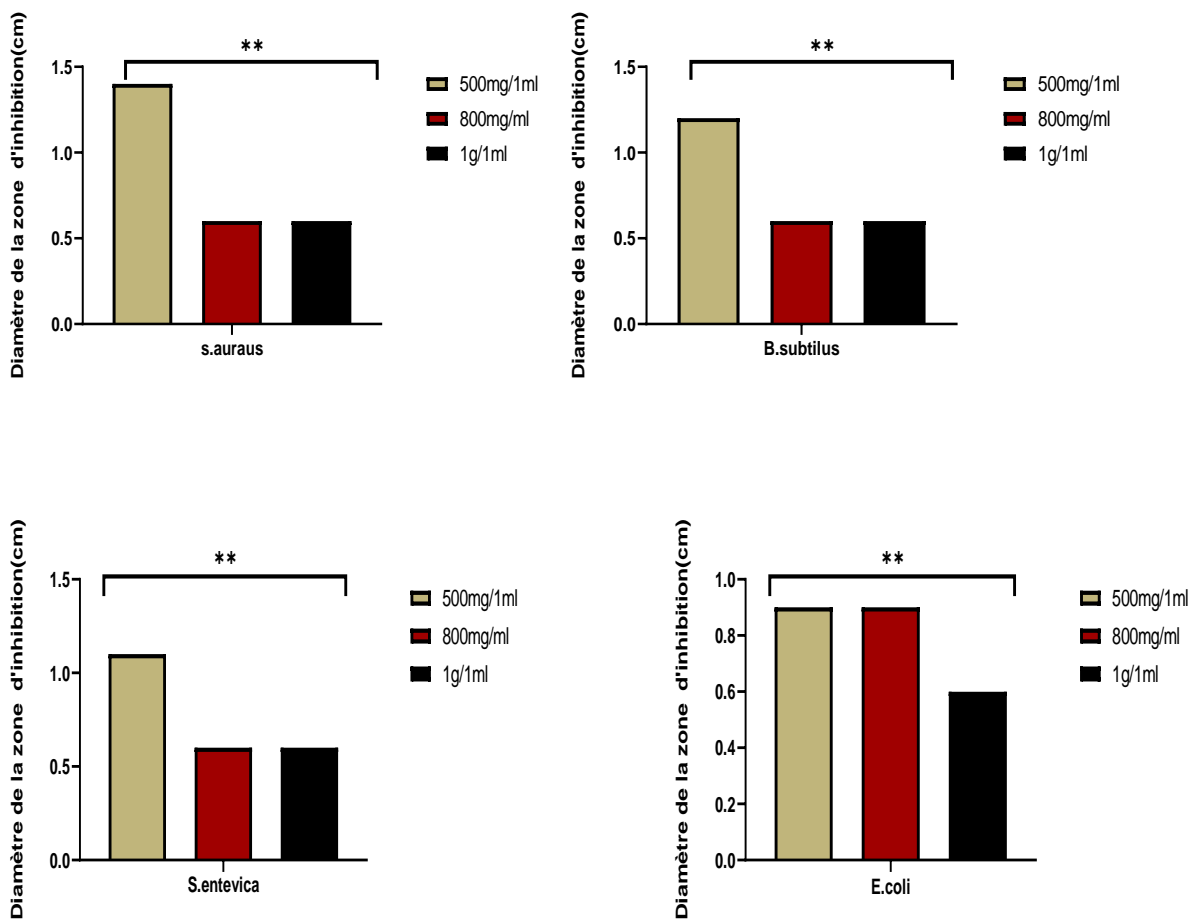


Figure 22 : Le diamètre de la zone d'inhibition des souches testées en fonction des Différentes concentrations de l'extrait méthanolique.

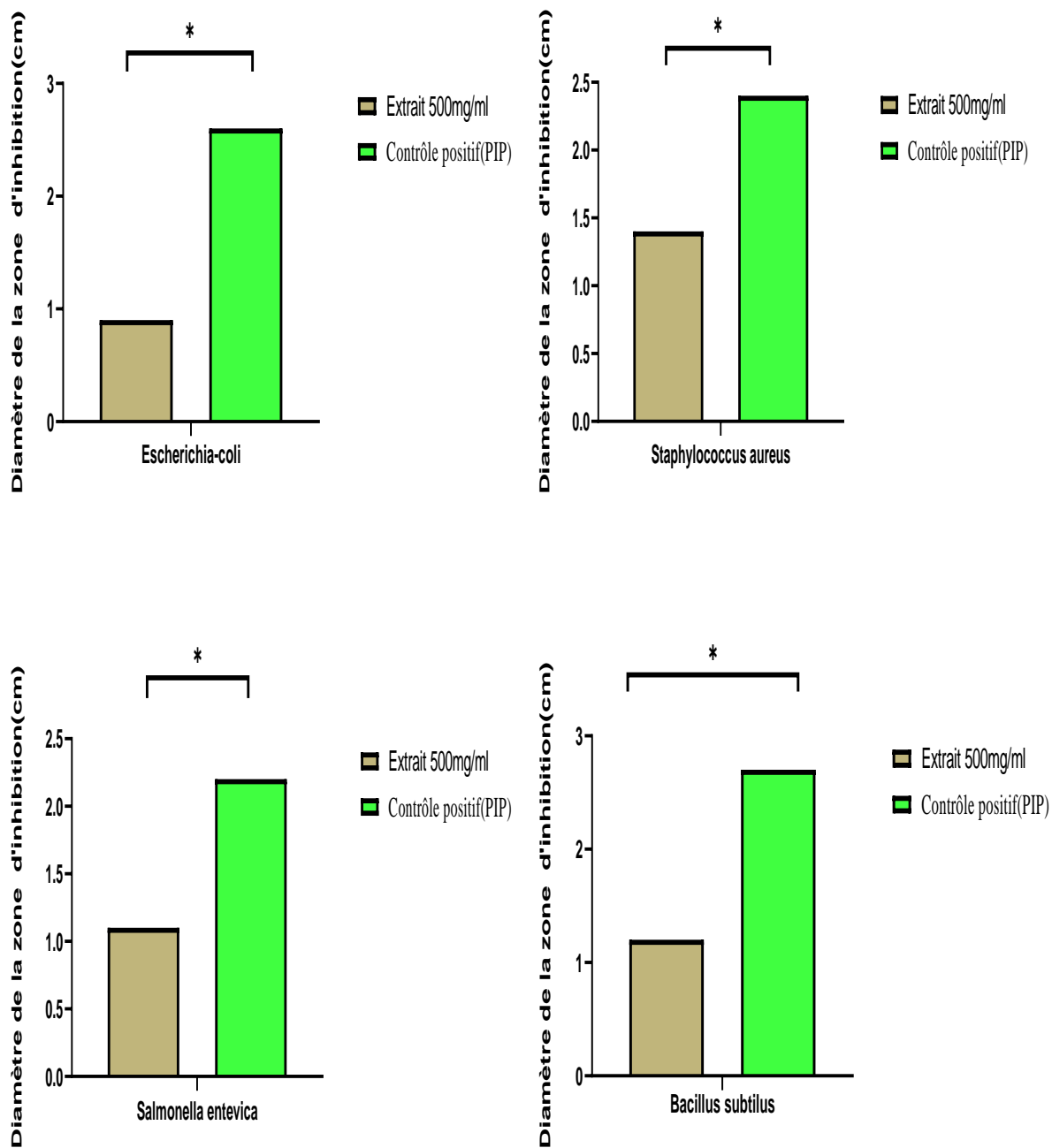


Figure 23 : Concentration inhibitrice de l'extrait méthanolique et le contrôle positif.

Tableau 07 : Résultats du diamètre de la zone d'inhibition.

Souches Résultat d'extraction brute avec contrôle+	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)		
	Extrait brute	Huile brute	Contrôle positif (PIP)
<i>Escherichia-coli</i>	0,6	0,6	2,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,6	0,6	2,4
<i>Bacillus subtilis</i>	0,6	1,1	2,7
<i>Salmonella entevica</i>	0,6	0,6	2,2

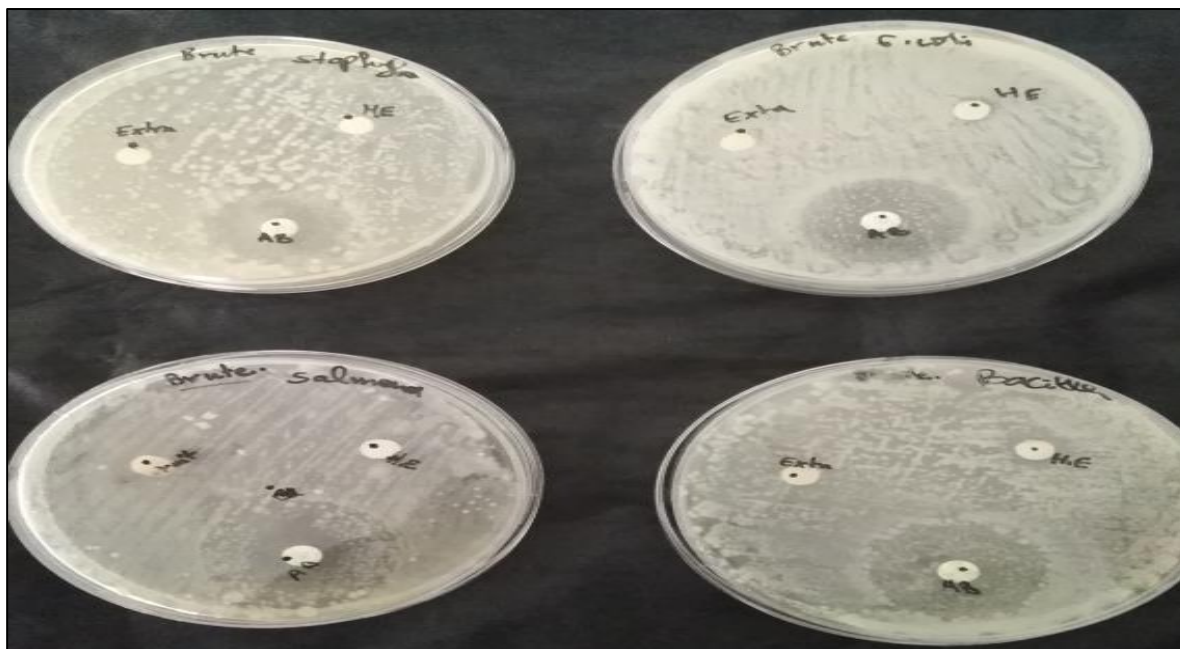


Figure 24 : L'activité antibactérienne de l'extrait et huile essentielle brutes avec les contrôles positifs.

On observe pour l'huile essentielle brute inhibe la croissance *B.subtilis* seulement, pour extrait brute aucun effet.

Tableau 08 : Résultats du diamètre de la zone d'inhibition des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Brassica spp.*

Souches Concentration ($\mu\text{L}/15\mu\text{L}$)	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)			
	30	75	150	250
<i>Escherichia-coli</i>	0,6	0,6	0,6	0,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,6	0,6	0,6	0,6
<i>Bacillus subtilis</i>	1,0	0,8	0,7	0,6
<i>Salmonella entevica</i>	0,7	0,8	0,8	0,8



Figure 25 : L'activité antibactérienne en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle.

On remarque que l'huile essentielle diluée de *Brassica spp.* a montré un effet inhibiteur efficace seulement sur la croissance de *B. subtilis* et *S. enterica* (Figure 25).

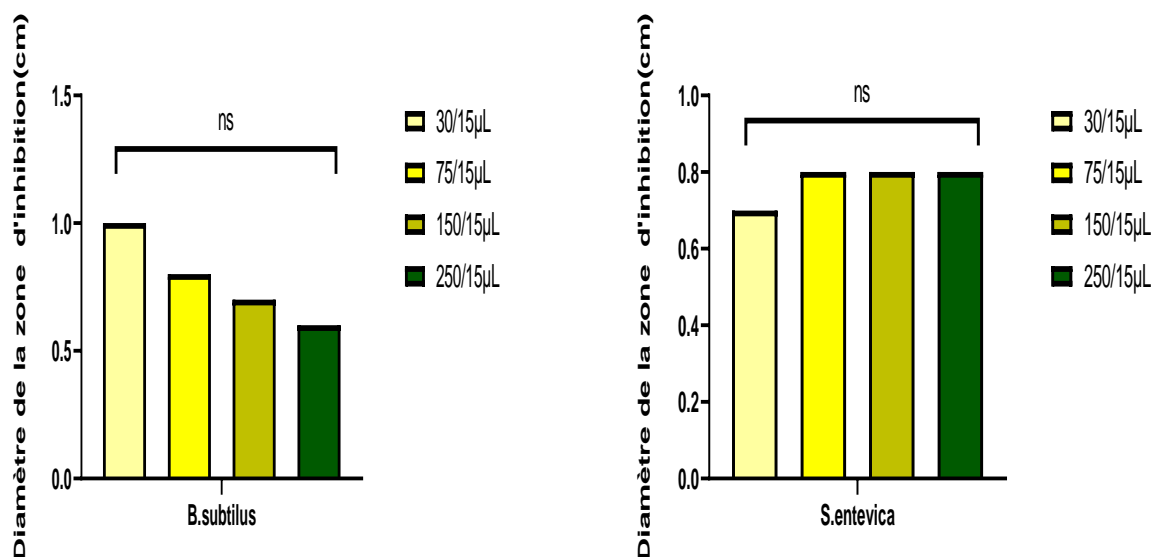


Figure 26 : Diamètre de la zone d'inhibition (cm) pour différentes concentrations de l'huile essentielle sur les souches testées.

Concernant l'activité antibactérienne on peut conclure que, d'après les résultats représentés dans les tableaux (6-7) et les figures (21-24), l'extrait méthanolique, à dose déterminée, de *Brassica spp* a une meilleure activité antibactérienne que l'huile essentielle. L'extrait méthanolique est plus efficace sur les bactéries à Gram positif, contrairement aux bactéries à Gram négatif qui sont plus sensibles à l'huile essentielle. Les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes à l'extrait grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatif est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (Malecky, 2008). Donc, l'extrait méthanolique de *Brassica spp*. possède des propriétés antibactériennes qui sont de type polyphénoliques (flavonoïdes) spécifiques qui attaquent beaucoup plus les bactéries à Gram positif.

Il existe aussi, d'autres mécanismes d'action des composés phénoliques et sans doute, très complexe. Plusieurs hypothèses ont été avancées, afin d'élucider leur activité contre de nombreux microorganismes, dont : l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes (protéases), la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou chélation des métaux (tels que le fer) et l'inhibition du métabolisme microbien (Mekhoukhe, 2008).

D'après les résultats, représentés dans les tableaux (7-8) et les figures (24-26), de l'interaction huile essentielle avec les bactéries que l'attaque des bactéries à Gram négatif que Gram positif indique que, le mode d'action principal des huiles essentielles consiste en la lyse

de la paroi bactérienne du fait de leurs propriétés lipophiles. Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace.

Le lipopolysaccharide, grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes, alors que les bactéries à Gram positif sont moins protégées parce que la paroi est formée d'une couche de peptidoglycane. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, alors une perturbation chimio-osmotique puisse faire une fuite d'ions (K^+) (Malecky, 2008). Cette propriété de lipophile indique la présence des métabolites secondaires dans l'huile essentielle telle que polyphénols (flavonoïdes) et surtout les terpènes.

III.4.3 Activité antilithiasique

L'objectif de cette analyse est de tester l'effet de l'extrait de notre plante dans le traitement de la lithéase urinaire dans un model in vitro.

En effet, pour suivre l'évolution de la cristallisation oxalocalcique, nous avons choisi l'inhibiteur l'acide citrique comme standard.

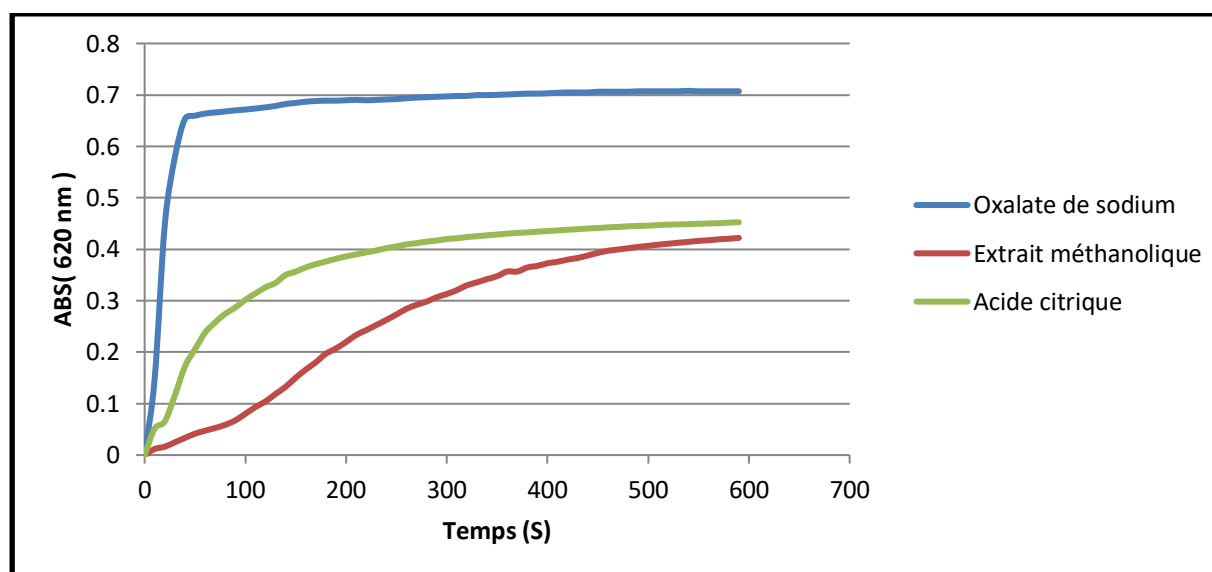


Figure 27 : Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence de l'extrait de plante *Brassica spp.*

La courbe de cristallisation de l'oxalate de calcium en présence de l'extrait (en vert) de la plante présente une forte activité antilithéasique.

On peut suggérer que l'extrait de *Brassica spp.* retarde le processus de cristallisation de l'oxalate de calcium et inhibe la formation de calculs.

Les calculs du taux d'inhibition (TI %) ont donné les résultats suivants : TI % de l'acide citrique est de 95% et celui de l'extrait est de 99%. On remarque une différence significative entre les deux substances. Une étude similaire faite sur l'extrait de blé (*Triticum aestivum*), par **Sekkoum, 2011** qui trouvé un TI de 60% où on peut remarquer que l'extrait de notre échantion à une meilleure activité antillithéasique que le blé. On suggère l'extrait de *Brassica spp.*retarde le processus de la cristallisation oxalocalcique et inhibe la formation de calculs.

La différence significative (Figure 28) indique que l'extrait méthanolique est, en générale, riche en polyphénols de type flavonoïdes et en particulièrement les Saponosides (**Khouchlaa, 2017**).

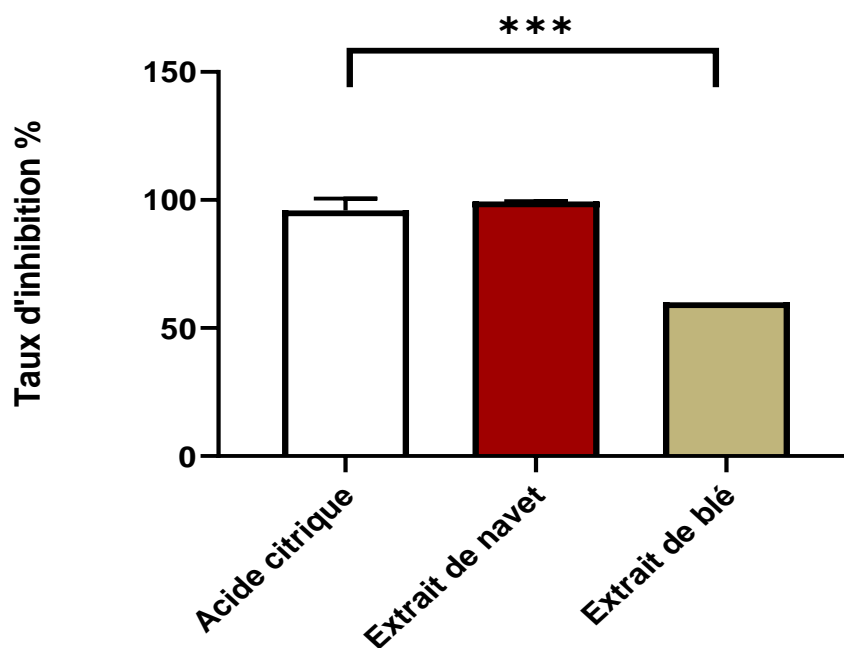


Figure 28 : Le taux dissolution du calcul en fonction des échantillons.

CONCLUSION

Conclusion

Ce travail, pouvant être considéré comme une ébauche pour une étude à venir plus approfondie, s'est limité comme objectif à l'évaluation des activités antioxydantes, antilithéasiques et antimicrobiennes de l'extrait méthanolique des racines et à celle de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des graines, de *Brassica spp.* La littérature attribue à ce légume, à goût très prononcé et à très faible production nationale, une source précieuse de substances naturelles.

Les résultats de l'étude laissent apparaître, en relation avec le poids de la poudre du légume 'Navet Saidi', que le rendement en extrait méthanolique est important et, par contre, celui de l'huile essentielle est faible.

Le criblage phytochimique de l'extrait brut qui a montré que la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de Saponosides, de Stéroïls, de Tri Terpènes et de Cardinolids et l'absence de tanins peut-être dû à l'utilisation du légume sans écorce.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, de l'extrait méthanolique, a donné des valeurs plus importantes par rapport à celles obtenues par d'autres chercheurs notamment chez la pomme de terre et la carotte (**Kadri, 2015**).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des racines du 'navet saidi', par le test au DPPH révèle que l'extrait possède un pouvoir antioxydant.

Pour l'activité antilithéasique de l'extrait méthanolique de ce légume, les résultats montrent un effet remarquable de l'extrait sur la dissolution des cristaux d'oxalate de calcium.

Concernant l'activité antibactérienne évaluée par la méthode de diffusion sur disque solide, les résultats ont montré que l'extrait méthanolique du navet étudié a un effet plus efficace sur les bactéries à Gram positif, avec une concentration déterminée (500 mg/1ml), que sur Gram négative, par contre l'huile essentielle a montré un effet antimicrobien inverse. Les résultats obtenus dans ce travail ne constituent, en soi, qu'une première étape dans la valorisation des potentialités de ce légume en ses pouvoirs antibactériennes, et, dans ce cadre d'idée, des essais complémentaires devront être pour suivis.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographies

A

Adil H.I., Cetin I.H., Yener, M., and Bayindirli, A.(2007). Subcritical (carbondioxide +ethanol) extraction of apple and peachpomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts .*Jrnl of Sup Flu*, 43, 55-63.

Alanne, T. (2009). Etude de pouvoir antioxydant et antimicrobien de quelque espèce. Mémoire de master. Génie alimentaire, Faculté des sciences et de l'ingénieur. Université M'hamedBougara –Boumerdes, Algérie. 40p.

Amrane, H et Khellil, A. (2018). Optimisation des conditions d'extraction des antioxydants à partir d'un sousproduit industriel : Pelures de pommes de terre. Mémoire de magister. Qualité des produits et sécurité alimentaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A. MIRA – Bejaia, Alger. 29 p.

Aouachriaa ,S., Boumerfegb,S., Benslamaa ,A., Benbachac ,F., Guemmeza ,T., Khennoufd ,S., Arrara ,L., Baghiania, A.(2017) .Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of Reichardiapicroide crude extract. *Journal Enthopharmacology*, 208, 105-116.

Attou, A. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Rutachalepensis. Mémoire de magister. Produits naturels : Activités biologiques et synthèse. Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abou BekrBelkaid-Tlemcen, Algérie. 42p.

B

Berreghioua, A.(2016).Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud algérien : Moricandiaarvensis et Zillamacroptera. Thèse de doctorant. Chimie organique, Abou-BekrBelkaid- Tlemcen, Algérie. 257p.

Berja, S., Smail, L., Saka, B., Neggazi, S., Hullaf, E., Benazzoug,Y., Kacimi, G., Boudarene, L., AouichatBougerra, S. (2016).Glucolotoxicity induced oxidatives stress and inflammation in vivo and in vitro in Pasmmonysobesus in olvement of aques extract of Brassica raparapifera. *Evidence based complementary and alternative medicine*, p14.

Boizot, N et Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques , 79-82.

Boots, A.W., Wiims, L.C., Swennen, E.I., Bast, A., Haenen, G.H. (2008).In vitro end ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers. *Nutrition*. 24(7-8), 703-710.

C

Cooke, J. P. (1998).Nutriceuticals for cardiovascula health. *Am. J. Cardiol*. 82(10), 4346.

D

Derbal, S. E. T., Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leurs impacts sur la santé. *Phytothérapie et nutrition*, 1, 28-34.

E

Erlund, I. (2004). Review of the Flavonoids Quercetin, Hesperetin, and Naringenin. Dietary Sources, Bioactivities, Bioavailability and Epidemiology. *Nutrition Research*, 24, 851-874, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2004.07.005>

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.

Fedala, G. (2015). Evaluation de l'activité antioxydant des extraits des plantes : Urticadioica, Urticapilulifera et GlobulariaaalpumL.Mémoire de master, Science et technologie du médicament, Faculté de Technologie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. 24p.

Franscini, L et Palma, S. (2018). Nutrition et Alzheimer : les polyphénols et les caroténoïdes ont-ils un effet sur le développement de la maladie d'Alzheimer .Travail de Bachelor, médecine interne et générale, micronutrition et biothérapie nutritionnelle, Hôpitaux Universitaires de Genève, suisse. 18p.

G

Gabriela, P., Zrira, S., Boutakiout, A., Ungureanu, O., Simion, D., Chelaru, C. et Gabriel, L. (2013). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential

Garimella T.S., Jolly C.I., Narayanan S., (2001). In vitro Studies on Antilithiatic Activity of Seeds of *Dolichos Biflorus* Linn. And Rhizomes of *Bergenia ligulata* Wall.. *J. phytother*, 15, 351-355.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques. Rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Pharmacognosie*, 4, 162-169.

Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220-1234.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). *Med liège*, 62 (10), 628-638.

Halliwell ,B. et Gutteridge, J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine. 3rd Edition. *Journal of Tuberculosis Research*, 2(1), 1-25.

Hamhami, A. (2013). Synthèse et réactivité de la purpurogalline. mémoire de master, Catalyse et Chimie Verte, Faculté des Science, Aboubekr Belkaid- Tlemcen, Algérie. 14p.

Hamidi, A. (2013). Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limonia strumguy onianum*. Mémoire de magister. Physico-chimie moléculaire, faculté des sciences et de la technologie et sciences de la matière, université kasdimerbah-Ouargla, Algérie.

Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2379-2383.

I

INRA/FAO. (2006). Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques, 92p.

J

Jablaoui, G. (2018). La texturation par de tente instantannée contrôlée DIC dans le développement de nouvelles opérations d'extraction d'huiles des graines oleagineuses. Thèse de doctorant, Génie des Procédés, Laboratoire des Science de l'Ingénieur pour L'Environnement. L'Université de la Rochelle et de l'Institut National d'Agronomie de Tunisie. 115p.

K

Kadri, F.(2015). Effet de deux modes de cuisson et de la durée de stockage à température ambiante sur la teneur en polyphénols totaux de quatre espèces de légumes. Mémoire de master, Technologie Alimentaire, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies, Université Constantine -1, Algérie. 40 p.

Khouchlaa, A., Talbaoui, A., El Yahyaoui El Idrissi, A ., Bouyahya, S., Ait Lahsen · A., Kahouadji, M., Tijane. (2017). Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Jornal La voisier SAS*, (DOI 10.1007/s10298-017-1106-3).

L

Laib, I. (2012). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. *Journal de Nature et Technologie*, (07),44-52.

Lamamra, M. (2018). Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula* (L.) Parl. et de *Filip* en du *lahexapetala* Gibb). Mémoire de magister, Biologie et Physiologie Végétale, faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université de Ferhat Abbas-Sétif, Algérie. p 24- 54.

Lecerf, J-M ., Bal, S. (1979). Lexique pratique des aliments. Institut pasteur de Lille. 33p.

Leroy, C. (2016). Oxalates de calcium et hydroxyapatite : des matériaux synthétiques et naturels étudiés par techniques RMN et DNP. Thèse de doctorat. Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie- Paris 6. 259p.

M

Magalhaes, L., Segundo, M., Reis, S. et Lima Jose L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxydant properties. *Analytica chimica acta*, 613 , 1-19.

Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., Elghadraoui, L., Guedira, A., Aafi , A. (2011). composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *juniperus communis* du maroc. *Journal, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80,791-805.

Malecky ,M. (2008). The métabolisme of terpenoides in caprins. Thèse de doctorat, Physiologie de la Nutrition Animale biotechnologie, Institut de la Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Université Paris, France. 34p.

Medjoujda, O.(2014). Méthodes d'études d'activité des antioxydants des plantes médicinales. Mémoire de Licence, Biochimie fondamentale et appliquée, Sciences de la nature et de la vie, université kasdimerbah -Ouargla, Algérie. 05 p.

Mekhoukhe, A. (2008). Etude de certaines activités biologiques des composés phénoliques extraits de cinq plantes médicinales de la région de Bejaia. Mémoire de master, Sciences Alimentaire, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. 40 p.

Mohammedi , Z. (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorant, substance naturelles activités biologiques et synthèses, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Abou-BekrBelkaid- Tlemcen, Algérie. p 23-44.

N

NyiramanaLunianga, M.(1991). Stratégies de mise en marché des huiles essentielles québécoises. Thèse de doctorant. Université du Québec. Canada.184 p.

O

Ourari, N et Ider, S, (2017). Extraction des composés phénoliques et des huiles essentielles de l'espèce Juniperus oxycedrus et évaluation de ses activités antioxydante et antibactérienne. Mémoire de master, Biochimie appliquée, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. 24 p.

P

Palmer, R.M.J., Rees, D.D., Ashton, D.S. et Moncada, S. (1988). Larginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 153(3), 1251-1256.

Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.

PSS. (2013). Les légumes oubliés. www.passeportsante.net - www.marmiton.org, (Date de consulté 2013)

Puppo ,A. (1992). Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton Type Reactions Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*, 31(1), 85-88.

R

Robert, S. (1991). Contribution a l'étude de l'autooxydation et du processus de brunissement de la moutarde de dijon. Thèse de doctorant, Biotechnologie et Industries Alimentaires, Laboratoire des Science de l'Ingénieur pour L'Environnement, L'Université dell'institut national polytechnique de lorraine, France.

Rakow, G.(2008). Species Origin and Economic Importance of Brassica. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry: Brassica*. Pua, E. C. and Douglas, C. J. 339 p.

S

Sadki, C. et Atmani, F. (2017). Evaluation of antilithiasic, oxalo-calcic and magnesium ammonium phosphate effect of Erica multiflora L. aqueous extract. *Progrès en urologie*, 27, 1058-1067.

Saglam A, Kadioglu A, Terzi R, Saruhan N. 2008. Physiological changes in them in post stress emerging Ctenan thesetosa plants underdrought conditions. *Russ J Plant Physiol*. 55, 48–53

Références Bibliographiques

Sakhri, S et Tatemante, K. (2018).Caractérisation des protéines enzymatiques : cas des peroxydases extraites du Navet Rose (*Brassica rapa*). Mémoire de master, Pharmacotoxicologie, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. p 2-5/ 3-6.

Sarni-Manchado, P et Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Lavoisier (Tec & Doc)*, Paris. p300-398.

Sekkoum, K. (2011). Composition photochimique et effet, in vitro, des extraits de quelques plantes médicinales du Sud-Ouest Algérien sur la cristallisation lithiasique oxalocalcique. Thèse de doctorant, Photochimie des substances bioactives(Chimie), Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Djillaliliabes -sidi bela-abbes, Algérie. p 88-90.

Seung-cheol et al., 2004. in :Tigrine, N. (2016). Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de Citrus limon et Citrus sinensis. Mémoire de magister, Pharmacologie Moléculaire, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. p 25-26.

T

Tigrine, N. (2016). Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de Citrus limon et Citrus sinensis. Mémoire de magister, Pharmacologie Moléculaire, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa, Algérie. p 25-26.

Tchiégan, c et Kitikil, A. (2004). Données ethn nutritionnelles et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Journal tropicultura*, 22(1), 11-18.

V

Van Der Werf ,R. (2013). Evaluation du pouvoir antioxydante des aliments. Recherche de leurs effets modulateurs sur le stress oxydant dans le cas du diabète. Thèse de doctorat, Chimie, Faculté des Sciences, Université de Strasbourg, France. 250 p.

Vermerris, W et Nicholson, R. (2006). Phenolic Compound Biochemistry. 288 p.

Vilmorin-Andrieux. (1883). Les plantes potagères : Description et culture« Navet ». 812 p.

W

Wilson, A. (1987). Flavonoids pigments in chalkhill blue (*Lysandracoridonpoda*) and other lycaenid butter flies. *J. Chem. Ecol*, 13 (3) , 473-493.

Z

Zerargui, F. (2015). Activité antioxydant des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. Mémoire de magister. Biologie et Physiologie Végétale, faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas-Sétif, Algérie. 71 p.

Ziane, L. (2016). Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits organiques des différentes parties de limon *astrium Feei* – Blombaginaceae – (Mlef et Khadem). Thèse de doctorat, Chimie Organique, faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Abou-

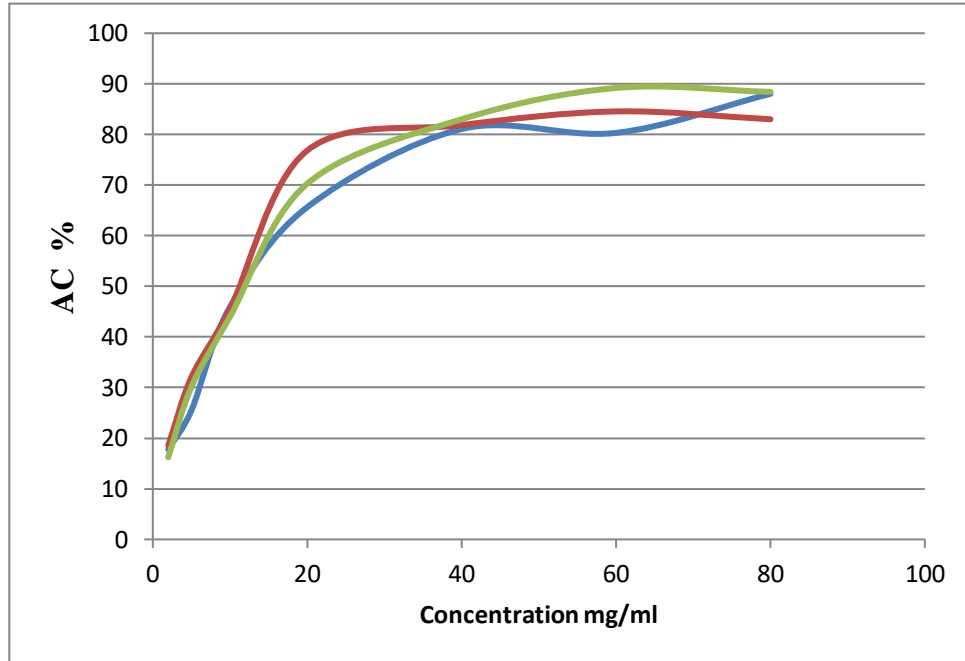
Références Bibliographiques

Bekr Belkaid- Tlemcen, Algérie. 19 p.

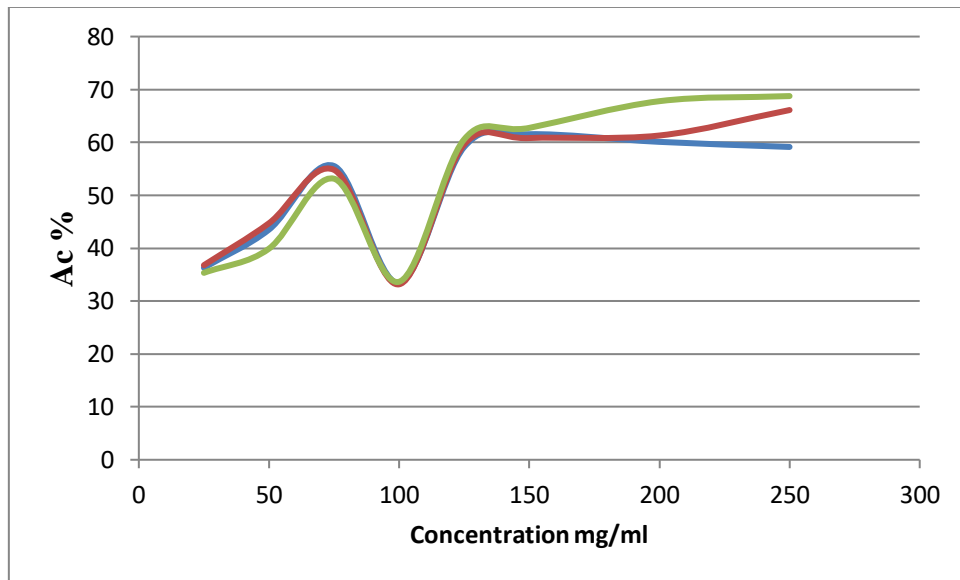
➤ **Site web**

<https://www.aquaportail.com/taxonomie-famille-84-brassicaceae.html>

Annexes



Annex 01 : Courbe cinétique de BHT de l'activité antioxydante de trois répétitions en fonction des concentrations.



Annex 02 : Courbe cinétique de extrait méthanolique de l'activité antioxydante de trois répétitions en fonction des concentrations.

المخلص

Brassica spp، المعروف باسم اللفت السعيدية، هو نوع من الخضروات المحلية، يزرع في ولاية سطيف، من عائلة Brassicaceae، وهو موضوع دراستنا، هذه النبتة تعتبر مصدرا طبيعيا هاما للجزيئات البيولوجية. العينات التي تم اختبارها في هذه الدراسة هي المستخلص الذي تم الحصول عليه من الجذور، عن طريق الاستخراج باستخدام جهاز سوكسلي (soxhlet) واستخدام الميثانول كمذيب، أما الزيوت الأساسية تم الحصول عليها من البذور بواسطة جهاز كليفنجر (celevenger). حيث بلغ عائد المستخلص ما يقارب 44% بينما معدل الزيت الطيار (الأساسي) 17%.

أظهر التقدير الكمي للفلافونويد والفينول الكلي بطريقة اللونية، أن نسبة الفلافونويد تمثل 50% من متعدد الفينول. في حين أظهر تقييم مضاد للأكسدة، الذي أجري في المختبر باستخدام طريقة تثبيط الجذر الحر DPPH، بأن مستخلص الميثانول ذو فعالية منخفضة لمضادات الأكسدة ($84.06 \pm 2,68$ ملغم / مل) مقارنة بالشاهد BHT (16.03 ± 1.16 ملغم / مل). أما النشاط المضاد للتحصي له تأثير فعال في المرحلة الموافقة لتطور أكسالات الكالسيوم، وقد قدر ذلك بـ 99% في حين أن الشاهد له تأثير أقل (95%). أما نتائج النشاط المضاد للبكتيريا الخاص بالمستخلص كان له تأثير على البكتيريا إيجابية الجرام. فيما كان نشاط الزيت الأساسي ذو تأثير معاكس.

الكلمات المفتاحية: اللفت، مستخلص الميثانول، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للتحصي.

Résumé

Brassica spp. connue sous le nom de *Left Saidi*, est une espèce potagère locale, cultivée dans la wilaya de Sétif, de la famille des Brassicaceae, objet de notre étude. Le navet est une plante considérée comme une importante source naturelle de molécules biologiques. La partie consommable de ce légume est le rhizome.

Les échantillons testés dans cette étude sont l'extrait méthanolique obtenu, à partir du rhizome, par extraction à l'aide d'un Soxhlet, et l'huile essentielle acquise, à partir des graines, par un Clevenger.

Le rendement de l'extrait avoisine 44% et celui de l'huile essentielle est de 17%.

L'estimation quantitative des flavonoïdes et des phénols totaux par la méthode colorimétrique a montré que l'extrait est riche en ces composés. Le taux des flavonoïdes représente 50% des polyphénols.

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH a indiqué que l'extrait méthanolique a montré une faible efficacité antioxydante ($IC_{50} = 84,06 \pm 2,68$ mg/ml) par rapport au standard BHT ($IC_{50} = 16,03 \pm 1,16$ mg/ml). Concernant l'activité antilithéasique, les résultats ont montré que l'extrait de *Brassica spp.* possède un effet, inhibiteur de la phase de croissance oxalocalcique, très important qui est de 99% alors que le standard a un effet légèrement inférieur (95%).

Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré que l'extrait a un effet plus efficace sur les bactéries à Gram positif. Mais l'activité de l'huile essentielle a montré l'effet inverse.

Mots clés : *Brassica spp.*, extrait méthanolique, huile essentielle, activité antioxydante, antilithéasique, et antimicrobienne.

Abstract

Brassica spp. known as *Left Saidi*, is a local vegetable species, belonging to the family *Brassicaceae*, and cultivated in the wilaya of Setif was the subject of our study. Turnip plant is considered as an important natural source of biological molecules. Root is the consumable part of this vegetable. The samples tested in this study are the methanolic extract obtained from the roots by Soxhlet extraction, and the essential oil acquired from the seeds by the Clevenger.

The yield of the extract is around 44% and that of the essential oil is 17%. Quantitative estimation of flavonoids and total phenols by the colorimetric method showed that the extract is rich of these compounds.

The level of flavonoids represents 50% of polyphenols. The antioxidant assessment that was performed using the DPPH free radical scavenging method indicated that the methanolic extract showed low antioxidant efficacy ($IC_{50} = 84.06 \pm 2.68$ mg/mL) relatively to the BHT standard ($IC_{50} = 16.03 \pm 1.16$ mg/ml).

Regarding antilithetic activity, the results showed that the extract of *Brassica spp.* has a very important inhibitor effect of the oxalocalcic growth phase of 99% while the standard has a slightly lower effect (95%).

The results of the antibacterial activity showed that the extract has a more effective effect on Gram-positive bacteria. But the activity of the essential oil has shown the opposite effect.

Key words: *Brassica spp.*, Methanolic extract, essential oil, antioxidant activitie, antilithetic, and antimicrobial.