

# Remerciement

Je remercie tout d'abord **ALLAH** le tout puissant de nous avoir données la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

J'adresse, mon profonde gratitude et tout mon amour à mes parents,  
Mes sœurs et mon frères, qui ont su je faire confiance et  
Je soutenir en toutes circonstances.

Je voudrais particulièrement remercier **Mme Ouarek** (doctorante et ingénieur de laboratoire microbiologique au niveau de centre de recherche SAIDAL) pour avoir accepter d'encadrer au niveau de SAIDAL, et toute les ingénieurs des laboratoires de groupe SAIDAL **Mme Hali** , **Mme Tamourt** et **Melle Bouchereb Sihem**, je ne saurais jamais la remercier assez pour ses aides, ses disponibilités, ses soutiens et ses sympathies.

Je tiens particulièrement à remercier *ma promotrice* **Mme Kebour Dj** *maitre de conférence A à l'université de Saad Dahlab –Blida- . Pour avoir accepté d'encadrer, Pour ses conseils et ses orientations.*

**Je remercie aussi ma Co-promotrice Mme Benmanssour N** *maitre assistante B à l'université de Saad Dahlab –Blida- Pour ses conseils et ses orientations.*

Je voudrais remercier tous mes proches amies qu'elles sont toujours ma soutenus  
Et encouragées même dans les périodes les plus difficiles.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury : la présidente **Mme Amara** Maitre assistant B et l'examinatrice **Mme Radi Maitre** assistant A d'avoir honoré ma soutenance de Master. Merci pour votre présence.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé  
De près ou de loin à la réalisation de ce travail.

« *Merci* »

*Khaoula*

# *Dédicaces*

**A** mon père

Tu me dirigeais toujours vers le bon chemin,  
Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi

**A** ma très chère maman

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement, tu n'as pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

**Q**ue vous trouvez en moi la source de leur fierté, Qu'allah le tout puissant vous préserve, vous accorde santé et bonheur.

**A** ma très chère jumelle, sœur et ma meilleure amie **Selma**

Pour toute son soutien durant les moments les plus difficiles

**A** ma chère et meilleurs sœur **Soumia** et **M**on meilleur frère **Mahfoud**

**A** toute la famille: Zahra et Djaber

**A** mes chères amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus

À l'université de Saad Dahlab –Blida- : Kenza, wissem, Mimouna, Imene

**A** tous mes amies de la promotion de master en

Biodiversité et physiologie végétale

**A** tous mes amies de lycée Ibn Khaldoun –Bouinan-

**E**t en fin à tous qui m'aiment fidèlement, merci

*Khaoula*

## Liste des abréviations

• **ONOO<sup>-</sup>** : peroxydinitrite

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium

**BHA** : butylhydroxyanisole

**BHT** : butylhydroxytoluène

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Hydrogène peroxyde

**HO<sub>2</sub>** : Superoxy radical

**IC<sub>50</sub>** : concentration inhibitrice médiane.

**MDHA** : monodéhydroascorbate

**MéOH** : méthanol.

**Mg** : milligramme

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium.

**NaNO<sub>2</sub>** : nitrite de sodium.

**NaOH** : hydroxyde de sodium.

**NO •** : oxyde nitrique

**OH** : Hydroxyle Radical

**RO-** : Alkoxy Radical

**ROO •** : peroxy radical

**ROO-** : Peroxyde Radical

**ROS** : espèces réactives oxygénées

**SOD** : superoxydedismutase

**µg EAG/mg E** : microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait

**µg Eq/mg E** : microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait

## Liste des Figures

### Revue bibliographique

<b>Figure1</b> : Distribution globale d' <i>Aloe barbadensis</i> Miller.....	03
<b>Figure2</b> : photo d' <i>Aloe vera</i> .L.....	06
<b>Figure3</b> : Fruit(A) et les graines(B) d' <i>Aloe vera</i> L.....	06
<b>Figure4</b> : planche illustrée l'inflorescence d' <i>Aloe vera</i> L.....	06
<b>Figure5</b> : Coupe transversale de feuille d' <i>Aloe vera</i> L.....	07
<b>Figure6</b> : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydant.....	08
<b>Figure7</b> : Piégeage des radicales libres la cellule en présence et en absence les antioxydants.....	08
<b>Figure8</b> : les systèmes de défense contre les radicaux libres.....	09
<b>Figure9</b> : Formes redox de l'ascorbate.....	10
<b>Figure10</b> : Structure chimique d' $\alpha$ -tocophérol.....	10
<b>Figure11</b> : Classification des polyphénols avec structure chimique pour chaque classe.....	11
<b>Figure12</b> : Structure de base des flavonoïdes.....	13
<b>Figure13</b> : Les diverses classes de flavonoïdes .....	13
<b>Figure14</b> : Bactérie <i>Escherichia coli</i> .....	15
<b>Figure15</b> : Bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
<b>Figure16</b> : Bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
<b>Figure17</b> : Bactérie <i>Bacillus subtilis</i> .....	16
<b>Figure18</b> : la levure <i>Candida albicans</i> .....	17
<b>Figure19</b> : La levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	17

### Matériel et Méthodes

<b>Figure20</b> : La plante d' <i>Aloe vera</i> L.....	18
<b>Figure21</b> : La feuille de la plante d' <i>Aloe vera</i> L.....	18

<b>Figure22</b> : Les méthodes de récupération le gel d'Aloe vera.....	20
<b>Figure23</b> : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	23
<b>Figure24</b> : Schéma générale de protocole expérimental de l'activité antioxydante.....	25
<b>Figure25</b> : Incubation des boîtes de pétri dans l'étuve.....	34
<b>Figure26</b> : Technique de diffusion des extraits sur la gélose.....	35

## Résultats et Discussion

<b>Figure27</b> : Résultats du DPPH.....	38
<b>Figure28</b> : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait de Gel d'Aloe vera L.....	38
<b>Figure29</b> : Pourcentage d'inhibition de l'acide Ascorbique (Vitamine C).....	39
<b>Figure30</b> : Courbe de régression d'acide ascorbique et la teneur d'inhibition du réducteur.....	39
<b>Figure31</b> : Histogramme représentent les valeurs d'IC50 d'extrait étudié et Acide ascorbique.....	40
<b>Figure32</b> : Résultats de l'acide gallique.....	41
<b>Figure33</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	42
<b>Figure34</b> : Résultats de la Quercétine.....	43
<b>Figure 35</b> : Courbe d'étalonnage de Quercétine.....	43
<b>Figure36</b> : la teneur des polyphénols et Flavonoïdes dans l'extrait de Gel d'Aloe vera L.....	44
<b>Figure37</b> : Les résultats du test de sensibilité microbienne aux différents extraits de la feuille.....	46

## Liste des tableaux

### Revue bibliographique

<b>Tableau n°1 :</b> Les principaux constituants de la plante d'Aloe vera L.....	04
<b>Tableau n° 2 :</b> classification de Cronquist (1981) D' Aloe vera.....	05
<b>Tableau n° 3 :</b> Classification phylogénétique APG III (2009) d' <i>Aloe vera</i> .....	05

### Matériel et Méthodes

<b>Tableau n°4.</b> Les six souches utilisées dans l'activité antimicrobienne références.....	19
<b>Tableau n°5.</b> Les principales méthodes de dosage des polyphénols totaux.....	27
<b>Tableau n° 6.</b> Les principales méthodes de dosage des Flavonoïdes.....	28

### Résultats et Discussion

<b>Tableau n° 7.</b> Résultats du test phytochimique de Gel d'Aloe vera L.....	36
<b>Tableau n°8.</b> Pourcentage d'inhibition de l'extrait de Gel d'Aloe vera L. et de la vitamine C.....	39
<b>Tableau n°9.</b> Résultats de l'activité antimicrobienne de gel d'Aloe vera L.....	45

# Table des matières

**Résumé**

**Remerciement**

**Dédicace**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction.....01**

## **I. Revue bibliographique**

**1- Généralité sur la plante Aloe vera L. ....02**

1-1-Historique.....02

1-2-Origine du nom.....02

1-3-Distribution géographique.....03

1-4- l'utilisation traditionnelle de la plante d'Aloe vera L. ....03

1-5-constituants et propriétés pharmaceutiques de la plante d'Aloe vera.....04

**2-Etude botanique.....05**

2-1-Classification botanique.....05

2-2-Description botanique.....06

**3-Propriétés biologiques.....07**

3-1-Activité antioxydante.....07

3-1-1-Stress oxydatif.....07

3-1-2-Les radicaux libres.....08

3-1-3-Les antioxydants.....09

3-2-Les polyphénols.....11

3-3-Les flavonoïdes.....	12
3-4-Activité antimicrobienne.....	14
3-4-1-Les microorganismes.....	14
3-4-2-Les différents types de microorganismes.....	14
3-4-2-1-Les bactéries.....	14
3-4-2-2-Les champignons.....	16
3-4-2-2-1-Les levures.....	16

## **II. Matériel et méthodes**

### **1-Matériel**

1-1-Matériel biologique.....	18
1-2-Matériel non biologique.....	19

### **2-Méthodes**

2-1-Récupération de gel des feuilles d'Aloe vera L. ....	20
2-2- Etude phytochimique par le test de Screening .....	21
2-3-Activité antioxydante.....	22
2-4-Dosage des polyphénols totaux.....	24
2-5-Dosage des Flavonoïdes totaux .....	25
2-6-Activité antimicrobienne.....	26

## **III. Résultats et Discussion**

1-Screening phytochimique.....	30
2-Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH.....	32
3- Dosage des polyphénols totaux.....	35
4-Dosage de Flavonoïdes totaux .....	37
5- Activité antimicrobienne.....	39

## **Références bibliographiques**

## **Annexe**

# Introduction



-Dès l'antiquité,les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments.Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale ,plus particulièrement dans les pays en voie de développement ,se soigne uniquement avec des remèdes à base de plante (**Hostettemann ,1998**).

-Selon l'organisation mondiale de la santé (**OMS**), près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle (**DIALLO,2005**) .Sachant que l'Algérie possède une richesse floristique considérable ,on compte environ 3000 espèce de plante (**Quezel et Santa,1963**).

-Pour cela ,la médecine traditionnelle prend une part importante de guérir les maladies dans les habitudes générales de la population. Le Nord-Est de l'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée (**Zellagui et al., 2011**).

-Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (**Boudjouref, 2011**).

- Parmi ces plantes il y a « Aloe vera L. »qui est utilisé en médecine depuis 5000ans pour ses vertus réparatrices et hydratantes (**Serge ,2014**).C'est une espèce très répandue dans le monde et en Algérie et très utilisé traditionnellement , qui est Aloe vera L. ou Miller barbadensis dont le nom vernaculaire « Sabar » (**Mahmoudi,2003**).

-L'Aloe vera posséderait des vertus exceptionnelle , à tel point qu'elle est devenue aujourd'hui une stratégie marketing très importante dans le monde .Pour cela , l'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne et anti-oxydante de certains extraits des feuilles de « L'Aloe vera L. »

La stratégie de ce travail repose sur les axes suivants :

- ❖ La première partie est une étude bibliographique comporte : l'historique de cette plante , sa description botanique , sa classification phylogénétique et sa composition chimique
- ❖ La deuxième partie est une étude expérimentale traiter par des travaux personnels qui comporte :
  - L'extraction de gel à partir de feuille de la plante « Aloe vera ».
  - Déterminer les différents composés chimiques présents dans la plante par le test de Screening avec le dosage et la teneur des polyphénols et des flavonoïdes.
  - Détermination de l'activité antioxydant par la méthode de DPPH.
  - Détermination de l'activité antimicrobienne (l'activité antibactérienne et l'activité antifongique).
- ❖ La troisième partie qui comporte les résultats pour certaines expérience et leur discussion et enfin une conclusion avec perspective.

# Revue bibliographique



# 1. Généralité sur la plante Aloe vera L.

## 1.1. Historique

Depuis plus 5000ans, à des époques différents et dans des régions du monde bien que éloignées, l'homme a toujours utilisé l'aloès. Alors que, Les premières traces de l'utilisation de l'Aloe vera ont été retrouvées en Mésopotamie sur des tablettes d'argiles datant de 2100 avant J-C. Pas moins de douze papyrus ont par la suite été retrouvés dans de nombreux mythes et légendes faisant même référence à son utilisation par les reines Cléopâtre et Néfertiti. Mais la réputation de l'Aloe vera ne se cantonne pas à l'Egypte puisque la plante était utilisée dans de nombreuses médecines traditionnelles notamment arabe, chinoise, grecque ou romaine. Quelques physiciens considérés comme les pères de la médecine moderne (Pline l'Ancien et Galien) l'utilisaient déjà dans leurs recettes thérapeutiques (**Atherton,1998**) Elle était notamment utilisée pour soigner de nombreux problèmes de peau (psoriasis, brûlures..), la constipation, les ulcères ou même le diabète.

La première classification de l'Aloe Barbadosensis a été faite par le botaniste écossais Philip Miller (1691-1771). Il décrit cette plante, comme originaire de la Barbade, et qui fut introduite comme produit grâce au commerce maritime des caraïbes (**Grindlay et Reynolds, 1986**)

Les premières plantations datent ensuite de 1870, elles se sont petit à petit développées jusqu'en 1920 où l'Aloe Vera a connu un essor mondial (**Iniguez et al ,2012**).

Actuellement, l'Aloe vera est utilisé dans de nombreux produits , Cette utilisation intensive est en partie due à l'histoire de la plante, au marketing autour de celle-ci qualifiée souvent de plante des miracles, mais surtout à tous les bienfaits qui lui sont attribués comme généralement ses actions apaisantes pour la peau notamment en cas de brûlures ,d'irritations ou de plaies (**Guo et Mei,2016**)

Le retour à la médecine traditionnelle ainsi qu'aux produits naturels assure à l'Aloe vera un beau succès pour encore de nombreuses années. D'après les estimations du FMI, le marché de l'Aloe vera pourrait rapporter plus de 3,3 billions de dollars d'ici 2026 (**DalBelo,2006**).

## 1.2. Origine du Nom

Le mot Aloe vient de l'arabe « alloeh » signifiant brillant et amer. Il fait référence au goût amer du latex d'Aloe vera. Le mot Vera quant à lui vient du latin, signifiant vérité (**Boudreau, 2006**)

Parce que depuis la nuit des temps, cette espèce a été considérée comme la plus efficace en termes d'utilisation thérapeutique et médicale générales.

L'*Aloe vera* (L.) Burm, ainsi nommé et décrit par Linné est également connu sous le nom d'*Aloe barbadensis* Miller ou *Aloe vulgaris* Lamark (**BARCROFT.1998**). Actuellement, la classification botanique officielle a retenu le nom d'*Aloe barbadensis* Miller, mais *Aloe vera* reste l'appellation courante.

Aujourd'hui, de nombreux noms vernaculaires sont attribués à l'*Aloe vera* : Aloès, vrai aloès, aloès des Barbades, aloès vulgaire, lys du désert, médecin du ciel, plante médecin, plante qui guérit, plante miracle, plante des premiers soins, plante des brûlures, remède d'harmonie, docteur végétal, docteur vert , docteur aloès, docteur en pot, guérisseur silencieux, fontaine de jouvence, élixir de longue vie, bâton du ciel, cadeau de vénus, plante de l'immortalité, plante qui guérit tout (**Ernst.2005**)

### 1.3. Distribution géographique et écologique

L'aloès semblent originaires d'Afrique Sud-est et introduit plus tard en Afrique du Nord .la région méditerranéenne de l'Europe du sud et à l'île des Canaries. Il est maintenant cultivé dans l'ensemble des Antilles, les régions tropicales ou subtropicales et les régions plus chaudes du monde, notamment en Asie, les Bahamas, la centrale Amérique, le Mexique, le sud des États-Unis d'Amérique, au sud-est de l'Asie. (LORENZETTI *et al.*, 1964).

Selon **Baba Aissa (2011)** ,les Aloès sont peu fréquents en Algérie ,surtout cultivées, ou alors spontanés sur le littoral où ils sont d'ailleurs confondus avec l'Agave (surtout *Aloe vera* L.).

A l'état naturel, l'*Aloe vera* pousse sur des terrains sablonneux ou limoneux et calcaires de régions semi-désertiques au climat chaud et sec, et peut pousser dans des sols pauvres en éléments nutritifs, mais il prospère sur les sols riches. Il est tolérant à la salinité, Il peut très bien survivre à la sécheresse. L'*Aloe vera* n'est pas très résistant au gel mais survivra à une température de  $-3^{\circ}\text{C}$ , avec peu de dégât(SCHMELZER *et al.*,2008).



Figure 1 : distribution globale d'*Aloe barbadensis* Miller (Choi *et al.*, 2010)

### 1-4 -l'utilisation traditionnelle de la plante d'*Aloe vera* L.

Que ce soit pour de simples soins de beauté ou des remèdes pour la santé, les utilisations de *Aloe vera* sont nombreuses Sous forme de gel, en usage externe : le moyen le plus simple d'utiliser l'*Aloe vera* est de couper une feuille en deux, dans le sens de la longueur en obtenant le gel d'*Aloe vera* pour :

- Un gommage exfoliant. Pour un gommage rapide et apaisant, coupez des feuilles d'*Aloe vera* dans le sens de la longueur. Utilisez la partie intérieure de la feuille comme éponge Exfoliante sous la douche. Et en bonus : une fois finie, votre « éponge »est Biodégradable.
- Soigner les brûlures légères.
- Soulager les piqûres d'insectes, L'*Aloe vera* apaise la douleur d'une piqûre et élimine la Sensation de démangeaison.
- Traiter les infections cutanées.
- Atténuer les éruptions de boutons de fièvre. L'*Aloe vera* combat l'herpès et les boutons de Fièvre.
- Remplacer les crèmes hydratantes.
- Un traitement contre les boutons d'acné. Le gel d'*Aloe vera* est un traitement efficace Contre l'acné.
- Évite les cicatrices et les vergetures.
- Un traitement anti-vieillesse de la peau. Combattez les rides et le vieillissement de la Peau en appliquant de l'*Aloe vera*.

## 1-4- constituants et propriétés pharmaceutiques de la plante d'Aloe vera.

Les analyses effectuées sur l'*Aloe vera* démontrent une exceptionnelle richesse. Chacun de ses constituants est susceptible d'exercer une action bénéfique sur l'organisme, mais les scientifiques considèrent en fait qu'ils agissent en synergie, potentialisant leurs effets respectifs.

**Tableau 1. Les principaux constituants de la plante d'Aloe vera L.**

Les constituants	Des exemples
Les polysaccharides	acémannane, glucomannane
L'acide malique	acide organique indispensable à la formation d'énergie par le corps lors de la digestion
Les vitamines	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>9</sub> , B <sub>12</sub> , C, bêta-carotène (précurseur de la vitamine A)
Les minéraux	Calcium, Cuivre, Fer, Magnésium, Potassium, Sodium, Zinc, Phosphore, Bore, Chrome
Les enzymes	Alinase, Amylase, Bradykinase, Carboxypeptidase, Catalase, Cellulase, Glucose-Oxydase, Lipase, Phosphatase, Déshydrogénase
Les acides aminés	Acide Glutamique, Glutamine, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, Phénylalanine, Proline, Sérine, Théonine, Tyrosine, Valine
Les dérivés anthracéniques (de la sève)	barbaloïne, <i>Aloe</i> -émodol, isobarbaloïne, aloïnosides
Les substances antiseptiques	soufre, phénol, lupéol, anthraquinones
Les substances antalgiques	lupéol, magnésium, acide salicylique
Les substances anti-inflammatoires	acides gras, bradykinase, gibbérelline, anthraquinone
Autres constituants	Aloesine, Aloénine, acide cinnalique, acides chrysophanique, résistanol (dérivé alcoolique de l'acide cinnamique), lignine, saponines, huiles volatiles, choline

## 2-Etude botanique

### 2-1- classification botanique

L'Aloe barbadensis Miller, plus connue sous le nom d'Aloe vera, est souvent classé parmi les 420 espèces de la famille des Liliaceae (comme les oignons ou les asperges) mais il a aussi été désigné comme ayant sa propre famille, les Aloaceae, qui regroupe actuellement plus de 360 espèces d'Aloe

#### 2-1-1-Selon la classification de Cronquist (1981)

La classification de *Cronquist* est une classification des Angiospermes. Elle est la dernière version des classifications majeures. Elle repose essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques. **Et selon Mabberly(1987)**, le tableau suivant représente la classification de Cronquist 1981 d'Aloe vera :

**Tableau 2. classification de Cronquist (1981) D' Aloe vera**

Taxon	Nom scientifique
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous classe	<i>Liliidae</i>
Ordre	Liliales
Famille	Aloeaceae
Genre	<i>Aloe</i>
Espèce	<i>Aloe vera</i>

#### 2-1-2-Selon Classification phylogénétique APG III (2009) d'Aloe vera

Il s'agit de la troisième version de la classification moléculaire et cladistique des Angiospermes, établi par l'Angiosperms Phylogeny Group, version revisitée de la classification APG de 1998 et APG II de 2003. Dans la classification d'APG III, la famille des Aloeacées n'existe pas et les Aloès sont regroupés dans la famille des Xanthorrhoeacées. Autrefois, on classait l'*Aloe vera* dans la famille des Asphodelacées. **Et selon Botanical Journal of the Linnean Society( 2009)**, le tableau suivant est représenté la classification phylogénétique APG III (2009)

**Tableau 3. Classification phylogénétique APG III (2009) d'Aloe vera.**

Taxon	Nom scientifique
Classe	Moncotylédones
Ordre	Asparagales
Famille	Xanthorrhoeaceae
Genre	Aloe
Espèce	Aloe vera

## 2-2-Description botanique

### 2-2-1-Aspect général

C'est une plante vivace succulente, arborescente d'environ 80 à 100 cm de haut aux racines courtes et peu profondes (MICHAYEWICZ,2013). En raison des crêtes épineuses qui protègent la feuille , l'*Aloe vera* est souvent prise pour un cactus.

-Sur la tige robuste, très courte et ligneuse, se dressent des feuilles vertes de plus de 80cm, charnues, à cuticule épaisse et bords épineux, disposées en rosette (BOULLARD ,2001)



Figure 2. photo d'*Aloe vera*.L

-Son fruit est une capsule contenant de nombreuses graines triangulaires. Ses graines, d'environ 7mm, sont brunes foncées, ailées(Boullard ,2001).



Figure3.Fruit(A) et les graines(B) d'*Aloe vera* .L

-L'inflorescence jaune non ramifiée ,longue de 60 à 90cm,supporte des fleurs jaunes pendantes et tubuleuses , bisexuées .La floraison a lieu de Mars et Avril (Boullard,2001)



Figure 4.planche illustrée l'inflorescence d'*Aloe vera* L. (source Site 1)

## 2-2-2-La feuille

Aloe vera comporte des feuilles sont lisses à cuticule épaisse, d'une très belle couleur verte , de 20 à 50 cm de long, de 3 à 5 cm de large à la base, se rétrécissant progressivement vers le bout pointu de 1 à 2,5 cm d'épaisseur ,ayant des bords épineux et du latex amer à l'intérieur(Ross ,2003).



Figure 5.photo des feuille d'Aloe vera L.

### 2-2-2-1-Description anatomique de la feuille

Une coupe transversale de la feuille permet de distinguer successivement, en allant de l'extérieur vers l'intérieur :

- Ecorce ou cuticule** :une couche épidermique chlorophyllienne .
- La sève ou latex** : Le latex d'aloë vera est également appelé «jus d'aloë» ou «sève d'aloë» ,elle est une mince couche vasculaire se présente sous forme de gel jaune(Boudreau,2006).
- Le gel ou le pulpe** : Gel est l'extrait aqueux mucilagineux clair de la pulpe de la feuille, le principal partie de la feuille en volume et la partie la plus riche et la plus active de la plante (Femenia,1999).

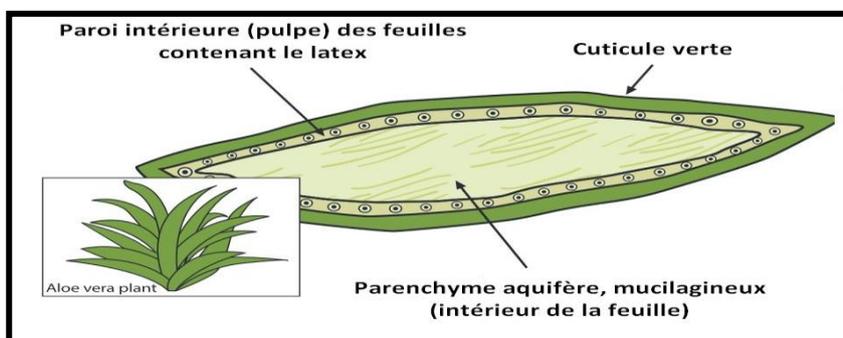


Figure6.Coupe transversale de feuille d'Aloe vera (Boudreau et Beland,2006).

## 3-Propriétés biologiques

### 3-1-Activité antioxydant

#### 3-1-1-Stress Oxydatif

Un stress oxydatif Le stress oxydatif (ou oxydant) a été défini comme une perturbation de la balance entre les prooxydants et les antioxydants, en faveur des premiers, conduisant à des dommages potentiels (Sies ,1997).Et aussi défini comme un déséquilibre entre la production et la destruction des molécules d'oxygènes et leurs dérivées réactifs .En raison de leur capacité à endommager presque tout les types de molécules dans l'organismes(Shan,2006). Alors que ,le stress oxydant est souvent décrit comme un phénomène se propageant de lui-même sur la base d'observations selon lesquelles, lorsque la libération excessive de ROS (espèces réactives oxygénées) induite par un stress oxydatif provoque des dommages cellulaires(Hulbert et al., 2007.Salim,2016)

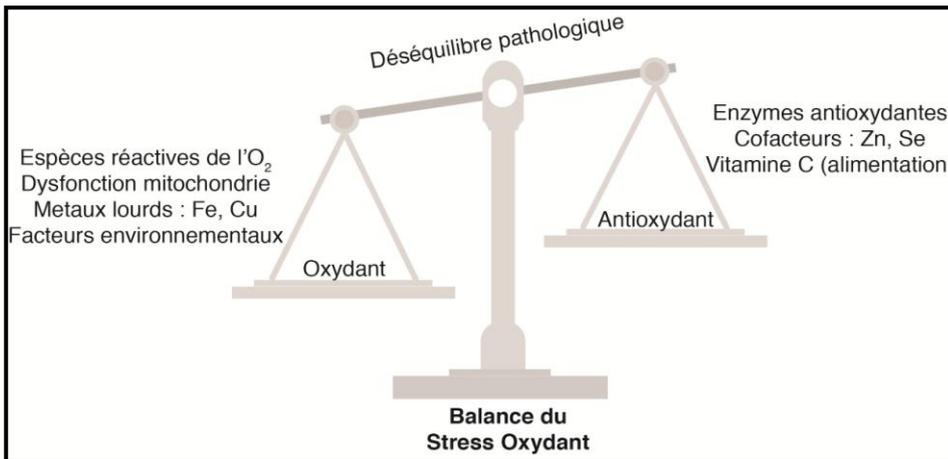
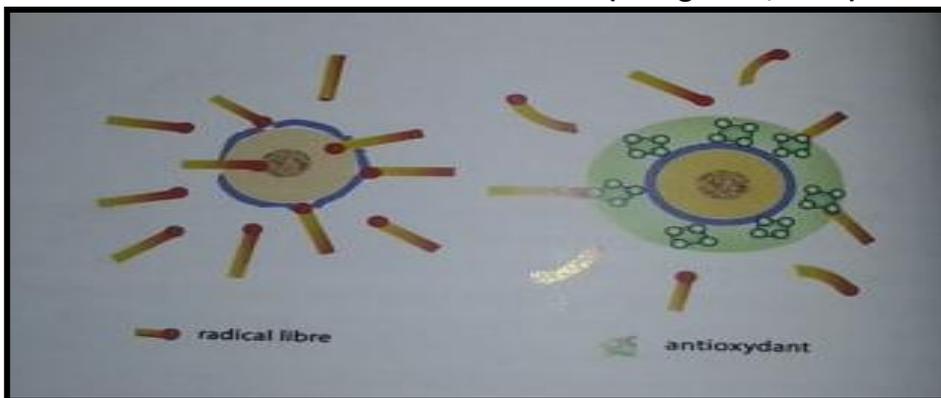


Figure 7. Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydant (Reuter ,2010)

### 3-1-2-Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (DACOSTA, 2003).

La formation de radicaux libres est une conséquence inévitable chez les organismes aérobies. Les radicaux libres sont des espèces hautement réactives de l'oxygène (ROS) et parmi eux, les radicaux superoxyde ( $O_2^-$ ), hydroxyle ( $OH^\bullet$ ), peroxyde ( $ROO^\bullet$ ), peroxyde nitrite ( $^\bullet ONOO^-$ ) et oxyde nitrique ( $NO^\bullet$ ) sont les suivants: les plus importantes (Atta-ur-Rahman et Choudhary, 2001). Ces radicaux sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres substances présentes dans l'organisme, entraînant des lésions cellulaires ou tissulaires (Wang et al., 2008).



- Cellule de gauche :les radicaux libres attaquent une cellule qui n'est pas protégée par les antioxydants.
- Cellule de droite :les antioxydants qui entourent la cellule repoussent les assauts des radicaux libres.

Figure 8.Piégeage des radicales libres la cellules en présence et en absence les antioxydants (Ann,2011)

### 3-1-3-Les antioxydants

#### 3-1-3-1-Définition

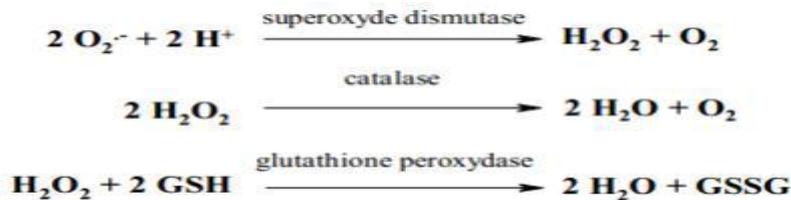
Un antioxydant est défini comme une substance, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (PARK, 2001). Alors que, les antioxydants sont des générateurs de vie, freinent l'oxydation, combattent les radicaux libres et empêchent la putréfaction (Ann. 2011).

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de longévité et non alliés et lutter contre les maladies modernes, Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiens par l'organisme, ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux (Bartosz, 2003) mais ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides et des acides nucléiques en entraînant un stress oxydant qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines tels que les maladies cardiovasculaires et les cancers (Pourrut, 2008).

#### 3-1-3-2-Systèmes de défenses enzymatiques

##### -Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (FAVIER, 2006).



##### -Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Fig. 8) (DACOSTA, 2003).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposées. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. (KOHEN et NYSKA, 2002).

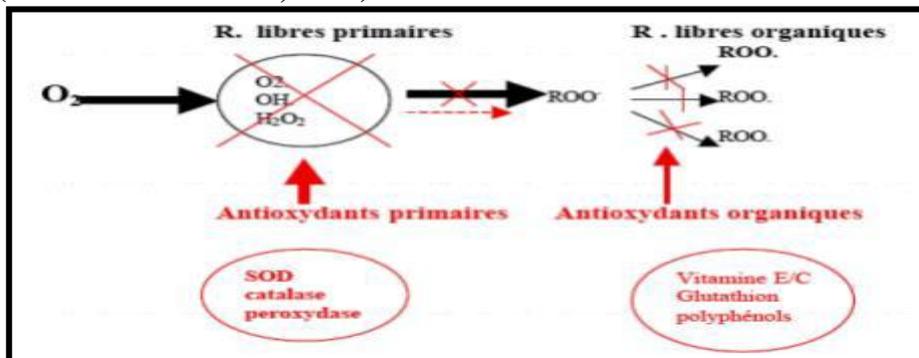


Figure 9. les systèmes de défense contre les radicaux libres (KOHEN et NYSKA, 2002).

### 3-1-3-3-Systèmes de défenses non enzymatiques

#### -L'ascorbate ou vitamine C

L'acide L ascorbique (ASC) est un des principaux acides faibles de la cellule végétale. Aux pH physiologiques, il se dissocie en anion ascorbate. L'ascorbate est essentiellement utilisé au niveau cellulaire comme un donneur d'électrons. Le premier produit de la réaction d'oxydation de l'ascorbate est le radical monodéhydroascorbate (**MDHA ; Figure 9**). Du fait de son électron libre très excentré, le MDHA n'est pas très réactif avec les autres molécules biologiques (**Navas et al., 1994**). De plus, étant relativement instable, il se transforme spontanément en ASC et déhydroascorbate (DHA) (**Heber et al., 1996**). Le DHA est également une molécule instable et subit rapidement une hydrolyse conduisant à la formation d'acide 2,3-dikéogulonique (**DKG ; Deutsch, 1997, 2000**).

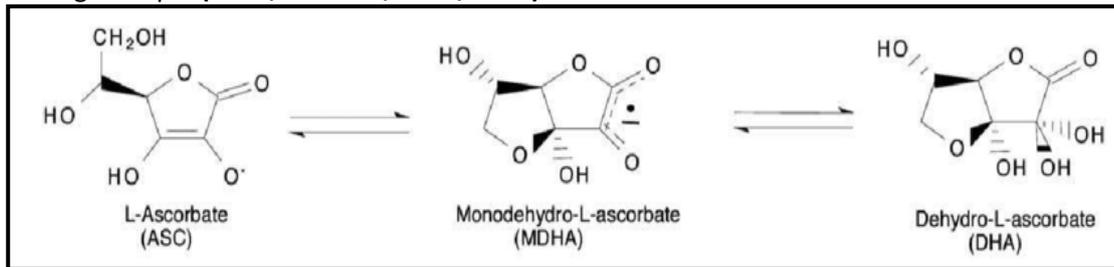


Figure 10. Formes redox de l'ascorbate (d'après Potters, 2002).

#### -La vitamine E

La vitamine E est un antioxydant liposoluble majeur (**Groussard ,2003**) sous forme d'atocophérol, se localise surtout dans la membrane externe des mitochondries et dans celle du réticuline endoplasmique .Elle est présente dans tous les organes , à l'exception du cerveau .C'est dans le foie , le cœur ,les reins, les pommons ,la rate ,les muscle squelettiques et le tissu adipeux que son activité est la plus forte connu notamment pour empêcher La réaction de peroxydation lipidique (**Benhamou,2012** ).

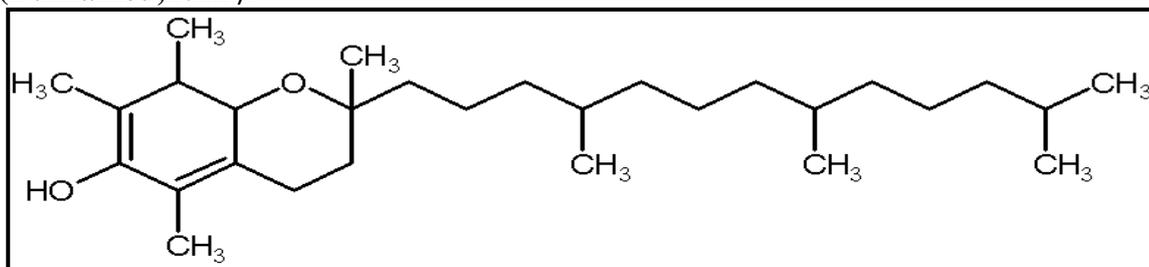


Figure 11. Structure chimique d'alpha-tocophérol (Mohammedi ,2013)

### 3-1-4- Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (**SOHALet al., 2002**).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (**KOHEN et NYSKA, 2002**).

## 3-2- Les Polyphénols

### 3-2-1-Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire de plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 9000 structures connues différentes (**Bahorun, 1997**), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (**Akowauh et al., 2004**).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre rayons ultraviolet. Certains d'entre eux jouent un rôle de phytoalexines comme isoflavonoles permettant de lutter contre les infections causées par les champignons ou par les bactéries (**Makoi et al, 2007**)

### 3-2-2-Structures chimiques et classification des polyphénols

La structure chimique est identique à tous les polyphénols : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relie. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (**Boros, 2010**). En plus de cette diversité, les phénols sont présents naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux. Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes (figures 10)

-Les phénols simples (C<sub>6</sub>): un seul noyau phénol comme pour les acides phénoliques (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>).

- Les flavonoïdes (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>): 2 noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné.

-Les tanins hydrolysable et non-hydrolysable.

-Les stilbènes (C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>).

-Les lignanes, les lignines et les coumestanes : 2 unités de phénylpropane.

-Les saponines (triterpénoïdes)

-Les phytostérols et les phytostanols (**Paraskevi, Moutsatsou, 2007**). Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (**Dacosta, 2003**).

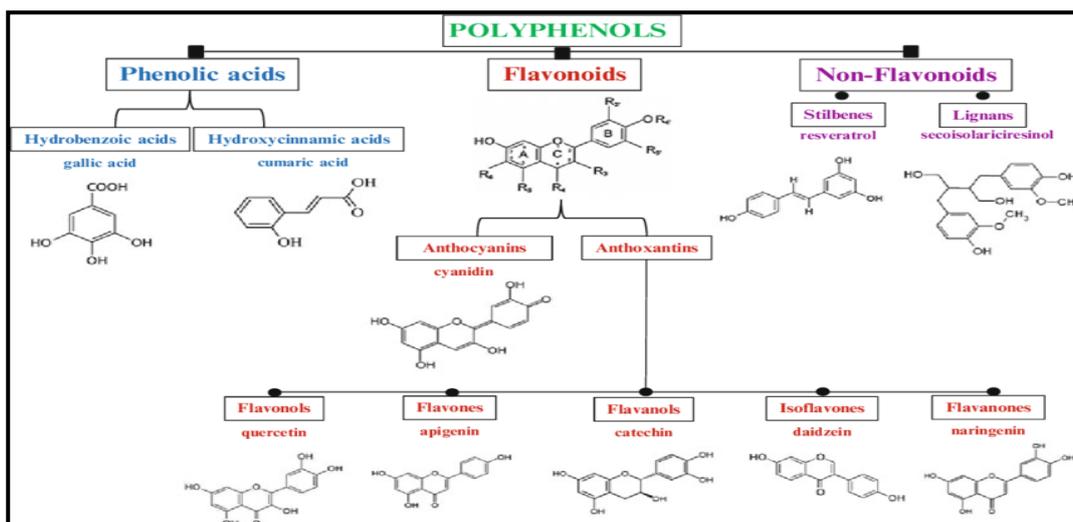


Figure 12. Classification des polyphénols avec structure chimique pour chaque classe

### **3-2-3-Effets biologiques des polyphénols**

#### **3-2-3-1-Effet antioxydant et polyphénols**

Les polyphénols ont une multitude d'activité biologique dépendant de leur structure chimique. Ils constituent une famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT) (**Bounatirou et al, 2007**)

L'activité antioxydante des polyphénols est reconnue et pourrait expliquer leur rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives car la principale caractéristique des polyphénols est qu'ils sont des agents antioxydants très puissants (**Pietta 2002, Frei et Higdon 2003, Oszmianski 2007**). En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Ce principe a été utilisé dans la fabrication de plusieurs médicaments, comme le Daflon produit à base de diosmine. Cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les radicaux bon mauvais (qui peuvent être les deux), comme l'oxyde nitrique qui favorise une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules de ce dernier (**Srivastava 2000, Kenny 2007**).

#### **3-2-3-2- Mécanismes et pouvoir antioxydant des polyphénols**

Plusieurs études épidémiologiques ont montrés qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols et le risque des maladies neuro-dégénératives (**Hu, 2003 ; Bubonja-Sonja et al., 2011**).

Cette relation est liée au fait que les composés phénoliques possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement tels que O<sub>2</sub> (Superoxyde anion), HO<sub>2</sub> (Superoxy radical), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hydrogène peroxyde), OH (Hydroxyle Radical), RO· (Alkoxy radical), ROO· (Peroxy radical) (**Bors, 1990 ; Yamasaki et al., 1996**). Ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (**Laughton et al., 1989 ; Puppo, 1992**).

### **3-3-Les flavonoïdes**

#### **3-3-1-Définition**

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par Geissman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), provenant du mot latin flavus qui signifie jaune (**Bouakaz, 2006**). Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits, sont présents en concentrations élevées dans l'épiderme des feuilles et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation (**Loto, 2011**).

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. A ce jour, plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été décrits. On estime que 2 % environ du carbone organique photosynthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (**Lhuillier, 2007**)

Les plus couramment vendus ou utilisés en tant que compléments alimentaires. La vanilline et l'acide vanillique, le resveratrol, l'acide ellagique, les curcumine, stilbène, epigallocatechine gallate et la quercétine (**Ferguson, 2001**).

### 3-3-2- Structures chimiques et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont un groupe des polyphénols et sont caractérisés par une structure de diphenyl propane (GUIGNARD, 1996) Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atome de carbone (C6-C3-C6) contiennent deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (Jean,1996).

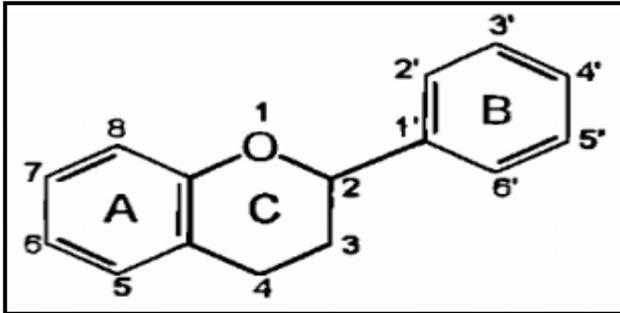


Figure 13. Structure de base des flavonoïdes.

-Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes présentées les principales : anthocyanes, flavanols, flavones, flavanones, isoflavones et proanthocyanidols.

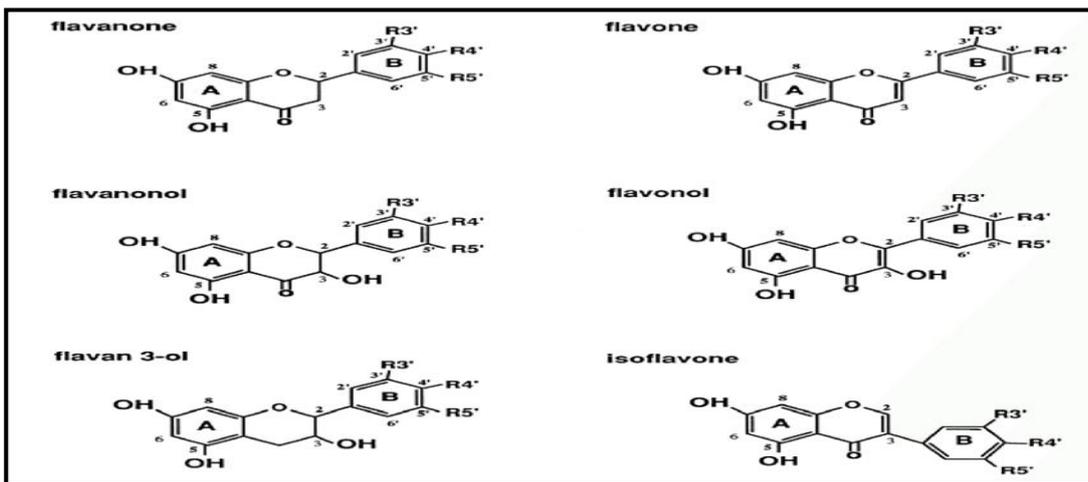


Figure 14. Les diverses classes de flavonoïdes d'après Bruneton (Bruneton, 1999).

### 3-3-3- Effets biologiques des Flavonoïdes

#### 3-3-3-1- Effets antioxydant et pro-oxydant

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité anti-oxydante prononcée (Hodek, 2002). Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes(Boudiaf, 2006).

Les flavonoïdes sont des antioxydants mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides in vitro . Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (Milane, 2004).

### 3-4-Activité antimicrobienne

Les plantes possèdent un système de défense naturelle très efficace, basé sur la biodiversité de leurs métabolites secondaires .Cette diversité, des groupes structuraux et fonctionnels ,permet de se protéger efficacement contre de nombreux pathogènes tels que les bactéries et les champignons et les virus .Les plantes synthétisent de manière constitutive ou induite ,une multitude de molécules antimicrobiennes (Jone et Dangl,2006 ;Gibbon et coll,2008).

#### 3-4-1-Les micro-organismes

Les micro-organismes aussi appelés microbes, forment un ensemble d'organismes vivants microscopiques, invisibles à l'oeil nu. C'est leur seul point commun, car ils diffèrent et varient par leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie.

D'après son étymologie, le mot micro-organisme signifie « petit organisme ». En effet, les micro-organismes sont de minuscules organismes vivants invisibles à l'oeil nu et présents presque partout sur terre. Ils ont un rôle essentiel dans la nature mais sont source de nombreux problèmes dans l'industrie alimentaire. Leur activité métabolique modifie la composition des aliments qu'ils ont infectés (Yahiaoui, 2015).

#### 3-4-2- Les différents types de micro-organismes

##### 3-4-2-1-Les bactéries

Les bactéries sont des organismes minuscules que l'on trouve à peu partout .Elles manifestent parfois leur présence –les blessures s'infectent, le lait s'acidifie, la viande se putréfie mais habituellement nous les ignorons parce que leurs activités sont moins évidentes et à cause de leur petite taille .Il fallu attendre l'apparition du microscope, au 16<sup>ème</sup> siècle pour que l'on découvre leur existence.

Dans la plupart des cas, la bactérie est un être unicellulaire autonome .La cellule bactérienne présente une organisation procaryote et diffère de façon marquée des cellules eucaryotes des animaux et des plantes.

On place les bactéries dans la catégorie des « micro-organismes ».Ceux-ci comprennent, outre les bactéries, plusieurs types d'autres organismes-les algues, les champignons, les lichens , les protozoaires et les virus .Si toutes les bactéries sont des micro-organismes , tous les micro-organismes ne sont donc pas des bactéries

Les bactéries sont la cause de quelques maladies graves, ainsi que de multiples affections bénignes.la prévention et le contrôle de ces maladies dépendent en grande partie des efforts des bactériologistes, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire ou en agriculture .Les bactéries pathogène (c'est –à-dire celles qui causent des maladies) (Singleton, 2004)

Leur taille s'exprime le plus souvent en micromètre et elle est excessivement variable au sein du monde bactérien. Les plus petites bactéries ont une taille de 0.1à 0.2 µm alors que d'autres ont un diamètre supérieur à 10 µm .Elle se présentent sous des formes variées chaque forme ayant une appellation particulier :

-les coques : bactéries sphériques de 1 à 2 µm de diamètre

-les bacilles : bactéries cylindriques :

- Bactéries en forme de bâtonnets réguliers de 1 à 10 µm
- Bactéries incurvées appelées vibrions
- Bactéries en forme de fuseau appeées fusiformes

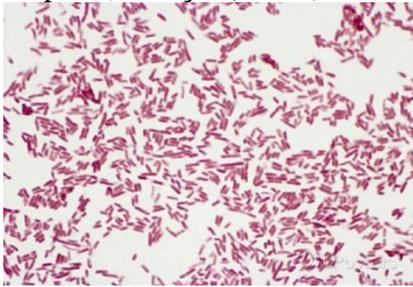
-les bactéries spirilles ou spirochètes , de forme hélicoïdale ,de 3 à 5000 µm (Brelière,2010)

### 3-4-2-2-Quelques bactéries

La classification de Bergey sépare les bactéries selon la présence ou non d'une paroi et selon la nature de cette paroi, que l'on peut déterminer grâce à la coloration de GRAM donc on distingue :

**-Bactérie à Gram négative** : bactérie qui lors d'une coloration par la méthode de Gram, apparaît rose, elle possède une paroi peu épaisse perméable à l'alcool (**Bordenave, 2009**) . tels que les bactéries suivants :

- **Escherichia coli** : Egalement appelée colibacille et abrégé E. Coli, Découverte en 1885 par theodor Escherich dans des selles de chèvres. *Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie intestinale (Gram négative qui s'établit dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La majorité des souches de *E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes qu'ils peuvent être entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, ouspsis (**François, 2018**).



**Figure15.Bactérie Escherichia coli(Bordenave, 2009).**

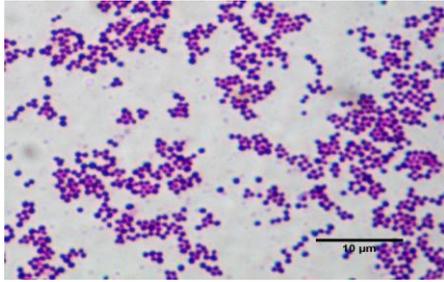
- **Pseudomonas aeruginosa** : Le mot est composé des mots *Pseudomonas* grecs qui veut dire Germe et *Aeruginosa*, qui veut dire vert-de-gris en latin .Autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique, bacille du pus bleu, est une bactérie Gram (-)négative du genre *Pseudomonas*.Les bacille sont fins , droits et très mobile grâce à un flagelle polaire, elle peut dans certains conditions, être pathogène .Très résistance (**Bordenave, 2009**).



**Figure 16.Bactérie Pseudomonas aeruginosa(Bordenave, 2009).**

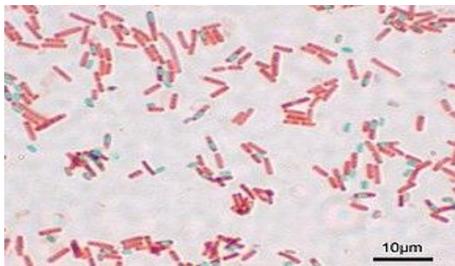
**-Bactérie à Gram positive** : bactérie qui lors d'une coloration par la méthode de Gram, reste coloré en violet .Elle possède une paroi épaisse imperméable à l'alcool (**Bordenave, 2009**) . Telles que les bactéries suivantes :

- **Staphylococcus aureus** :elle est l'espèce la plus pathogène de genre staphylococcus ,c'est une bactérie Gram positive sous forme des coques ( environ 1  $\mu\text{m}$  de diamètre) , souvent en amas .Certaines espèces contiennent des pigments caroténoïdes oranges ou jaunes , non mobile .anaérobies facultatif. Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes (**Msadek, 2016**).



**Figure 17. Bactérie Staphylococcus aureus (Bordenave, 2009).**

- **Bacillus subtilis** : est une bactérie à Gram positif vivant dans le sol. Sa longueur varie de 2 à 4 μm et sa largeur de 0,5 à 2 μm. Sous forme des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Elle est aérobie (**Bordenave, 2009**).



**Figure 18. Bactérie Bacillus subtilis (Bordenave, 2009).**

### 3-4-2-2- Les champignons

Tout comme les bactéries, les champignons sont présents dans le sol, l'eau et l'air. Le terme champignons nous évoque spontanément les cèpes, les morilles et autres espèces comestibles ou non qui sont constituées d'un chapeau et d'un pied. Mais nous allons nous intéresser aux champignons microscopiques. Ce sont des microorganismes eucaryotes caractérisés par la présence d'une membrane nucléaire et de mitochondries. Ils sont ubiquitaires et très répandus dans la nature, notamment au niveau des végétaux en décomposition. Parmi lesquels on distingue les levures et les moisissures.

#### 3-4-2-2-1- Les levures

##### - Définition

Le mot levure, selon **Phaff et al. (1968)**, provient du mot latin « levare » qui se traduit par lever. Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'aptitude de ces micro-organismes à produire de CO<sub>2</sub> pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (**Oteng-Gyang, 1984**).

Les levures sont des eucaryotes chimio-hétérotrophe, c'est-à-dire qu'elles sont capables de tirer leur énergie à partir des réactions d'oxydo-réduction ou de fermentation de composés chimiques tels que les sucres (**Guiraud et Galzy, 1998 ; Guiraud, 1996**). Elles sont ubiquitaires, on les rencontre fréquemment dans les eaux, le sol, les feuilles de végétaux, les moûts de fruits, à la surface ou à l'intérieur d'autres êtres vivants, etc., (**Bouix et Leveau, 1991 ; Scriban, 1993 ; Leveau et Bouix, 1993 ; Pol, 1996**).

Les levures présentent un grand nombre d'applications industrielles par rapport aux procaryotes et possèdent un capital génétique qui subit peu de mutations (**Larpent, 1990 ; Pol, 1996**).

## -Quelques levures

- **Candida albicans** : *Candida albicans* est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. *Candida albicans* est un organisme vivant à l'état naturel dans les muqueuses de l'être humain. On le retrouve dans 80 % de la population, et il n'entraîne habituellement aucune maladie ou symptôme en particulier. C'est un organisme commensal saprophyte. Elle provoque des infections fongiques (candidiase ou candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Les candidoses sont une cause importante de mortalité chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du sida, les patients cancéreux sous chimiothérapie. Au laboratoire médical, la culture en boîte de Pétri des *Candida* donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche ou crème (*albicans* signifie « blanchâtre ») (Brelière, 2010)



Figure 19. la levure *Candida albicans* (Brelière, 2010).

- **Saccharomyces cerevisiae** : *Saccharomyces cerevisiae* est un micro-organisme, une levure particulière parmi tous les ferments, levains, levures, etc. utilisés depuis la haute Antiquité : les Égyptiens, les Babyloniens, mais également les Celtes, l'utilisaient pour la fabrication de boissons fermentées, du pain. Il est un eucaryote unicellulaire, se présentant sous forme de cellules isolées, ovoïdes à arrondies, longues de 6 à 12  $\mu\text{m}$  et larges de 6 à 8  $\mu\text{m}$  (Brelière, 2010).

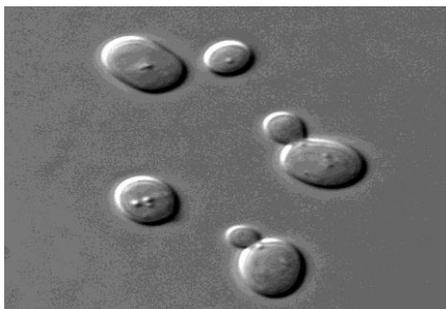


Figure 20. La levure *Saccharomyces cerevisiae* (Brelière, 2010).

# Matériel et Méthodes



## 1-Matériel et Méthodes

### Ce travail a été effectué au niveau :

- Les laboratoires de centre de recherche Sidal, Gué de Constantine Alger, ces laboratoires sont :
  - Laboratoire de pharmacologie et toxicologie pour l'activité antioxydant.
  - Laboratoire de microbiologie pour l'activité antibactérienne et antifongique.
  - Laboratoire de Substance naturelle pour le Screening, Dosage des polyphénols et Dosage des Flavonoïdes.

### 1-1-Matériel

Notre étude a porté sur la plante d'Aloe vera L., cette plante est d'origine de la région de Tipaza âgée de 4 ans et a été cultivée pendant une année avec des conditions confortables au niveau de la serre d'Agronomie au niveau de la faculté de l'Agronomie Université Saad Dahlab Blida-1. Cette plante a été récoltée le mois de Février 2019.



Figure 21. La plante d'Aloe vera L. (Anonyme 2019).

#### 1-1-1- Matériel biologique

##### 1-1-1-1-matériau végétal

Dans notre étude, on a utilisé la feuille de la plante d'Aloe vera L.

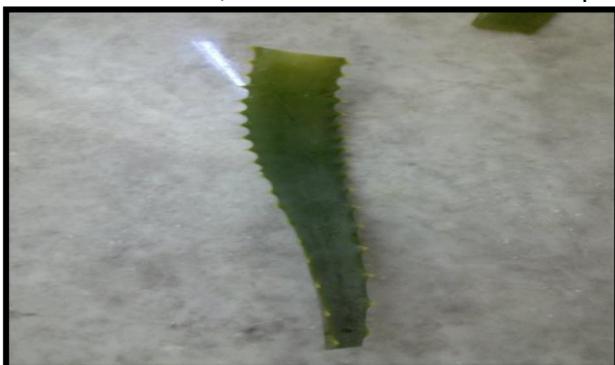


Figure 22. La feuille de la plante d'Aloe vera L. (Anonyme 2019)

### 1-1-1-2-Matériau microbienne

Les souches bactériennes et fongiques utilisées sont des souches de référence obtenues du laboratoire de microbiologie au niveau de l'unité biotique de SAIDAL gué de Constantine Alger .Les 6 souches utilisées dans l'activité antimicrobienne sont représenté dans (**le tableau 4**).

**Tableau 4. Les six souches utilisées dans l'activité antimicrobienne références (SAIDAL, Gué de Constantine).**

<b>Souches Microbiennes</b>	<b>Gram</b>	<b>Espèce</b>	<b>Référence</b>
<b>Souches Bactériennes</b>	<b>+</b>	<b>Staphylococcus aureus</b>	<b>ATCC6538</b>
		<b>Bacillus subtilis</b>	<b>ATCC6633</b>
	<b>-</b>	<b>Escherichia coli</b>	<b>ATCC8739</b>
		<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	<b>ATCC9027</b>
<b>Souches Fongiques</b>	<b>Les levures</b>	<b>Candida albicans</b>	<b>ATCC10231</b>
		<b>Saccharomyces cerevisiae</b>	<b>ATCC9763</b>

### 1-1-2-Matériau non biologique

L'ensemble des réactifs, l'appareillage, verrerie, Réactifs et préparation sont donnés (**annexes 1**).

## 1-2-Méthode

### 1-2-1- Récupération de gel des feuilles de l'Aloe vera L.

Notre étude a porté sur le gel d'Aloe vera L. âgés de 3 à 4ans. Ce gel est récupéré selon le protocole d'Iserin (2001) et Anonyme (2019).

-Légère incision à la base de feuille et la tirer dans le sens opposé à l'incision .



-Choisir les feuilles sains , et les bien nettoyer sous d'eau pour enlever les salissures et la poussière, puis tremper dans l'alcool pendant 5 min .



-Découper les côtés épineux de la feuille puis Coupez la feuille sur le bas de la plante (une feuille "basale") en deux . La feuille doit être en bon état.



-Recueillir le gel en raclant la feuille avec un cuillère de laboratoire stérilisé par bec benzène



Figure 23.Les méthodes de récupération le gel d'Aloe vera (Iserin,2001)

## **1-2-2- Etude phytochimique par le test de Screening**

### **1-2-2-1-Le principe**

Adopter technique de Screening pour déterminer les principes groupes de métabolites secondaires de gel d'Aloe vera .Screening chimique est un ensemble de technique phytochimique basés sur des colorimétrique.

### **1-2-2-2-Le protocole**

Le protocole du Screening est effectué selon Karumi (2004) ; Medjdoub(2013) ; Benariba (2013) ;Gheffour (2015) ;Memelink(2001) comme suit :

#### **-Tanins**

On ajoute 250µl de FeCl<sub>3</sub> (1%) à 1ml de gel frais suivi d'une incubation pendant 15min à température ambiante. L'apparition du couleur brun verdâtre veut dire la présence des tanins gallique et la couleur vire au bleu noire veut dire la présence des tanins catéchique.

#### **-Flavonoïde**

**A partir de test de Wilstater** : ajoutez à 5ml de gel frais 1ml de l'acide chlorhydrique concentré (HCL) et 3 copeaux de Magnésium où la présence de flavonoïdes est révélée par l'apparition d'une couleur blanc à jaunâtre.

#### **-Saponoside**

Dans un tube, 5ml de gel frais est agité énergétiquement pendant 15 secondes puis on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb et on le laisse reposer pendant 15 min. La présence de saponoside est indiquée par une phase aqueuse et parfois par une hauteur de mousse persistante.

#### **-Composés réducteurs**

Dans un tube contenant 1ml de gel frais on ajoute 2 ml de solution de Fehling (1ml de la Fehling A et 1ml de la liqueur de Fehling B), puis on incube le tube pendant 8 min dans un bain marie à 100°C dont l'apparition d'un précipite rouge brique indique leur présence.

#### **-Mucilage**

Dans un tube contenant 1ml de gel frais on ajoute 5 ml d'éthanol absolu puis on agiter 10 min à l'aide d'un vortex .L 'apparition une homogénéité est détecté la présence de mucilage.

#### **-Glycoside**

Ajouter à 1ml de gel frais quelques gouttes d'acide sulfuriques .L'apparition de couleur violette indiquer la présence de glycoside.

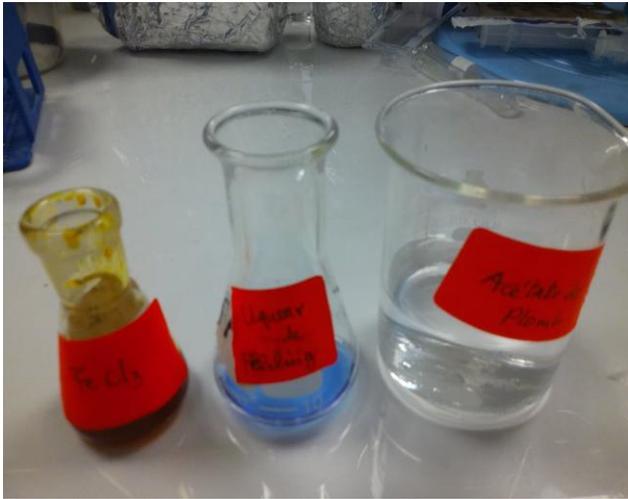
#### **-Alcaloïde**

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, le réactif de Mayer a été utilisé .L'ajoute de quelques gouttes de ce réactif (10g de KI et 2.7 g de Hgcl<sub>2</sub> dissous dans 20 ml de l'eau distillé) à 2ml de gel frais entraine la formation d'une précipitation blanc ou blanc-jaune en présence des alcaloïdes.

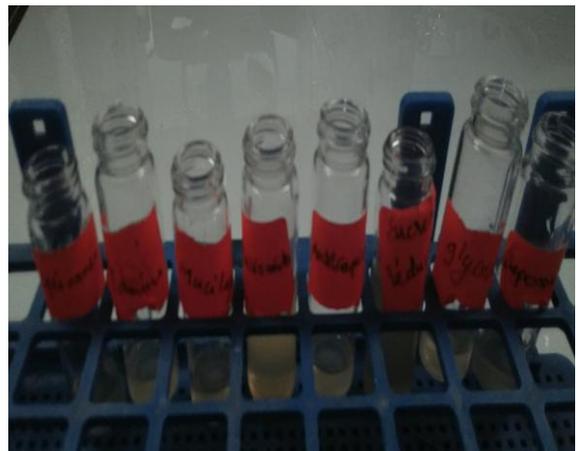
#### **-Anthraquinones**

Ajoutez 0.5ml de NH<sub>4</sub>OH (10%) à 1ml de gel frais après agitation l'apparition une phase aqueuse indique leur présence.

**1-Préparation les solutions de FeCl<sub>3</sub>, liqueur de Fehling(Fehling A+FehlingB) ,réactif de Mayer**



**2-Les méthodes de Screening pour chaque métabolite secondaire.**



**Tableau 5.** Une récapitulation des principaux étapes de test Screening (Anonyme, 2019)

## 1-2-3-Activité antioxydant

### 1-2-3-1-Le pouvoir antiradicalaire par méthode DPPH

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), fut l'un des premier radicaux utilisés pour étudier structure / activité antioxydant des composés phénoliques. Depuis certaines modifications ont été apportés et un paramètre important a été induit : la détermination de la IC<sub>50</sub>, définit comme étant la concentration en substrat entrainant une diminution de 50% de l'absorption. A cette concentration, 50% du DPPH est sous forme réduite (**Brand,1995**).

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 diphenyl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Maataoui et al., 2006**).

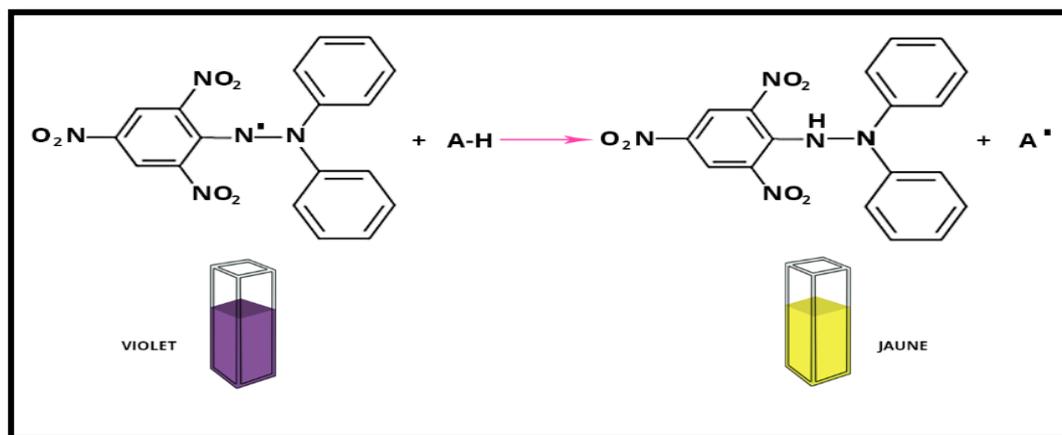


Figure 24 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

### 1-2-3-2-Le protocole

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (**Lopes-Lutz, 2008**).

1-Nous avons pesés sur un balance analytique 4 mg de gel et le dissoudre dans un 40ml de MeOH puis agiter vigoureusement à l'aide d'un vortex (agitateur) pendant 30 min. afin d'obtenir la solution mère.



2-Préparer dans un Bécher la solution du DPPH (4mg de DPPH dans un 100ml de MeOH) puis agiter vigoureusement à l'aide d'un vortex pendant 1 h.



3-Broyer la vitamine C à l'aide d'un mortier jusqu'à obtenir une poudre puis la dissoudre dans le méthanol et laisser agiter pendant 30min sur un agitateur.



4-A partir de solution mère on prépare 5 dilutions de différentes concentrations :700 µl, 500µl, 300µl, 200µl et 100µl .A ces dernières ,on ajoute respectivement 300µl ,500µl ,700µl ,800µl , 900µl du méthanol .On obtient les dilutions suivantes :0.7 mg/ml, 0.5mg/ml, 0.3mg/ml,0.2mg/ml et 0.1mg/ml .De chaque dilution on fait trois répétitions et on ajoute à chaque tube 2 ml de la solution de DPPH préparé précédemment .On prépare aussi trois tubes témoin qui comporte 100µl de méthanol et 2ml de solution de DPPH(test blanc) .Les tubes sont incubés à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 30minutes .

En parallèle, on évalue l'activité antioxydant par la méthode de DPPH en mesurant sa réduction par la vitamine C comme référence.-Enfin, l'absorbance de chaque tube est lue sur un spectrophotomètre à 517nm.



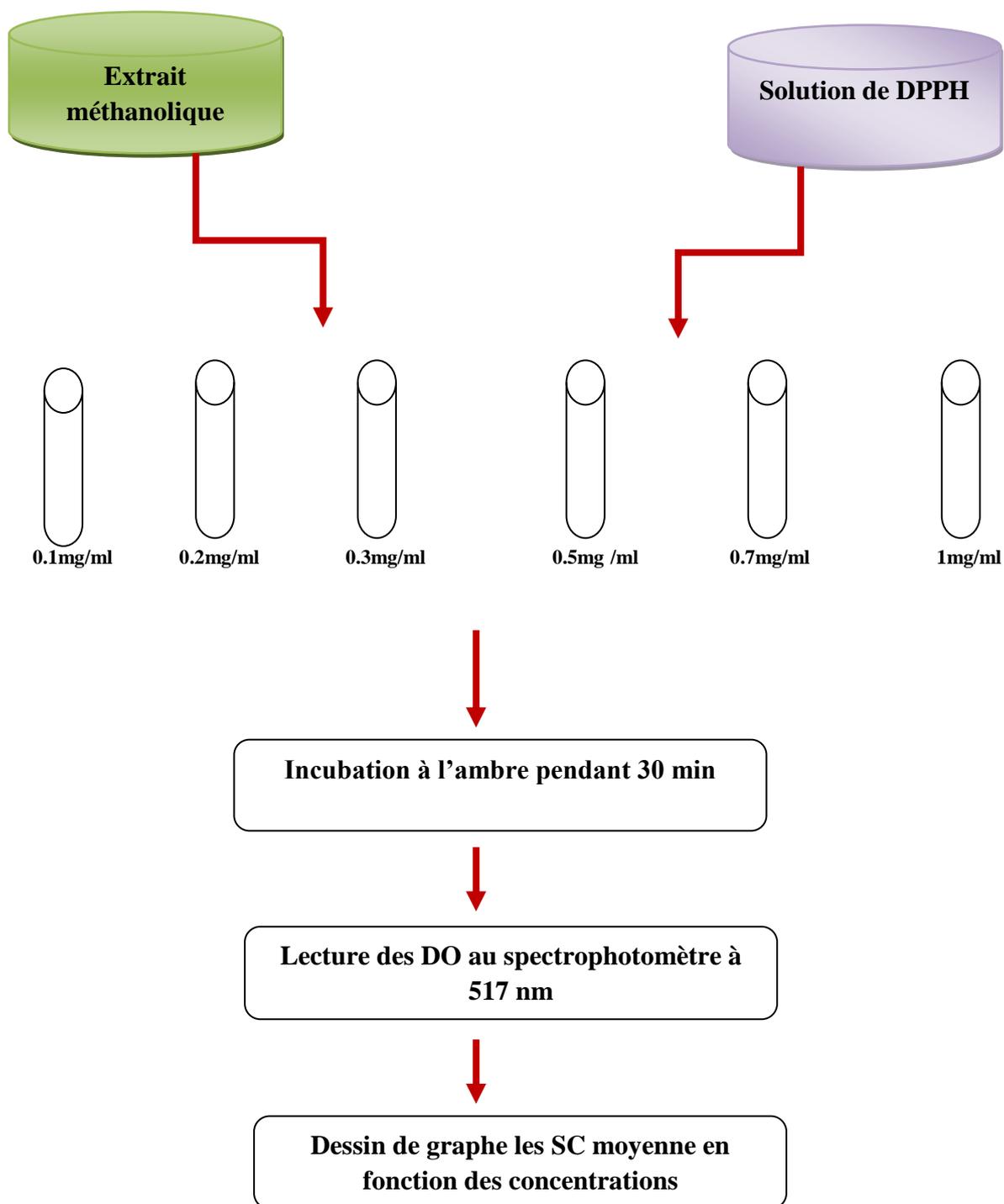
-Le graphique de la variation de l'absorbance en fonction des concentrations permet de déterminer la  $CI_{50}$  (la concentration correspond à 50% d'inhibition des radicaux libres ).Les différentes étapes sont notées sur la figures 25.Le pourcentage de l'activité de piégeage est mesuré selon l'équation suivante :

$$CI = A_0 - A_1 / A_0$$

**Tels que :**

**$A_0$**  : absorbance du témoin

**$A_1$**  : absorbance de chaque tube



**Figure 25.** Schéma générale de protocole expérimental de l'activité antioxydante.

## 1-2-4-Dosage des polyphénols totaux

### 1-2-4-1-Le principe

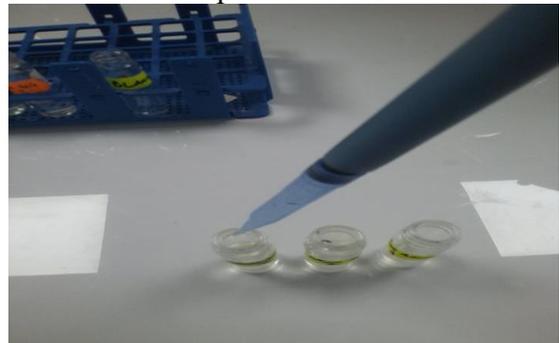
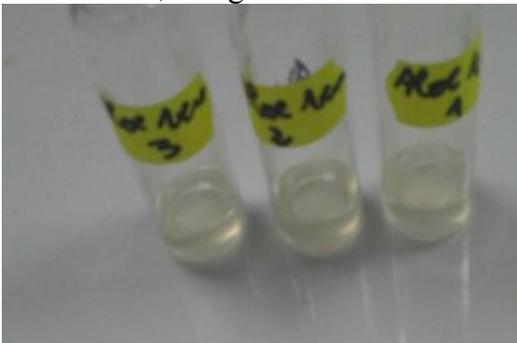
Le contenu en polyphénols totaux est mesuré par la méthode de Folin ciocalteu dont le principe repose sur la réduction du réactif de Follin par les composés phénoliques. Ce réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_4$ ) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène et de molybdène de couleur bleu et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium ( $NaCO_3$ ) (Dif, 2015).

### 1-2-4-2-Le protocole

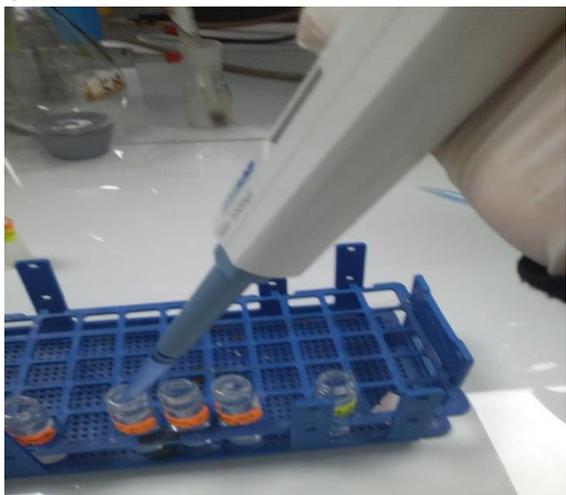
Le protocole de dosage est effectué comme suit :

**A-**Dans des tubes à essai introduire :

-125 $\mu$ l d'extrait méthanolique (**Annexe 2**) et 125 $\mu$ l de réactif de Folin-ciocalteu 0.2N et 500 $\mu$ l de l'eau distillé, on agite et on laisse à l'obscurité pendant 6 minutes à température ambiante



-En suite, on ajoute 1250  $\mu$ l de la solution de  $Na_2CO_3$  (**Annexe 2**) et 3ml d'eau distillé, on agite encore et laisser à l'obscurité pendant 1h à la température ambiante.



-L'absorbance est mesuré à 760nm contre un blanc sur spectrophotomètre UV-visible.

**B-**Une courbe d'étalonnage est préparé en utilisant l'acide gallique à des concentrations variables de 0 à 0.1 mg/ml à partir d'une solution mère d'acide gallique de 1mg/ml (**Annexe 2**) dissout dans l'eau distillé, cette courbe est réalisé dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, les teneurs en polyphénols sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec de la matière sèche.

Le blanc est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par le méthanol.



-L'absorbance est mesuré à 760nm contre un blanc sur spectrophotomètre UV-visible.

**Tableau 6.** Les principales méthodes de dosage des polyphénols totaux.

	1	2	3	4	5	6	7
<b>Concentrations (mg/ml)</b>	0	0.01	0.02	0.06	0.08	0.1	-
<b>Acide Gallique (µL)</b>	125	125	125	125	125	125	
<b>Echantillon (µL)</b>	-	-	-	-	-	-	125
<b>3 Répétition</b>							
<b>L'eau distillée (µL)</b>	500	500	500	500	500	500	500
<b>Folin-ciocalteu (µL)</b>	125	125	125	125	125	125	125
<b>Incubation pendant 6 minutes à température ambiante avec agitation</b>							
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7% (µL)</b>	1250	1250	1250	1250	1250	1250	1250
<b>L'eau distillée (µL)</b>	3	3	3	3	3	3	3
<b>Incubation pendant 90 minutes à l'obscurité</b>							
<b>Lecture à 760 nm</b>							

## 1-2-5-Le Dosage des Flavonoïdes totaux

### 1-2-5-1-Le principe

Le dosage des flavonoïdes totaux est estimé selon la méthode de trichlorure d'aluminium( $\text{AlCl}_3$ ) dont le principe est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par l' $\text{AlCl}_3$  entraînant ainsi la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510nm (Dif, 2015).

### 1-2-5-2-Le protocole

-A chaque 500 $\mu\text{l}$  d'extraits préparés à une concentration de 1mg/ml, on ajoute 2ml d'eau distillée et 150 $\mu\text{l}$  d'une solution de nitrite de sodium (Annexe 2).

-Après incubation à température ambiante pendant 6min, 150 $\mu\text{l}$  de chlorure d'aluminium (Annexe 2) est ajouté au mélange. L'ensemble des tubes subissent une deuxième incubation pendant 6min à température ambiante.

-Ensuite, on ajoute 2ml d'une solution d'hydroxyde de sodium (Annexe 2) et 200 $\mu\text{l}$  d'eau distillée est ajoutée pour ajuster le volume final à 5ml. Après 15min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 510nm contre un tube blanc (Tableau 06) (Benariba, 2013; Ardestani et Yazdanparast, 2007 ;Gheffour, 2015).

-Dans les mêmes conditions opératoires, on réalise une gamme étalon en utilisant la quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations (0-400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

- Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ}/\text{mg}$  d'extrait).

Tableau 7.Les principales méthodes de dosage des Flavonoïdes.

	1	2	3	4	5	6	7
Concentrations ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.4	-
Quercétine ( $\mu\text{L}$ )	500	500	500	500	500	500	-
Echantillon( $\mu\text{L}$ ) 3Répétition	-	-	-	-	-	-	500
L'eau distillée (mL)	2	2	2	2	2	2	2
$\text{NaNO}_2$ à7% ( $\mu\text{l}$ )	150	150	150	150	150	150	150
Incubation pendant 6 minutes à température ambiante avec agitation							
$\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ à 10% ( $\mu\text{l}$ )	150	150	150	150	150	150	150
Incubation pendant 6 minutes à température ambiante avec agitation							
$\text{NaOH}$ à4% (mL)	2	2	2	2	2	2	2
L'eau distillée ( $\mu\text{L}$ )	150	150	150	150	150	150	150
15min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante							
Lecture à 510 nm							

## 1-2-6-Détermination de l'activité antimicrobienne du gel d'Aloe vera L.

### 1-2-6-1-Le principe

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme et antifongogramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide.

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante.

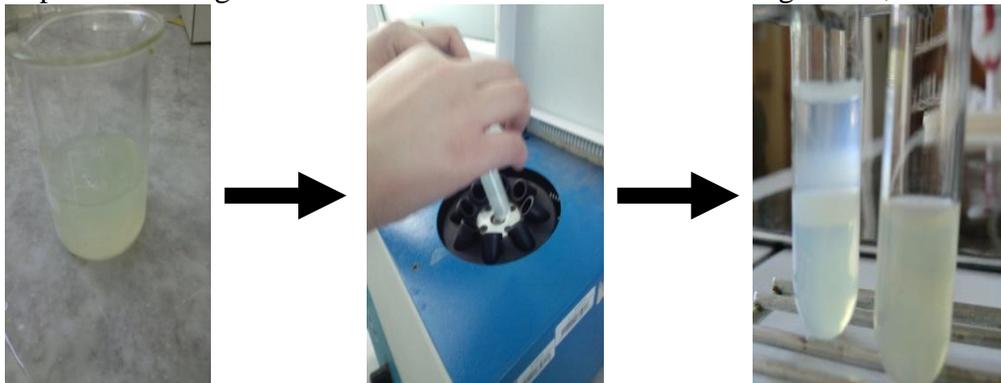
Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (**Broadsky, 1976**).

### 1-2-6-2-Le protocole

#### ➤ Préparation des extraits

Dans notre étude, différents types d'extraits ont été préparés à partir de gel frais d'Aloe vera (**Bourdeau, 2006**).

Une prise d'essai de 50 mg de gel frais d'Aloe vera L. qui consiste à broyer à l'aide d'un blender, jusqu'à l'obtention d'un liquide très gélatineux, ensuite centrifuger à 3000 tr/m pendant 15 min, et récupérer le surnageon le culot. Donc on obtient 3 extraits le gel frais, le surnageant et le culot.



#### ➤ Souches microbiennes testées

Il s'agit de 6 souches dont trois bactéries : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et deux levures : *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*. Qu'ils sont référencés par le centre de recherche – SAIDAL- laboratoire de microbiologie

#### ➤ Préparation des milieux de cultures

Selon les méthodes employées (Annexe 1), les milieux de cultures suivants ont été utilisés:

- **Gélose Mueller Hinton.**
- **Milieu Sabouraud.**
- **Gélose nutritive (GN).**

## ➤ Stérilisation de matériels biologiques utilisés

-Stérilisation des ambons et les disques dans une chambre des UV pendant 30 minutes.



-Stérilisation des verreries, des flacons et des tubes en verre dans l'autoclave à 90°C pendant 1h.



## ➤ Préparation de l'inoculum

Le protocole est effectué selon le protocole du groupe SAIDAL Gué de Constantine - Alger - (MO.BUGDC.DLCQ.014), laboratoire de microbiologie et Selon la pharmacopées européenne 8<sup>ème</sup> édition :

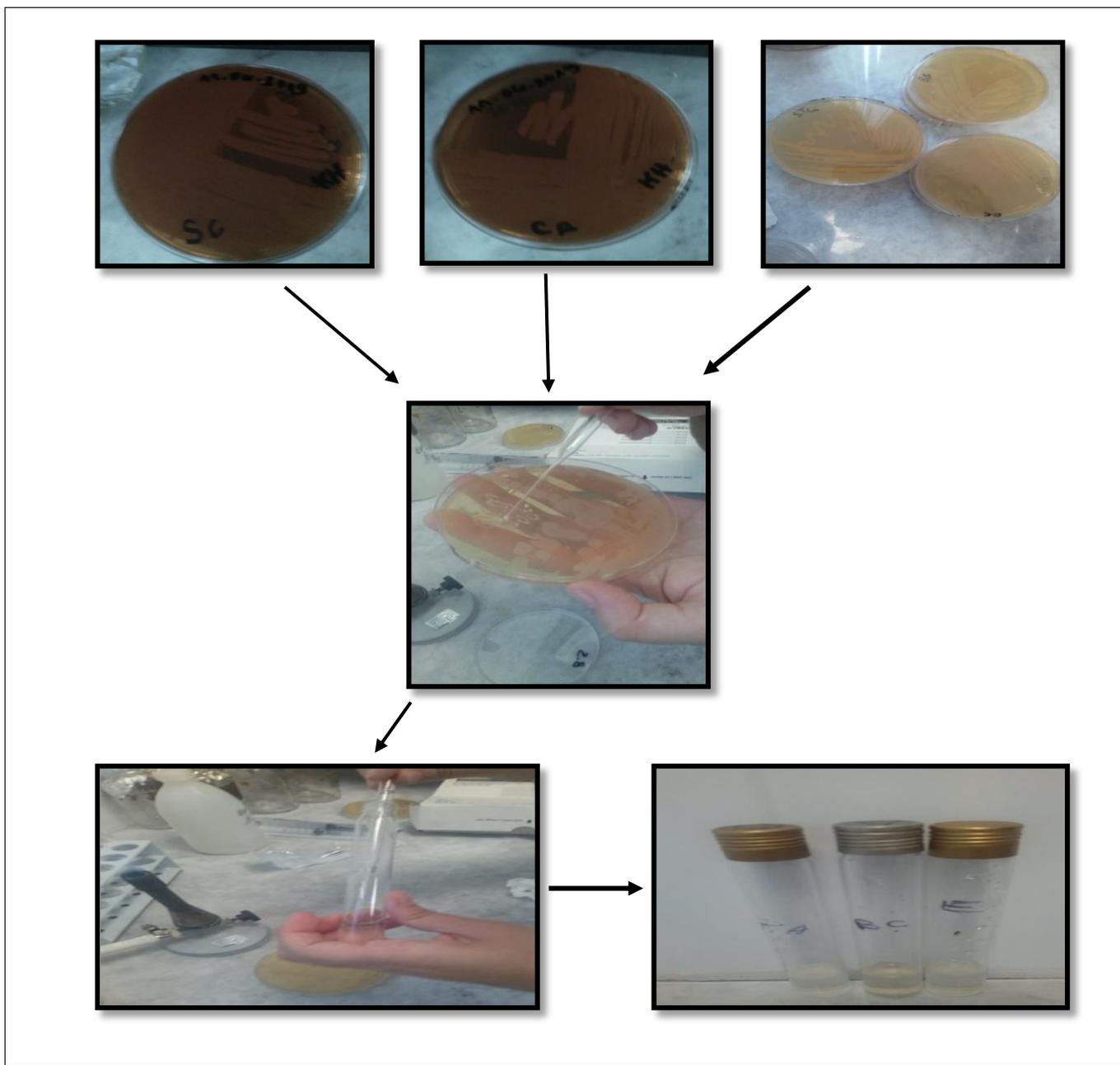
### 1-Pour les bactéries

- A partir d'une culture jeune de 18h, réaliser des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identique, et les mettre dans 05 ml d'eau physiologiques stérile
- Agiter au vortex ou manuellement pendant quelques secondes
- Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620nm et qui doit être entre (22% et 32%), ce qui correspond à une concentration de  $10^7$  et  $10^8$  germes/ml.

### 2-Pour les levures

- A partir d'une culture jeune de 48h, réaliser des suspensions en prélevant colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 05ml d'eau physiologiques stérile
- Agiter au vortex pendant quelques secondes
- Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde 620nm et qui doit correspond à une concentration de  $10^7$  et  $10^8$  germes /ml.

**NB :** Si la valeur obtenue de la première lecture pour les bactéries et les levures n'est pas comprise dans les intervalles voulus, les concentrations doivent être ajustées en ajoutant soit l'eau physiologique ou les colonies, et l'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.



**Figure 26.** Les différentes étapes de préparation une suspension microbienne (Anonyme 2019).

## ➤ Examen de l'échantillon

### • Préparation de la 1<sup>ère</sup> couche du milieu

-Faire fondre le milieu gélosé Muller-Hinton et le sabouraud qu'ils sont déjà préparer (**annexe 1**) dans un bain-marie à 95°C.

-Verser aseptiquement un 1<sup>ère</sup> couche dans les boites de Pétri à raison de 15ml par boîte avec 03 répétitions par souches.

-Laisser refroidir et solidifier sur la pailleasse



### • Préparation de la 2<sup>ème</sup> couche

-Faire fondre le milieu gélosé Mueller-Hinton et le sabouraud dans un bain-marie à 95°C.

-Baisser la température jusqu'à 45°C.

-Remplir des flacons en verres stériles avec 50 ml de Muller-Hinton pour les bactéries et avec 50ml de sabouraud pour les levures pour chacun des souches.

-Ensemencer les milieux de culture avec 200µL de chaque suspension.

-Agiter manuellement les flacons.

-Transvaser rapidement 4ml de chaque milieu inoculé en 2<sup>ème</sup> couche sur la surface des boites contenant déjà 1<sup>ère</sup> couche de gélose.

-Etaler rapidement en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme.

-Laisser solidifier sur la pailleasse.

*On prendre 200 $\mu$ L de suspension microbienne et 50 ml de Muller-Hinton et 50 ml de sabouraud pour chaque souche*



*Remplir des flacons en verres stériles avec 50 ml de Muller-Hinton pour les bactéries et avec 50ml de sabouraud pour les levures pour chacun des souches. Et on l'ajoute 200 $\mu$ L de chaque suspension.*



*Transvaser 4ml de chaque milieu inoculé en 2<sup>ème</sup> couche*



**Figure 27.** Les étapes de préparation la 2<sup>ème</sup> couche (Anonyme 2019)

## ➤ Dépôts des disques

-A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque stérile, l'imbiber avec surnageant et le culot et faire un trop et le remplir 15  $\mu$ L de gel frais de la plante d'Aloe vera , en mettant seulement en contact avec le bout du disque celui-ci va absorber progressivement jusqu'à imprégnation totale du disque .

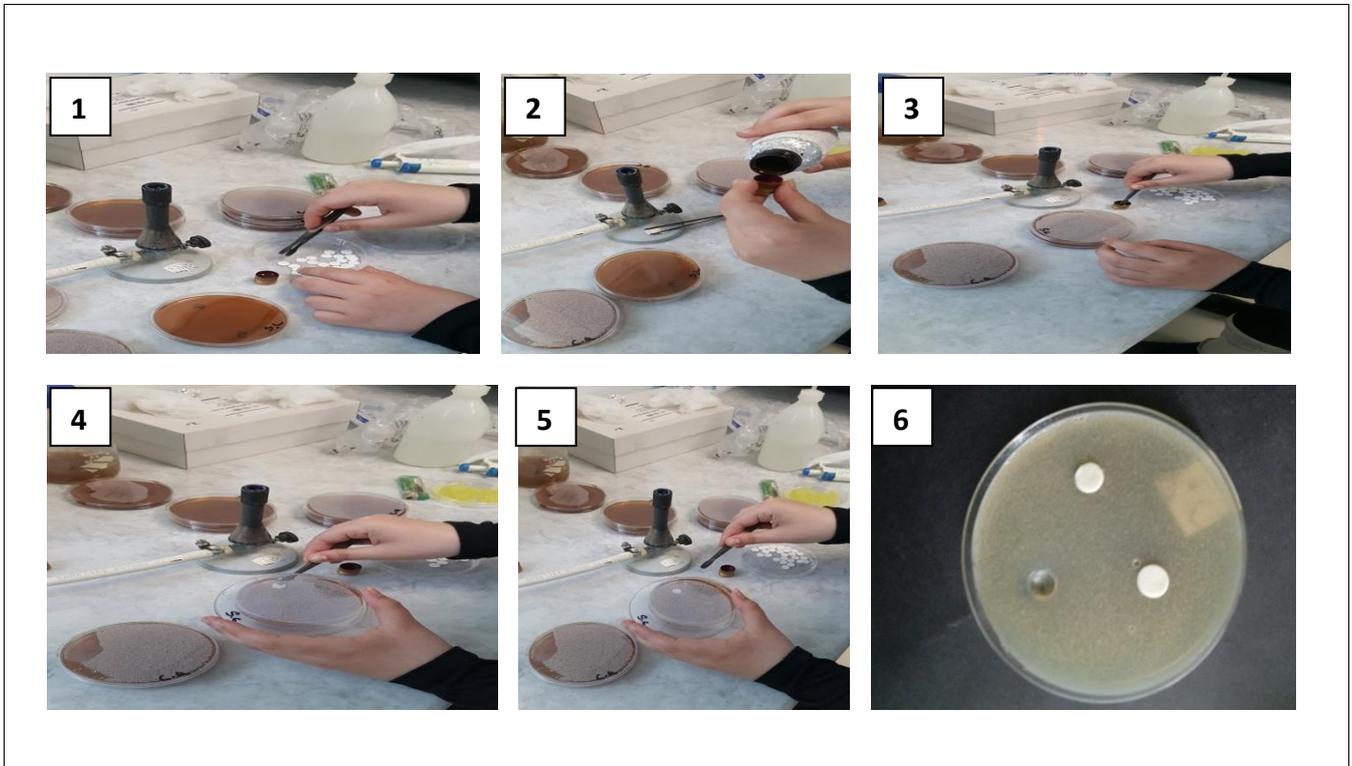


Figure 28.les étapes de dépôts des disques (Anonyme 2019).

## ➤ Pré-incubation et incubation

Les boîtes sont laissées pendant 15 minutes sur la pailasse à température ambiante .Puis sont incubées dans une étuve 18h à 35°C pour les bactéries et pendant 48h à 25°C pour les levures .



Figure29.Incubation des boîtes dans l'étuve (Anonyme 2019).

## ➤ Expression des résultats

-L'évaluation qualitative des extraits naturels de la plante d'Aloe vera est exprimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues après incubation pour chaque souche microbienne.

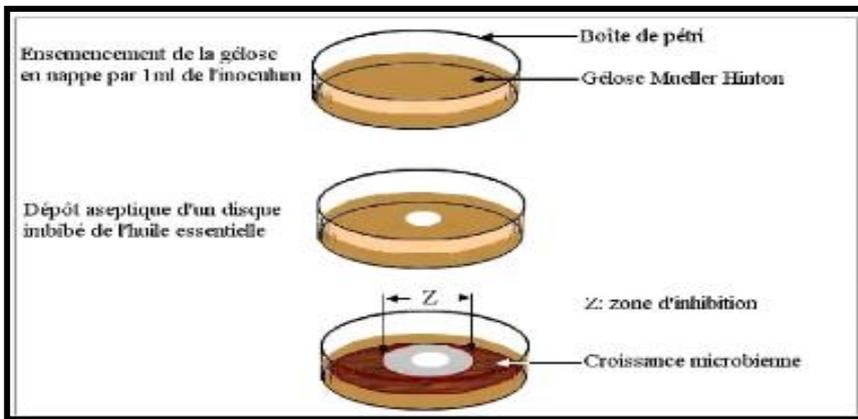


Figure30. Technique de diffusion des extraits sur la gélose

-L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne utilisées et celle donnée par (Mutai, 2009) :

- **Très fortement d'inhibitrice :  $D \geq 30$  mm.**
- **Fortement d'inhibitrice :  $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$  mm.**
- **Modérément inhibitrice :  $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$  mm.**
- **Légèrement inhibitrice :  $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$  mm.**
- **Non inhibitrice :  $D \leq 10$  mm**

# Résultat et Discussion



## 1-Screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions, sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le **(tableau 7)**, Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

**Tableau 8.** Résultats du test phytochimique de Gel d'Aloe vera L. **(Anonyme 2019)**

Métabolites secondaires	Observation	Résultats
Tanins	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>0</sub></b></p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>1</sub></b></p>  </div> </div>	(+++) L'apparition du couleur brun verdâtre donc la présence des tanins gallique.
Flavonoïde	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>0</sub></b></p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>1</sub></b></p>  </div> </div>	(+++) l'apparition d'une couleur blanc à jaunâtre.
Saponoside	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>0</sub></b></p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>1</sub></b></p>  </div> </div>	(-) Absence la phase aqueuse ou bien l'hauteur de mousse persistante.
Composés réducteurs	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>0</sub></b></p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>1</sub></b></p>  </div> </div>	(-) L'absence du couleur rouge brique.
Mucilage	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>0</sub></b></p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>T<sub>1</sub></b></p>  </div> </div>	(++) L'apparition de l'homogénéité.

Glycoside	<p style="text-align: center;"><b>T<sub>0</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>T<sub>1</sub></b></p> 	(-) L'absence de couleur violette.
Alcaloïde	<p style="text-align: center;"><b>T<sub>0</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>T<sub>1</sub></b></p> 	(+++) La présence d'une précipitation blanc ou blanc-jaune.
Anthraquinone	<p style="text-align: center;"><b>T<sub>0</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>T<sub>1</sub></b></p> 	(++) La présence d'une phase aqueuse.

- (+++) : Réaction fortement positive
- (++) : Réaction moyennement positive
- (-) : Réaction négative

D'après le tableau ci-dessus, la présence des tanins est révélée par la présence d'une couleur brun-verdâtre, ce qui indique la présence des tanins galliques par une réaction fortement positive, ainsi que pour les flavonoïdes, par l'apparition d'une coloration blanc à jaunâtre qui révèle leur présence. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Fadili K et al. (2015)**.

Pour le test de composés réducteurs, l'absence de la couleur rouge brique, ce qui indique une réaction négative, ainsi que pour les glycosides, l'absence d'une coloration violette, ce qu'indique une réaction négative. Alors que, nos résultats sont en infirmé avec les travaux de **Fadili K et al. (2015)**.

Les anthraquinones et le mucilage sont faiblement présents lorsque en comparant avec les alcaloïdes sont fortement présents.

En revanche, une absence totales des saponoside est observé, ce qui confirme les résultats de **Fadili K et al. (2015)**.

## 2-Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de Gel d'Aloe vera L. et de l'antioxydant standard (Vitamine C) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, en suivant la réduction de ce radical, qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH●) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à longueur d'onde de 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait de d'Aloe vera L.,Ce qui a permis l'obtention des courbes logarithmiques (**figure 31**), dont les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration du standard



Figure 31. Résultats du DPPH (Anonyme2019).

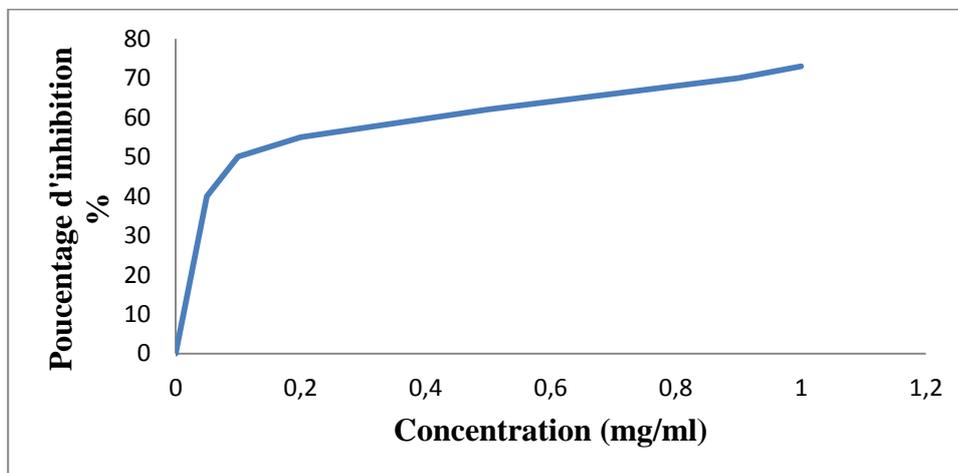


Figure 32. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait de Gel d'Aloe vera L.

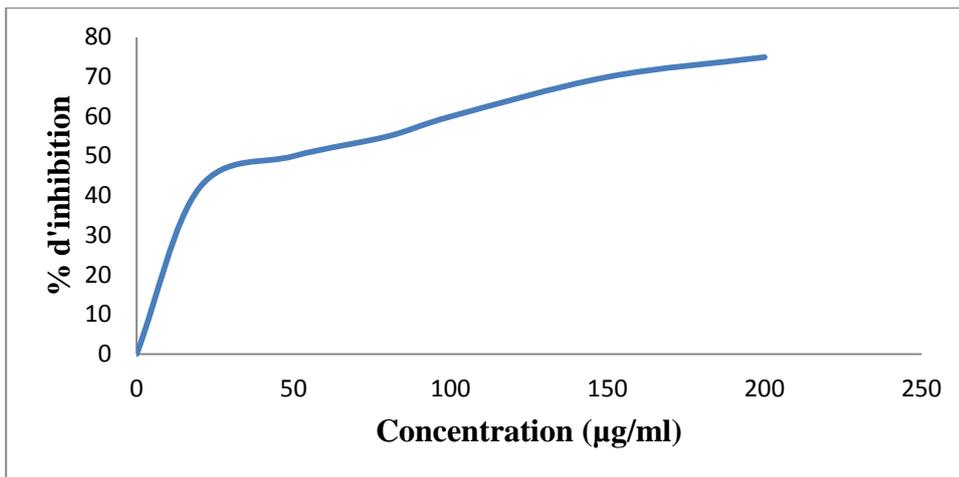


Figure 33. Pourcentage d'inhibition de l'acide Ascorbique (Vitamine C).

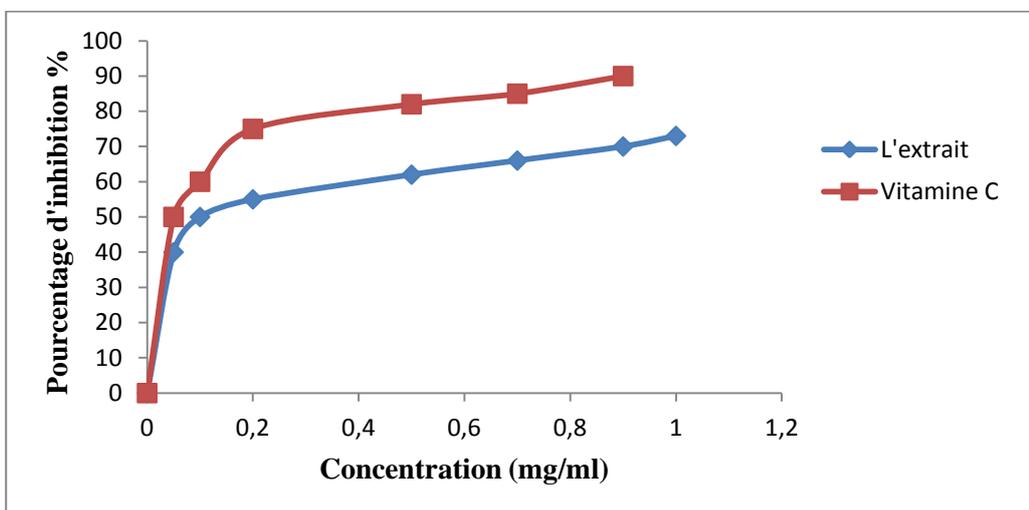


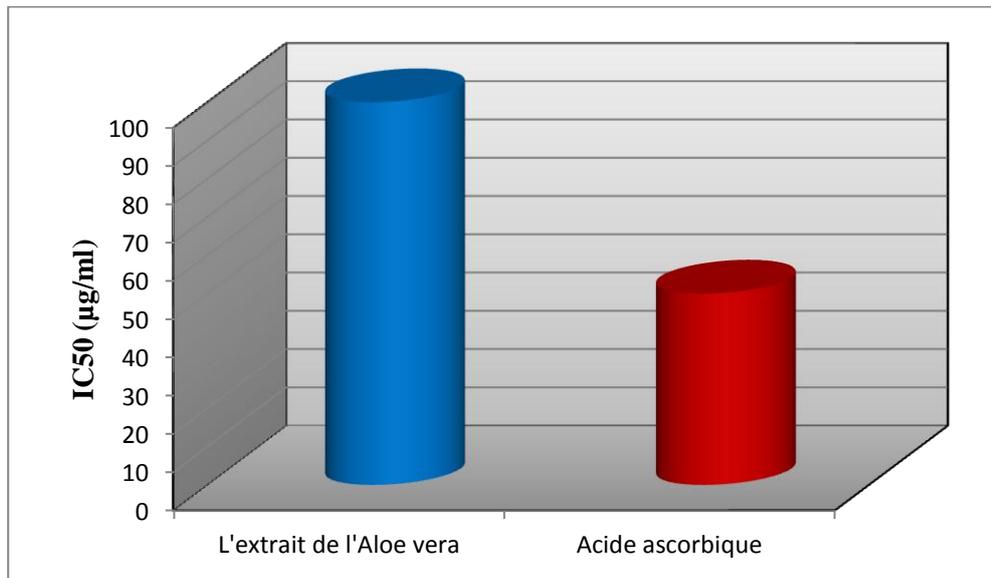
Figure 34. Courbe de régression d'acide ascorbique et la teneur d'inhibition du réducteur

-Les valeurs IC<sub>50</sub> déterminées en mg/ml exprimant la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH en dissolution dans du méthanol (Tableau 8).

Tableau 9. Pourcentage d'inhibition de l'extrait de Gel d'Aloe vera L. et de la vitamine C

	IC <sub>50</sub> (mg / ml)
L'extrait	0.1
Vitamine C	0.05

Les résultats d'IC<sub>50</sub> obtenus d'extrait étudié sont représentés sous forme d'histogrammes (**Fig.34**) en comparaison avec les IC<sub>50</sub> d'acide ascorbique (Vitamine C).



**Figure 34. Histogramme représentant les valeurs d'IC<sub>50</sub> d'extrait étudié et Acide ascorbique**

Selon les résultats enregistrés, l'extrait méthanolique est doté d'un pouvoir antioxydant important, IC<sub>50</sub> est de 0,1 mg/ml mais relativement faible que celle de la vitamine C dont la valeur est de l'ordre de 0,05 mg/ml.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (**De Pooter, 1986**).

Il est clair que même à de faibles concentrations, l'extrait montre un pourcentage d'inhibition important, ce qui permet de déduire que les composés phénoliques contenus dans l'extrait méthanolique de Gel d'Aloe vera L. sont très efficaces comme antioxydants.

Nos résultats sont inférieurs par rapport à ceux rapportés par **Fadili K et al. (2015)**, dont IC<sub>50</sub> est de 0,001 mg/mL et 0,05 mg/mL respectivement pour l'extrait méthanolique et le standard l'acide ascorbique.

Selon (**la figure 32 et 33**) on constate que, le pourcentage de l'activité anti-oxydante augmente graduellement ou progressivement c'est une relation proportionnelle.

De cette comparaison, nous constatons que notre extrait possédant une forte capacité de piégeage des radicaux libres. Cela prouve que cet extrait possède un pouvoir réducteur très élevé, et on peut l'expliquer par la présence importante des antioxydants naturels.

À des fins comparatives un antioxydant standard est utilisé : l'acide ascorbique. Il a montré une activité antiradicalaire très puissante avec IC<sub>50</sub> de l'ordre de 0,05 mg/ml. La valeur d'IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique est supérieure à celle rapportée auparavant (IC<sub>50</sub> = 0,42 mg/ml) par **Viuda-Martos (2010)**.

Selon **Hu et al.,(2003)** l'âge d'Aloe vera L. a un impact sur les propriétés antioxydants, en tant qu'extrait d'Aloe vera .Que trois années ont démontré une activité antioxydante plus élevée que cela de deux et celui de quatre ans .Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est élevé (**pokorny,2012**).

Ceci indique qu'une valeur faible d'IC<sub>50</sub> indique une activité antioxydante forte, d'un autre coté il existe une corrélation entre la concentration des polyphénols et l'activité antioxydante, ce qui confirme que les polyphénols sont des antioxydants puissants, capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (**Hua,2008**) .En effet l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait (**Fallah,2008**).

### 3- Dosage des polyphénols totaux

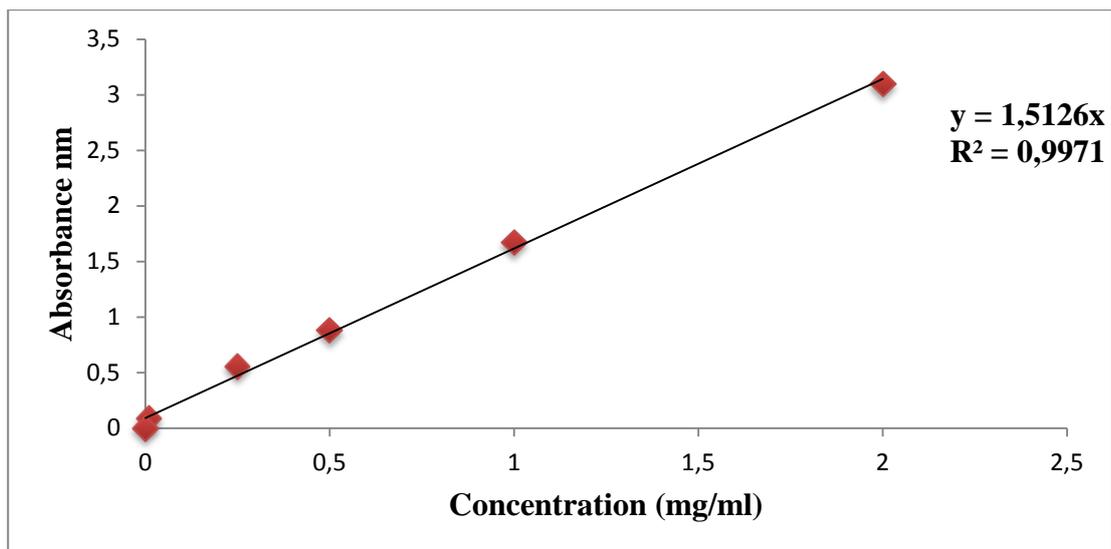
La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales. Le dosage colorimétrique de Foline-Ciocalteu nous a permis d'avoir une idée sur les variations qualitatives des composés phénoliques précisément les polyphénols totaux.



**Figure 35.Résultats de l'acide gallique (Anonyme 2019).**

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (**figure 35**) ayant l'équation et un coefficient de corrélation :

$$Y=1.5126x \text{ et } R^2=0.9971$$



**Figure 36.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  écart type de trois essais).

La méthode de Folin-Ciocalteu a été choisie pour le dosage des polyphénols et ce pour les raisons suivantes :

- c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité.
- la disponibilité du réactif de Folin.
- la grande longueur d'onde (765 nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré.
- c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde (**Huang, 2005**), mais l'inconvénient de cette méthode est qu'elle ne donne qu'une estimation grossière du taux de polyphénols totaux présents dans un extrait végétal ; elle n'est pas spécifique aux composés phénoliques réagissent différemment à ce test, en fonction du nombre de groupes phénoliques qu'ils contiennent polyphénols, mais de nombreux interférents peuvent réagir avec le réactif donnant une concentration apparente élevée en produits phénoliques (**Prior, 2005**).

Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g MS). Les résultats indiquent que la teneur moyenne en phénols totaux de l'extrait méthanolique d'Aloe vera L. est de  $301,44 \pm 3,44$  mg EAG/g.

Notre résultat sur la teneur en polyphénol est comparable à celle rapportées par **Stephanovits (2003)** et **Yesil-Celiktas (2007)**.

Cette valeur est beaucoup plus élevée que celle trouvée par : **Stephanovits B Et al. (2003)**, qui est de l'ordre de  $128,976 \pm 9,257$  mg EAG/g MS.

Les teneurs reportés par **Yesil-Celiktas O et al. (2007)**, qui ont mené des études sur les teneurs en composés phénoliques totaux issus de trois régions différentes de Turquie, variaient entre 70,3 et 147,3 mg EAG/g, sont très faibles par rapport à nos résultats.

## 4-Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) de l'extrait méthanolique de Gel d'Aloe vera L. a été rapportée en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/ g MS).

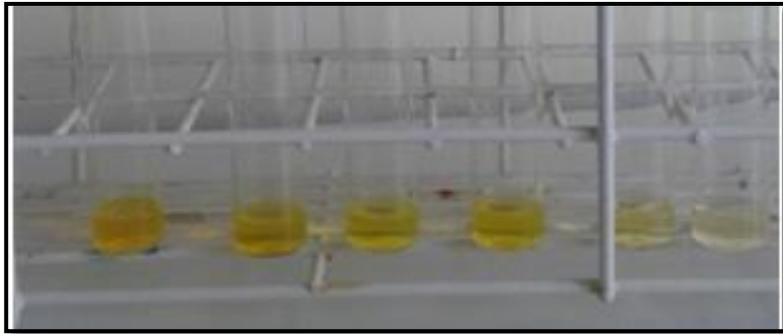


Figure 37. Résultats de la Quercétine (Anonyme 2019)

La courbe d'étalonnage du standard est établie avec l'équation et un coefficient de corrélation :

$$Y=0.0007x \quad \text{et} \quad R^2=0.9977$$

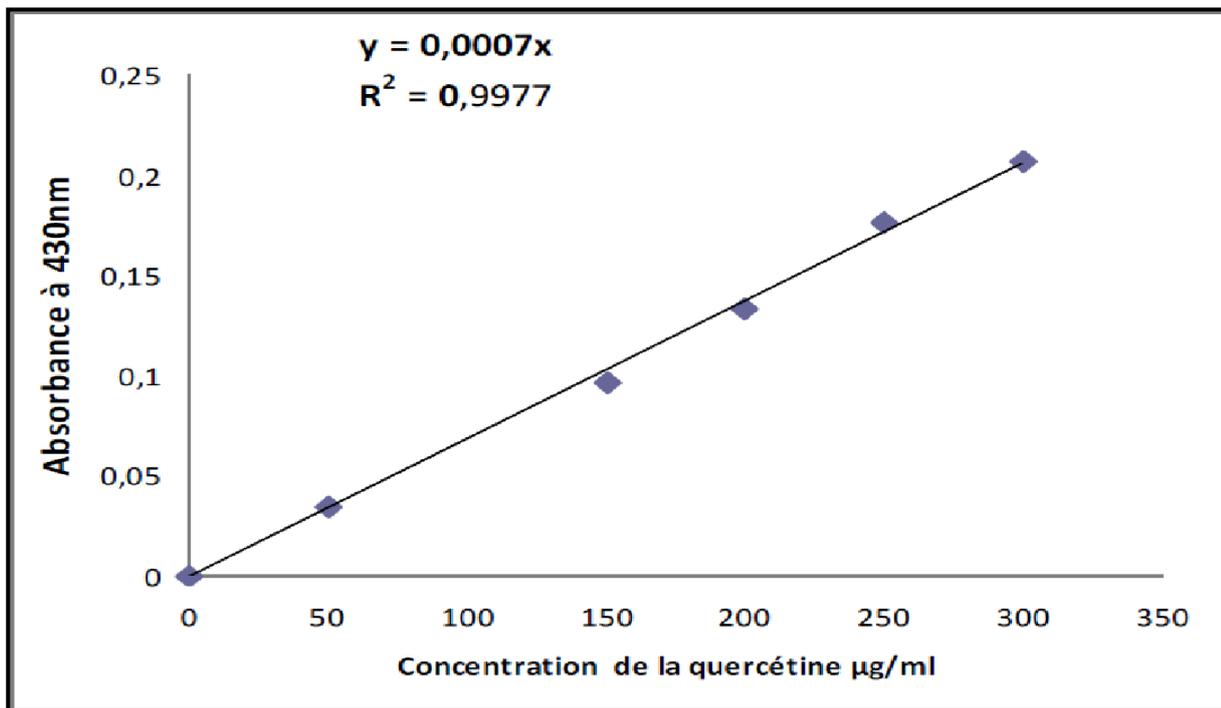


Figure 38. Courbe d'étalonnage de Quercétine (moyenne  $\pm$  écart type de trois essais).

La teneur en flavonoïdes est de  $162.85 \pm 0.008$  mg EQ/g MS, cette valeur est largement supérieure à celle de Tsai P et al. (2007), qui est de l'ordre de  $60,7 \pm 1,1$  mg EQ/g, ainsi que celle de Stephanovits B et al. (2007), qui est de l'ordre de  $38,018 \pm 0,884$  mg QE/g de MS.

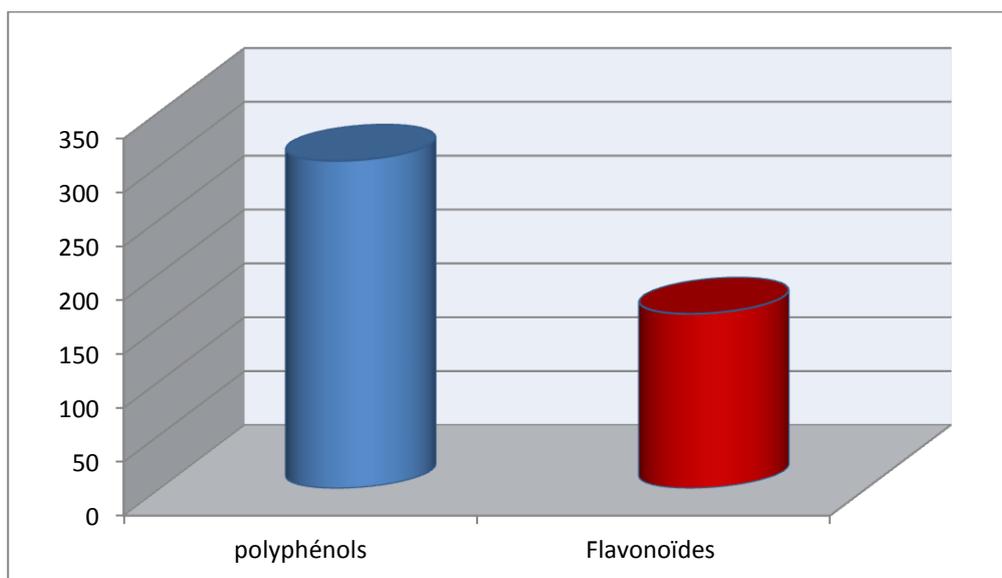
D'après les résultats obtenus, il est clair que Gel d'Aloe vera L. est très riche en flavonoïdes qui représentent la classe majoritaire avec un taux plus élevé que des polyphénols. Ces résultats sont en désaccord avec ceux trouvés par **Stephanovits B et al. (2007)**.

Cette différences de résultats se trouve probablement due à la distribution des métabolites secondaires pendant la croissance de la plante, ceci peut être lié aux facteurs extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité, au moment de récolte, les conditions de stockage ainsi que le solvant d'extraction) et intrinsèques (génétiques).

En effet, les conditions d'extraction en termes de température et le nombre d'étapes d'extraction ainsi que l'état et l'origine de l'échantillon en termes de provenance géographique, ne peuvent pas être exclus **Podsdek, A (2007)**.

Il est intéressant de relier l'activité antioxydante de l'extraits à leurs teneurs en composés phénoliques dans le but de reconnaître le quel est responsable de ce pouvoir antioxydant. Afin d'exploiter cette relation, nous avons déterminé le facteur de corrélation( $R^2$ ) entre la teneur en polyphénol et en flavonoïdes dans l'extraits de Gel d'Aloe vera L. et leurs différentes activités antioxydantes. Les résultats ont montré une forte corrélation positive entre la concentration en polyphénols et flavonoïdes et leurs activités antioxydants exprimées en valeur d'IC50 ou EC50.

La réduction du DPPH a montré une forte corrélation linéaire mesurée par le  $R^2= 0,9971$  dans le cas de polyphénols et  $0,9977$  pour les flavonoïdes.



**Figure 39.** la teneur des polyphénols et Flavonoïdes dans l'extraits de Gel d'Aloe vera L.

Selon **Zapata (2013)**., la teneur en Polyphénols et Flavonoïdes totaux sont influencées par les saisons de l'année, ou ces composés prennent leurs valeurs maximales en été, et minimales au printemps, la température élevée induit l'accumulation des produits phénoliques comme réponse de stress de la plante.

## 5-Activité antimicrobienne

### 5-1- Résultat de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de diffusion des disques

L'activité antimicrobienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Après incubation 24h à 37°C, pour les bactéries et 48 à 25°C pour les levures, nous avons retiré les boîtes de pétri pour interpréter les résultats.

Durant l'incubation le gel utilisé contenu dans le disque absorbant s'est diffusé dans le milieu, et selon la sensibilité des germes à ce gel, il y a eu apparition ou non des zones d'inhibition.

Les résultats apparaissent dans le tableau suivant :

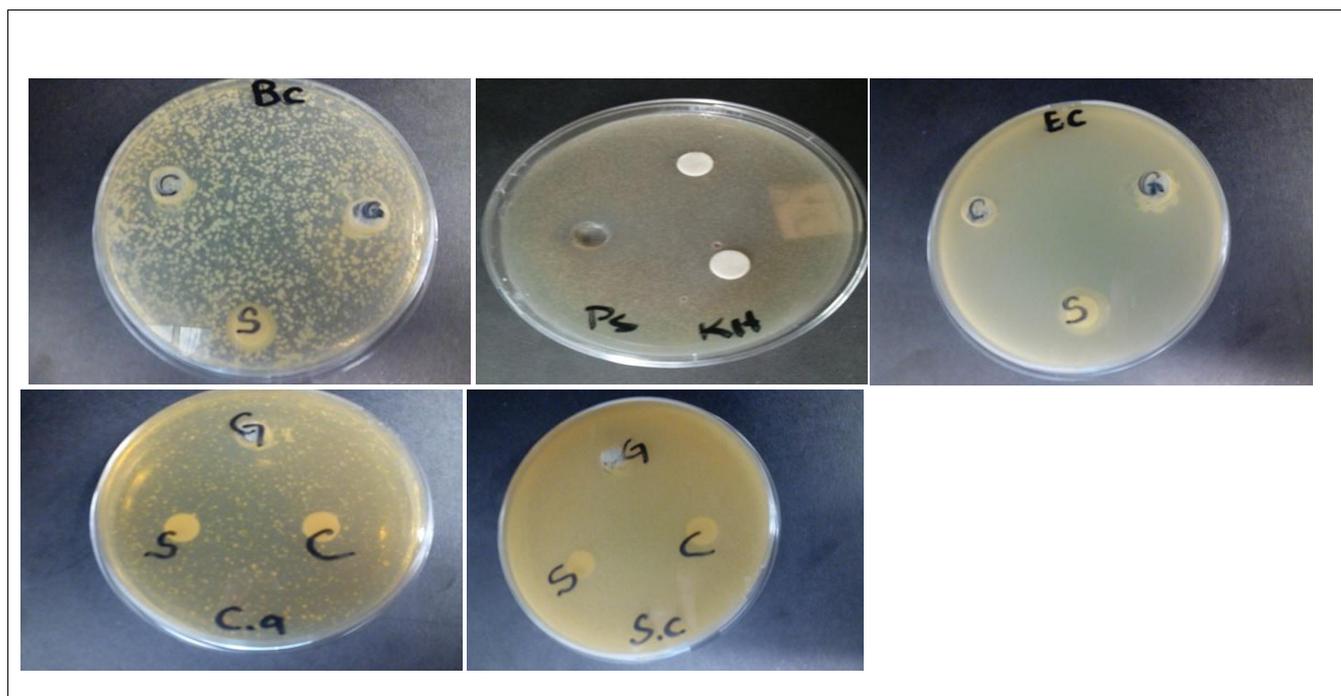
**Tableau 10.** Résultats de l'activité antimicrobienne de gel d'Aloe vera L..

Catégories des souches		Noms des souches	Gel frais		Culot		Surnageant	
<b>Bactéries</b>	Gram+		<b>a</b>	-	<b>a</b>	-	<b>A</b>	-
	Gram+	<i>Pseudomonas</i>	<b>a</b>	-	<b>a</b>	-	<b>A</b>	-
	Gram-	<i>Basillus substillus</i>	<b>a</b>	-	<b>a</b>	-	<b>A</b>	-
	Gram-	<i>Escherichia coli</i>	<b>a</b>	-	<b>a</b>	-	<b>A</b>	-
<b>Champignons</b>		<i>Candida albicans</i>	<b>a</b>	-	<b>a</b>	-	<b>A</b>	-
		<i>Saccharomyces cervisiae</i>	<b>a</b>	-	<b>a</b>	-	<b>A</b>	-

#### Légende :

	Signification
-	Pas d'activité
+	Il ya une activité
<b>D</b>	Diamètre
<b>a</b>	Absence de diamètre

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux différents extraits de la feuille d'Aloe vera L. sont regroupés dans **(la figure 39)**.



**Figure 39.** Les résultats du test de sensibilité microbienne aux différents extraits de la feuille d'Aloe vera L.

Selon les résultats de **tableau 10 et la figure 39**, nous remarquons que les extraits de gel d'Aloe vera ne présentent aucun pouvoir antibactérien (non inhibition) vis-à-vis d'**Escherichia coli**, **Pseudomonas aeruginosa**, **Staphylococcus aureus**, **Bacillus subtilis**.

Et concernant les levures **Candida albicans** et **Saccharomyces cerevisiae**, les trois extraits (Gel frais, culot et surnageant) ne montrent aucun effet inhibiteur vis-à-vis de ces souches.

Les résultats obtenus concordent avec ceux de **Dahiya et Purkayastha (2012)**, qui indiquent que l'extrait d'Aloe vera L. a montré in Vitro des propriétés antibactérienne contre les bactéries Gram+ et Gram-, notamment sur deux souches multirésistantes : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Cela peut être lié à faible concentration de l'extrait en principes actifs. Sachant que le gel d'Aloe vera L. contient plus 99% d'eau et moins 1% de matière sèche (principes actifs) ; on déduit qu'il est fortement dilué et ne peut pas avoir une action sur les bactéries à l'état frais et en faible quantité, sachant qu'un disque qui imbiber par l'extrait ne peut être chargé que de 25µl.

Aussi bien que, nos résultats ne sont pas d'accord avec ceux de **Pandey et Mishra (2010)**, mentionnent l'effet antimicrobien de l'extrait d'Aloe vera telles qu'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

En ce qui concerne l'effet antifongique, nos résultats sont pas d'accord avec ceux obtenus par **Bernardes (2012)**, qui notent que les extraits de l'Aloe vera L. possèdent un effet inhibiteur sur la croissance de *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*.

Les différences trouvées pour l'absence ou présence d'effet d'inhibitrice peuvent être attribuées également à plusieurs facteurs tels que les facteurs inhérents (variétés, conditions ambiantes, facteurs écologiques, variations saisonnières), les méthodes d'extractions (**Celiktas et al.,2007 ;Turkmen et al.,2007**), préparation de l'extrait, solvant utilisé, la sensibilité des bactéries (**Loziene et al.,2007**), la charge du disque qui influe sur l'activité antimicrobienne (**Rasooli et al.,2008**) la méthode utilisée pour l'évaluations de l'activité antimicrobiennes influe aussi les résultats (**Natarajan et al.,2005**).

L'absence des zones d'inhibition au niveau des souches testées explique que le principe actif du gel d'Aloe vera L. n'a pas été libéré car d'après littérature le principe actif responsable de l'effet antimicrobien, n'est soluble que dans des solvants organiques (**Bruneton, 1993**).

## Références bibliographiques

- Quèzel P. et Santa S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome2, Ed. Centre nationale de la recherche scientifique, Paris. pp.935-936.
- Zellagui A., Gherraf N., Kaabache M. et Rhouati S. (2011). Phytochemical and biological survey from two endemic Species: *genista microcephala* coss. et dur. and filago Pomelli Batt. et Trab. Plant Sciences Feed; 1(11): 190-193
- Boudjouref M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de magister. Université Ferhat Abbes-Sétif.p99 .
- Serge S.(2014).50 plantes médicinales pour mon balcon,Ed.Agnés Dumoussaud,Lyon.pp.34-35
- Mahmoudi Y.,2003.les plantes médicinales dans les jardins prophétique,p544
- Boudreau, M. D.; Beland, F. a An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (miller), Aloe vera. *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* **2006**, *24*,103–154.
- Inguez-Fern', R. N. D.; Andez1, I. A.-V.; Azquez2, J. J. C.-P.; Erez1\*, J. S. W.-C.; J. S. Alvarado-Gonz'alez1, G. C.; On-Dom'; Inguez1, V. G.-F. Y. G. F. G.; Errez-L'; Opez1La, E. I. E. N. Revista Mexicana de Ingeniería Química. *Rev. Mex. Ing. Química* **2012**, *11*, 23–43.
- Atherton, P. Aloe vera: magic or medicine? *Nurs. Stand.* **1998**, *12*, 49–52, 54.
- Grindlay, D.; Reynolds, T. The Aloe vera phenomenon: A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *J. Ethnopharmacol.* **1986**, *16*, 117–151.
- Guo, X.; Mei, N. Aloe Vera - A Review of Toxicity and Adverse Clinical Effects. *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* **2016**, *501*
- DalBelo, S. E.; Rigo Gaspar, L.; Maia Campos, P. M. B. G. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Ski. Res. Technol.* **2006**, *12*, 241–246.
- Barcroft.A. *Aloe Vera*, remède naturel de légende. *Editions medicis-entrelacs*,1998.
- Ernst.E. Médecines alternatives : le guide critique. *Editions Elsevier Masson*, 2005,p.98.
- LORENZETTIL., SALISBURYR., BEALJ., BALDWINJ..1964-Bacteriostatic Property of *Aloe vera*. *J. Pharmacol., Sci.*, *3*, 1287. p104.
- SCHMELZERG.H., GURIB-FAKIMA., 2008.Ressources végétales de l'Afrique Tropicale 11(1), Plantes médicinales 1, Fondation PROTA, p.94.
- MABBERLEY, D. The plant-book. A portable dictionary of the vascular plants. *New York: Cambridge University Press*, 1987.
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APGIII. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2009.
- BOULLARD,B. Plantes médicinales du monde, réalités et croyance. *édition Estem* ,Paris , 2001, p.27.
- Ivan A. Ross ,Medecinal plants of the world,New york,2003,p103-131.

- Femenia A, Sanchez ES, Simal S, Rossello C. Compositional features of polysaccharides from Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) plant tissues. *Carbohydrate Polymers* 1999;39:109–117.
- Boudreau, M. D.; Beland, F. a An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (miller), Aloe vera. *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* **2006**, p105.
- Boudreau, M. D.; Beland, F. a An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe barbadensis (miller), Aloe vera. *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* **2006**, p106.
- Ann
- PARK P. J., JUNG W. K., NAM K.S., SHAHIDI F. and KIM S. K. (2001) Purification and characterization of antioxidative peptides from proteinhydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American oil Chemists Society*, 78 (6), 651-656.
- J.H.WU,CY.Shan,R.X.Tan Antioxydant proprieties and PC12 cell protective effect APS-1,polysaccharide from Aloe vera Life science ,volume78,P 622-625,Janvier 2006.
- DACOSTA Y., 2003 -Les phytonutriments bioactifs, Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317
- Atta-ur-Rahman, Choudhary M.I. Bioactive natural products as potential source of new pharmacophores. A theory of memory. *Pure Appl. Chem.* 2001;73.p555–560
- Wang Y., Zhu F., Han F., Wang H. Purification and characterization of antioxidative peptides from salmon protamine hydrolysate. *J. Food Biochem.* 2008;32.p654–671.
- Ann Lorch (11 Février, 2011).Les microorganismes efficaces au quotidien au service de la terre ,des animaux et des hommes .Editions le souffle d’or , Lyon .p104-107.
- Hulbert AJ, Pamplona R, Buffenstein R, Buttemer WA. (2007) Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals. *Physiol Rev* 87:1175–1213.
- Salim, S. (2016). *Oxidative Stress and the Central Nervous System. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 360(1), p201.
- Bartosz,G(1997). Oxidative stress in plants. *Cytowania* ,p 47-64
- Bartosz G. Kędziora-Kornatowska K. · Szram S. · Kornatowski T. · Szadujkis-Szadurski L.· Kędziora (Decembre 2003). Effect of Vitamin E and Vitamin C Supplementation on Antioxidative State and Renal Glomerular Basement Membrane Thickness in Diabetic Kidney. *Journal of Nephron experimental Nephrology* , 95,P 134–143 (consulter 17Novembre 2004).
- Sies H (1997). "Oxidative stress: oxidants and antioxidants." *Experimental Physiology* 82(2) 291-295.
- Pourrut B(2008)**. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, Vicia faba.Thèse de Doctorat . Institut National Polytechnique Toulouse,P
- **FAVIER A (2006)** -Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64: 390-396.
- **KOHEN R. and NYSKA A( 2002)** -Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol.Path.* ; 30: 620-650.
- **Navas P, J Villalba and F Córdoba (1994)**. "Ascorbate function at the plasma membrane." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes* 1197(1): 1-13.
- **Potters G, L De Gara, H Asard and N Horemans (2002)**. "Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime?" *Plant Physiology and Biochemistry* 40(6-8): 537-548.
- **Heber U, C Miyake, J Mano, C Ohno and K Asada (1996)**. "Monodehydroascorbate Radical Detected by Electron Paramagnetic Resonance Spectrometry Is a Sensitive Probe of Oxidative Stress in Intact Leaves." *Plant Cell and Physiology* 37(8): 1066-1072.
- **Deutsch JC (1997)**. "Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid Interconversion without Net Oxidation or Reduction." *Analytical Biochemistry* 247(1): 58-62.
- **Deutsch JC (2000)**. "Dehydroascorbic acid." *Journal of Chromatography A* 881(1-2): 299-307.

- **Bahorun T(1997)**. Substances Naturelles actives.La flore Mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle.Thèse de doctorat,Université de Maurice.p
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007)**. Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10), 628-38.
- **Lhuillier, A.(2007)**.Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver,*Agauria polyphylla*Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla* Baker ( Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker(Myrsinaceae).Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique Toulouse.p55
- **Ferguson L(2001)**.Role of plant polyphenols in genomic stability.*Mutation Research*. for cardiovascular health. *Canadian Journal of Cardiology*, **26** : 17-21.
- **Bouakaz I (2006)**.Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*.Thèse de Magister,Université El Hadj Lakhdar de Batna.
- **Loto C- A. (2011)**. Inhibition effect of tea extract on the corrosion of mild steel in dilute sulphuric acid. *J.Mater. Environ. Sci.* 2 (4) 335-344
- **YAO L-H., JIANG Y-M., SHI J., TOMAS-BARBERAN F-A., DATTA N., SINGANUSONG R., Chen S-S. (2004)**. Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.* Vol (59) : 113-122.
- **Reuter S. (2010)**. *Free Rad Biol Med*, 49, 1603-161
- **GUIGNARD J.L(1996)**.Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160 p.
- **Jean-Jacques Macheix. (1996)**. Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle?, *Acta Botanica Gallica*, 143:6, 473-479
- **Bruneton J. (1999)** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Lavoisier Technique & Documentation. Paris.
- **Pietta PG(2000)**. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63 (7), 1035-42.
- **Frei B, Higdon JV(2003)**. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: Evidence from animal studies. *J. Nutr.* 133: 3275-84
- **Srivastava RC, Husain MM, Hasan SK, Athar M(2000)**. Green tea polyphenols and tannic acid act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer Lett.* 153
- **Oszmianski J, Wojdylo A, Lamer-Zarawska E, Swiader K(2007)**. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chem.* 100 (2): 579-83.
- **Kenny TP, Keen CL, Schmitz HH, Gershwin ME(2007)**. Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Exp. Biol. Med.* 232:293-300
- **Hodek P,Trefil P,Stiborova M (2002)**.Flavonoids-potent and versatile biologically. active compounds interacting with cytochromes. P450
- **Boudiaf K (2006)** .Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Thèse de magistère. Département de biologie. Université Ferhat abbas. (Sétif) Algérie.
- **Milane H. (2004)**.La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant oucapte urs de radicaux libres;études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat en Pharmacochimie .Strasbourg.
- **Groussard C ;Machefer G ; Rannou F ; Faure H ; Cillard J ; Gratas-Delamarche A.(2003)**. Effet d'un exercice de sprint de 30 s sur le statut antioxydant plasmatique Effect of a 30s sprint exercise on plasma non-enzymatic antioxidant status. *Science & Sports* ;18 : 108–110
- **Benhamou N. (2012 )**. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse UniversitéAboubakr Belkaïd ,Tlemcen , Algérie.
- **Singleton P(2004)**.Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologie.6<sup>ème</sup> édition ,Lyon .p10-11
- **Brelière B(2010)**. Microbiologie, les savoirs en situation, édition hachette, Lyon. p 19.
- **François XW(2018)**. L'unité des Bactéries pathogènes entériques. le Centre national de référence (CNR) des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*.France

- Bordenave L (2009)**. Un monde invisible ,Microbe amis ou ennemis ?.édition Minerva ,Genève ,la suisse.p171.
- **Msadek T(2016)**. Signalisation et pathogénèse des staphylocoques. L'institut pasteur, Alger
- Pincemail J., Degrune F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N. et Defraigne J.O. (2007)**. Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. Nutrition clinique et métabolisme 21. 66–75.
- **Oteng-Gyang K. (1984)**. Introduction à la microbiologie ans les pays chauds. Ed. Lavoisier. Paris, pp 43 - 46.
- **Guiraud J.P. (1996)**. Microbiologie alimentaire. (Ed) Dunod. Paris, pp 9 - 320.
- **Guiraud J. et Galzy P. (1998)**. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris, pp 615.
- **Phaff H.G., Miller M.W. et Mrak E.K., (1968)**. The life of yeasts. In: Oteng-Gyang K. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique & Documentation Lavoisier, Paris. 8; pp 43.
- **Pol D. (1996)**. Travaux pratiques de biologie des levures. Guide de laboratoire.ellipses édition marketing S.A, Paris. 15, pp 20 - 38; 42 - 57; 141 - 151.
- **Larpent J.P. (1990)**. Biotechnologie des levures masson, Paris, pp 132 - 315.
- **Scriban R.. (1993)**. Biotechnologie. (4ème Ed) Technologie et documentation - Lavoisier. Paris, pp 886.
- **Bouix M. et Leveau J.Y. (1991)**. Les levures Ds : Bourgeois, C.M., Leveau, J.Y., Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, édition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 3, pp 206 - 229.
- **Bouix M., Leveau J.Y. (1993)**. Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Ed. Technique et documentation-Lavoisier-Apria. Paris, pp 523.
- **Hostettemann K . , Potterat O . , Wolfender J L(1998)**. The Potential of Higher Plants as a Source of New Drugs . Chimia International Journal for Chemistry 52(1-2):10-17 .
- **DIALLO A(2005)**. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* WILLD. (Myrtaceae).Thèse doctorat,Université de Bamako,Mali .p2 (site 10)
- Choi S, Chung MH (2010)**. A reviews on the relationship between Aloe vera components and their biologic effects. Semin Med 1:53–62
- Memelink J., Verpoort R., Kijine J.W (2001)**. Organization of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. Trends in Plant Science, 6 , 212-221.
- Karumi Y., Onyeyili P, A., Ogugbuaja V, O., (2004)**. Identification of active principales of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract.
- Medjdoub, H. (2013)**. Contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss .Thèse de Doctorat,Université Abou Beker Belkaid Telemcen.p38-40.
- Gheffour, K., Boucherit, K., & Boucherit-Otmani, Z. (2015)**. Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. Phytothérapie, 13(5), 288-294.
- Benariba N., Djaziri R, Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse W,J.,Sener A., (2013)**. Phytochemical screening and free radical scarvenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. Asian Pacific journal of tropical biomedicine,3(1), p 35-40.
- Brand-Williams W., Cuvilier M. E., Bersaet C(1995)**. Use of a free radical method to evaluate antioxydant activity. Lebensmittel-Wassenschaft and technologie, Vol. 28, pp .25-30
- Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P(2008)**. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Phytochemistry, 69 :1732-1738.

- Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali, S(2006)**. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Lebanese Science Journal, 7(1): 3-8.
- Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfas, K. (2015)**. Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. Phytothérapie, 13(5), 314-319.
- Broadsky T. F., Lewis C., Eble T.E(1976)**. Bioautographic thin layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the rat. J. Chromatogr., **123**, 33-44.
- **De Pooter H-L. et Schamp N (1986)**. Comparaison de la composition volatile de certaines espèces de *Calamintha satureja*. In : Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 139-150p.
- Fadili K., Amalich S., Soro KN., Bouachrine M., Mahjoubi M., El hilali F., Zair T. (2015)**. Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan high Atlas : *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. Journal of innovation and scientific research, Vol.17, pp.24-33
- **Hua L., Xiaoyu W., Peihong L., Hua W. (2008)**. Comparative study of antioxidant activity of grape (*Vitis Vinifera*), seed powder assessed by different methods. Journal of food drug analysis, 16(6), 67-73
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karay- Bouaroui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008)**. Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. Organs, and their biological activities. C. R. biologies. 331 : 372-379
- **Stephanovits Banyai E., Tulok M-H., Hegedus A., Renner C., Szololosi Varga L. (2003)**. Antioxydant effect of various Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) clones, Vol 47 (1-4) : 111-113.
- Yesil-Celiktas O., Girgin G., Orhan H., Wichers H-J., Bedir E. and Vardar-Sukan F. (2007)**. Screening of free radical scavenging capacity and antioxidant activities of *Rosmarinus Officinalis* extract with Focus on location and harvesting times. European food research and technology 224 : 443-51
- **Tsai P., Tsai T., Ho S. (2007)**. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. Food Chem 105, 311-316
- **Podsdek, A. (2007)**. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables : A review. LWT. 40 :1-11.
- Dahiya P, Purkayastha S(2012)** .Photochemical Screening and Antimicrobial .
- Pandey R, Mishra A**. Antibacterial activities of crude extract of *Aloe barbadensis* to clinically isolated bacterial pathogens. ApplBiochemBiotechnol. (2010 Mars) ,160(5) :1356-61.
- Bernardes I ,Felipe Rodrigues Mp, BacelliGK, Munin E, AlvesLp, Costa Ms** Aloe vera extract reduces both growth and germ tube formation by *Candida albicans*. Mycoses.(201) May, 55(3) :257-61.

## Site d'Internet

- 1- <https://www.pinterest.com/pin/288723026101215862/>.
- 2- [https://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol6/vol6\\_N4/130-JMES-1368-2015-Talbi.pdf](https://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol6/vol6_N4/130-JMES-1368-2015-Talbi.pdf) (consulter le 06-04-2015).
- 3- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3937463/> (consulter le 06-Mai-2013).
- 4- <https://sci-hub.tw/10.1080/10590500600614303> (consulter le 08-12-2017).
- 5- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16690538> (consulter le 24 Janvier 2017)
- 6- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5193071/> (consulter Janvier 2017)
- 7- <https://www.karger.com/Article/Abstract/74840> (consulter le 17Novembre 2004)
- 8- <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/escherichia-coli> (consulter Juillet 2018)
- 9- <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/staphylocoque> (consulter juin 2016)
- 10- <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2005/pharma/pdf/05P26.pdf>

# Les annexes

## **Annexe I : Composition des milieux de cultures**

### **- Mueller Hinton (MH) pH=7.4**

Infusion de viande .....	300 g
Hydrolysate de caseine .....	17,5 g
Amidon de maïs .....	1,5 g
Agar .....	17 g
Eau distillée.....	1000 ml

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min.

### **-Gélose nutritive (GN) pH=7.2**

Peptone .....	10 g
Extrait de viande .....	5 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Gélose .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min. **(Guiraud, 1998)**.

### **- Gélose Sabouraud Chloramphénicol (SAB+) pH= 6,4**

Peptone de viande (bovin ou porcin) .....	3 g
Peptone de caséine (bovin) .....	3 g
Peptone de soja .....	3 g
Extrait de levure .....	2 g
Extrait de malt .....	1 g
Glucose .....	19g
Phosphate monopotassique .....	0.5g
Phosphate disodique .....	0.5g
Agar .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min. **(Delarras, 2007)**.

## **Annexe II : Préparation des solutions**

### **1-les solutions pour le test de Screening**

- Solution de  $\text{FeCl}_3$  : 1g de  $\text{FeCl}_3$  dans 100ml d'eau distillé.
- solution de Fehling : 1ml de la Fehling A +1ml de la liqueur de Fehling B.
- Réactif de Mayer : 10g de KI et 2.7 g de  $\text{HgCl}_2$  dissous dans 20 ml de l'eau distillé.
- Solution de  $\text{NH}_4\text{OH}$  : 10g de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dans un 100 ml d'eau distillé.

### **2-les solutions pour le dosage des polyphénols**

- Solution mère pour le dosage des polyphénols : dissous 1 g de gel d'Aloe vera dans 5 ml MeOH
- Solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à: dissous 7mg de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dans un 100 ml d'eau distillé.
- solution mère d'acide gallique : dissous 1mg de l'acide gallique dans un 1ml d'eau distillé.

### **3-les solutions pour le dosage des Flavonoïdes**

- solution de nitrite de sodium : dissous 15mg de  $\text{NaNO}_2$  dans 100ml d'eau distillé.
- Solution de chlorure d'aluminium : dissous 10mg d' $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dans un 100 ml d'eau distillé

### Annexe III : les verreries et les réactifs

<b>Liste de la verrerie</b>	<b>Liste consommé</b>	<b>Liste des réactifs</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>-Tubes à essaies+portoir</li><li>-Bécher (20, 50, 100, 200ml)</li><li>-Eprouvette de (50, 100ml)</li><li>-Erlenmeyer de (100, 200ml)</li><li>-Fiole jaugé de (20, 25, 50,100ml)</li><li>-Pipette graduées</li><li>-Pissette</li><li>-Poire à pipette</li><li>-Flacons en verre de 50ml</li><li>-Tubes sec</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Boite de pétri</li><li>-Couteaux</li><li>-cuillère</li><li>-Micropipette de (25, 50,1000ml)</li><li>-Muller Hinton</li><li>-Sabourad</li><li>-pincès</li><li>-Pipette Pasteur</li><li>-Tube sec</li><li>-Seringue de 5ml</li><li>- La gaz</li><li>- Disques vierges</li><li>-les ambons bleu et jaune</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Acétate de plomb</li><li>-Acide ascorbique</li><li>-Acide acétique</li><li>-Acide chlorhydrique(HCL)</li><li>-Acide gallique</li><li>-Acide sulfurique</li><li>-Carbonate de sodium</li><li>-Chlorure de fer FeCl<sub>3</sub></li><li>-DPPH</li><li>-Eau distillée</li><li>-Ethanol</li><li>-Folin-ciocalteu</li><li>-Hydroxyde de sodium(NaOH)</li><li>-L'eau de javel</li><li>-Magnésium Mg</li><li>-Méthanol</li><li>-Nitrite de sodium</li><li>-Quercétine</li><li>-Réactif de Fehling</li><li>-Réactif de Mayer</li><li>-Solution ammoniacal NH<sub>4</sub>OH</li><li>-Trichlorure d'aluminium(AlCl<sub>3</sub>)</li></ul>

## Annexe IV : Les appareillages

### 1-Les appareillages pour l'activité antioxydante



**Balance précision**



**Agitateur (pour les solutions)**



**Vortex (l'agitateur des tubes)**



**Spectrophotomètre UV-visible**

## 2- Les appareillages pour l'activité antimicrobienne



**Centrifuge**



**Salle d'UV**



**Bain-marie**



**Bec benzène**



**Etuve régulé à 45°C**



**Etuve régulé à 25°C**



**Etuve à 35°C**



**Autoclave**