

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

*M<sup>lle</sup> Oulmi hanane & M<sup>lle</sup> Aouali fariza*

*Thème*

**Étude et caractérisation de quelques antioxydants d'*Aloe vera***

Soutenu le:13/07/2021

Devant le jury composé de :

*Nom et Prénom*

*Grade*

Mr. Aberkane Boubeker

MCA

Univ. de Bouira

Président

Mr. Mouni Lotfi.

Professeur

Univ. de Bouira

Promoteur

Mr. Libdiri Farid

MAA

Univ. de Bouira

Co-promoteur

Mr.Lamine Salim

MCA

Univ de Bouira

Examineur

Année Universitaire : 2020/2021

# Remerciements

*Au terme de notre travail en premier lieu, nous tenons à remercier le bon dieu, le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour réaliser ce modeste travail.*

*Nos profonds remerciements s'adressent à notre promoteur, **Pr. Mouni Lotfi***

*qui est accepté de nous encadrer, pour sa collaboration et son aide nécessaire à la réalisation de notre travail.*

*Nous s'adressent également nos profonds remerciements à notre co-promoteur, **Dr. Libdiri farid** pour son disponibilité, ses conseils et ses encouragements et son aide nécessaire à la réalisation de notre travail.*

*Nos remerciements les plus cordiaux et toutes nos pensées de gratitude **Melle ILHAME ET Melle SABRINA** de nous soutenir et guidées et pour leur gentillesse.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury « Monsieur **ABERKANE** et Monsieur **LAMINE** pour l'intérêt qu'ils ont porté à nos travaux en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions, malgré leurs compétences nous ont soutenus dans la poursuite de nos études.*

*En bref nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## **Dédicace**

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail*

*À Ceux qui me sont les plus chères au monde, que dieu les protège*

*A la plus belle créature que Dieu a créer sur terre, à la source de tendresse, de patience et de générosité, ma mère « **louiza** ». Qui a oeuvré pour ma réussite de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon père « **said** », aucune dédicace ne saurait exprimer*

*l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi. en témoignage de mes profondes affectations. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leurs soutien ; je leurs suis très reconnaissante.*

*À mon frère **MOUHAMED Lamine** et sa femme **AMINA** et ma petite adorable nièce **AMIRA** à qui je souhait tous le bonheur du monde, je les remercier pour leur sacrifices, patience et surtout son soutien et encouragement.*

*À ma tante **GHANIA**, et ses enfants **SOUFIANE** et **LOTFI** que dieu les garder, je les remercier aussi pour leur conseils et leur encouragements et leur aide nécessaire durant à tout moment*

*À mes Chers oncles (**Moustafa, Rachid, Saïd et Mouloud**) pour leur chaleureux encouragement*

*À mes copines (**DJAHIDA, SILIA, YASMINE, KATIA, AMEL**).*

*À ma binôme (**FARIZA**) et à toute sa famille.*

*À tous mes amis et à tous ceux Qui m'ont témoigné leur affection et leur soutien durant Ces longues années.*

**Hanane**

**Dédicace**

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :*

**A mes chers parents**, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour  
leur soutien tout au long de mes études

**A mes chères sœurs**, Karima, Saida, Nor.

**Ames chères frères**, Karim et Faouzi.

**A ma sœur et ma meilleure amie**, Ph. Karima et sa famille

**A ma binôme**, Hanane et sa famille

**J'adresse aussi mes dédicaces à mes amies**, avec les quelles  
j'ai passé des moments agréables, en particulier, Djahida,  
Yassmine, Silia, Amel, katia .

**A toute la promo** biochimie appliquée 2020 /2021

**Fariza**

---

---

## Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
I. généralité sur la plante.....	2
I.1. Bref historique.....	2
I.2. Présentations de l’Aloe vera .....	2
I.3. Systématique .....	4
I.4. Distribution .....	5
I.5. Culture de l’ <i>Aloe vera</i> .....	6
I.6. Multiplication et plantation.....	7
I.7. Récolte .....	8
I.8. Conditions de culture.....	8
I.8.1. Exigences climatiques .....	9
I.8.2. Exigences solaires .....	9
I.8.3. Le sol .....	9
I.8.4. L'eau .....	9
I.9. Composition chimique.....	9
I.10. Utilisations et applications .....	13
I.10.1. Dans le domaine médical.....	14
I.10.2. Dans le domaine industriel .....	15
II. Les antioxydants.....	18
II.1. Définition .....	18
II.2. Les radicaux libres.....	18
II.2.1. Les espèces réactives de l’oxygène (ERO).....	19
II.2.2. Les espèces réactives azotées (ERN) .....	19
II.3. La production de radicaux libres (l’origine des radicaux libres).....	19
II.3.1. La production intracellulaire .....	20
II.3.2. La production extracellulaire .....	20
II.4. Systèmes de défense contre les radicaux libres .....	21
II.5. Stress oxydant et antioxydants en pathologie .....	22
II.6. Utilisation des antioxydants .....	24

---

II.7. Les polyphénols .....	24
II.8. Les flavonoïdes .....	25
II.9. Les tanins .....	26
III. Les Matériels et méthodes .....	28
III.1. Objectifs de l'expérimentation.....	28
III.2. Échantillonnages .....	28
III.3. Préparation de l'échantillon .....	30
III.4. Extraction des substances bioactives.....	30
III.4.1. Extraction des polyphénols.....	30
III.5. Dosage des composés phynolique.....	33
III.5.1. Dosage des Polyphénols totaux.....	33
III.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	36
III.5.3. Dosage des tannins hydrolysable .....	38
III.6. Evaluation du potentiel antioxydant.....	40
III.6.1. Principe.....	40
III.6.2. Préparation de solution .....	41
III.6.3. Mode opératoire .....	41
III.6.4. Expressions des résultats .....	41
III.6.5. L'application.....	41
IV. Résultats et discussions .....	44
IV.1. Teneur en polyphénols et flavonoïdes et tannins .....	44
IV.1.1. Teneur en polyphénols .....	44
IV.1.2. Teneur en flavonoïdes .....	45
IV.1.3. Teneur en tannais .....	45
IV.2. Détermination du Pouvoir antiradicalaire.....	46
Conclusion .....	49
Référence bibliographique	
Résumé	

## Liste des tableaux

Tableau 1: systématique selon la classification de cronquist (1981)et classification apg III (2009).....	5
Tableau 2: Résumé de la composition chimique des feuilles d' <i>Aloe vera</i> (gel et suc).....	10
Tableau 3: Comparaison du gel interne et du matériel de feuille entière .....	11
Tableau 4: 1 Mode d'action des substances d' <i>Aloe vera</i> .....	12
Tableau 5: Produits chimiques, réactifs et appareillage utilisé durant la pratique .....	28
Tableau 6 : Récapitulatif des conditions de récoltes .....	29
Tableau 7 : Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique. ....	35
Tableau 8 : Absorbances des échantillons à tester .....	35
Tableau 9 : Absorbances de la gamme de concentration de la quercétine .....	37
Tableau 10 : Absorbances des échantillons à tester .....	38
Tableau 11 : Absorbances de la gamme de concentration d'acide tannic .....	39
Tableau 12 : Absorbances des échantillons à tester .....	40
Tableau 13 : pourcentage d'inhibition des radicaux libre en fonction de concentration.....	41

## Liste des figures

Figure 1: image représentatif de plante <i>d'Aloe vera</i> .....	3
Figure 2: coupe transversale d'une feuille d'Aloe vera.....	4
Figure 3: répartition mondial <i>d'Aloe vera</i> .....	6
Figure 4: champ de culture d'Aloe vera.....	7
Figure 5: Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène ..	21
Figure 6: Systèmes de défense contre les radicaux libres.....	22
Figure 7: Équilibre pro-antioxydant .....	23
Figure 8 : Echantillon <i>d'Aloe Vera</i> ( <i>Nous avons pris la photo</i> ).....	29
Figure 9 : Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation.....	29
Figure 10 : Schéma simplifié des étapes du procédé d'extraction des polyphénols .....	31
Figure 11 : les étapes d'extraction d'extrait méthanolique .....	33
Figure 12: Réaction du Folin-Ciocalteu avec les polyphénols (Boizot et harpentier., 2006)...	34
Figure 13: Droite d'étalonnage de l'acide gallique dans le dosage de Folin-Ciocalteu .....	35
Figure 14 : Réaction du chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes.....	36
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux .....	38
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tannins hydrolysables ...	40
Figure 17 : courbe des pourcentages d'inhibition des radicaux libres en fonction de concentration. ....	42
Figure 18: comparaison de pourcentage d'inhibition du radical DPPH de notre extrait (a) avec l'extrait éthanolique (b ; c ; d) qui est étudié par <b>Attabi et Bouzekri , (2013) Milée et al, (2012) ; Ozsoy et al, (2009)</b> respectivement. ....	46

## Liste des abréviations

- Av. J-C:** avant Jésus-Christ
- APG:** Angiosperm phylogeny group
- Cox:** Cyclo oxygénase
- AMPK:** Adénosine monophosphate protein activée kinase
- ERO:** Espèces réactives de l'oxygène
- ERN:** Espèces réactives azotées
- RPE:** Résonance paramagnétique électronique
- GPX:** Glutathion peroxydase
- GR:** Glutathion réductase
- MDA:** Malodialdéhyde
- TBARS:** Thiobarbituric acid reactant substances
- AG:** Acide gallique
- EAG :** Equivalent Acide gallique
- Q :** Qeurchétine
- EQ :** Equivalent Qeurchétine
- AT:** Acide tannic
- EAT:** Equivalent Acide tannic
- DPPH:**(2,2diphényl-pycrylhydrazyl)
- PI:** pourcentage d'inhibition
- A. Vera:** Aloe vera
- C:** concentration
- Fig:** figure

# **Introduction**

## **Introduction**

Aloès de la Barbade (*Aloe vera* (L.) Burm. F.) a traditionnellement été utilisé pour la guérison en médecine naturelle. Cependant, l'aloès suscite maintenant un grand intérêt sur le marché mondial en raison de ses produits chimiques bioactifs qui sont extraits des feuilles et utilisés dans des préparations industrielles pour des produits pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires (**Mehta et al 2017**). L'aloès est originaire d'Afrique tropicale et subtropicale, mais il est également maintenant cultivé dans les zones climatiques chaudes d'Asie, d'Europe et d'Amérique », l'*Aloe vera* est une plante aux nombreuses surprises, contient différents contenus nutritionnels tels que les vitamines, les minéraux, les enzymes, sucres, composés de phénol, lignine, saponine, stérol ainsi que des acides aminés (**Mehta et al 2017**).

De nombreuses nouvelles molécules antioxydantes ont été isolées et déterminées à partir d'*Aloe vera* (**Nakatani et al 2000**). L'apport quotidien de ces aliments pourrait être l'une des sources majeures et prometteuses contre les maladies graves menant à une vie plus saine. Les Résultats biochimiques sur cette plante comestibles riches dans les antioxydants devraient conduire à la chimioprévention de la peroxydation lipidique, du cancer, inflammation et vieillissement des organes humains. Considérer un composite naturel en tant que substance antioxydante, il est important d'étudier ses activités antioxydantes in vitro (**Nakatani et al 2000**).

Durant ces dernières années une recrudescence d'intérêt est à remarquer concernant les effets biologiques des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif impliqué dans le vieillissement et dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, les accidents cardiovasculaires (AVC), l'ostéoporose, les maladies inflammatoires, et les maladies neuro-dégénératives...etc. (**Wollgast et Anklam 2000 ; Gomez-Caravaca et al. 2006**).

Les composés phénoliques (principalement flavonoïdes, acides phénoliques et tanins) constituant une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (**Nkhili 2009**). L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification (**Mahmoudi et al. 2013**).

La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait d'*Aloe vera* est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé (**Nkhili 2009**). Parmi les divers procédés utilisés, on compte l'extraction par macération dans le méthanol (**Nkhili 2009**).

Le travail effectué et présenté dans ce mémoire se situe dans ce contexte. L'objectif visé est et de réalisée une étude d'extractions et évaluation des composés phénoliques (les polyphénol totaux, flavonoïdes et les tannins) contenus dans l'extrait *d'Aloe vera*.

Ainsi, le présent mémoire s'articulera en quatre grandes parties :

- ✓ Dans la première partie, nous avons commencé par une étude bibliographique qui est consacré à la description botanique de la plante et aux composés chimique et quelque généralité sur *l'Aloe vera*.
- ✓ La deuxième partie nous avons décrite le rôle des antioxydant contre le stress oxydatif
- ✓ La troisième partie traitera la description du matériel et des méthodes utilisés, d'où nous nous sommes fixés plusieurs objectifs, à savoir :
  - La quantification des composés phénoliques et les flavonoïdes et tannins à partir des feuilles *d'Aloe vera*.
  - L'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles *d'Aloe vera* par la méthode de macération dans le méthanol.
- ✓ Enfin, dans la quatrième partie, nous avons rapporté et comparés les résultats les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante de extrais des feuilles d'*Aloe vera* obtenus avec les résultats obtenue par les autre sur la même plante.

# **Chapitre I**

## **Généralité sur la plante**

## I. généralité sur la plante

### I.1. Bref historique

Les premières découvertes historiques concernant l'aloès remontent à 2100 av. J-C, où il a été mentionné dans une collection de tablettes d'argile sumérienne (**Sánchez-Machado et al. 2017**). En 1552 av. J-C. il a été mentionné comme laxatif dans le papyrus égyptien Ebers (**Manvitha et Bidya 2014**). Outre les Egyptiens, les Romains, Les Grecs, les Arabes et les Indiens ont également reconnu les propriétés curatives de cette plante (**Joseph et Raj 2010**). En fait, Discordes, un médecin grec a déclaré que *l'aloès* pouvait traiter les plaies, guérir les infections cutanées, diminuer la perte de cheveux et éliminer les hémorroïdes dans le livre de MatériauMédical (**Shelton, 1991**). Au 4ème siècle avant JC, les Grecs ont trouvé de *l'aloès* sur l'île de Socotra dans l'océan Indien (**Sánchez-Machado et al. 2017**). En fait, Alexandre le Grand a été persuadé par son mentor Aristote de capturer cette île en raison des approvisionnements *d'aloès* pour soigner ses soldats blessés (**Sánchez-Machado et al. 2017**). *Aloe* a été utilisé par Cléopâtre (69-30 av. JC.) et Néfertiti dans le cadre de leurs soins de beauté (**Sánchez-Machado et al. 2017**). En 1920, *l'Aloe vera* a été cultivée pour la première fois pour la distribution pharmaceutique (**Shelton 1991**). L'utilisation commerciale du gel *d'aloès* a commencé dans les années 50 et dans les années 60, un pharmacien appelé Dr Bill C. Coates à Dallas (Texas, USA) a réussi son objectif d'extraire le gel de *Aloe vera* tout en préservant ses propriétés cicatrisantes (**Sánchez-Machado et al. 2017**). Ce gel stabilisé a ouvert de nouveaux champs d'application. Le Mexique est le principal producteur *d'Aloe vera* dans le monde (**Pal et al. 2013**).

### I.2. Présentations de *l'Aloe vera*

L'aloès est une plante xérophyte connue sous le nom *Aloe barbadensis Miller*, et aussi plus connue sous le nom *d'Aloe vera*, est souvent classé parmi les 420 espèces de la famille des *Liliaceae* mais il a aussi été désigné comme ayant sa propre famille, les *Aloaceae*, qui regroupent actuellement plus de 360 espèces *d'Aloe* (**Eshun et He2004**). Son nom botanique officiel est : *Aloe vera (L.) Burm. F.* mais de nombreuses autres appellations peuvent être trouvées (**Sánchez-Machado et al. 2017**). Il s'agit une plante grasse pouvant atteindre de 2 à 3 mètres de haut. La plante *d'Aloe vera* a une durée de vie d'approximativement douze ans (**Sánchez-Machado et al. 2017**). Mature après quatre ans, elle se caractérise par des feuilles vertes charnues, pointues, et épineuses sur les bords (entre douze et seize feuilles par plantes)

pouvant atteindre entre 60 et 90cm de longueur et disposée en rosette sur une tige robuste (Eshunet et He 2004). Les fleurs d'*Aloe vera* sont jaunes (contrairement à d'autres espèces d'*Aloe*), tubulaires et réunies en grappes (Eshun et He2004).

Les aloès varient en taille en commençant par les espèces naines, qui ne font que quelques centimètres de diamètre, comme la populaire plante d'intérieur *Aloe variegata*, et se terminent par des espèces aussi grandes qu'un petit arbre (Femenia et al. 1999).



**Figure 1:** image représentatif de plante d'*Aloe vera* (victoire 2018).

En raison des crêtes épineuses qui protègent la feuille souple, l'*Aloe vera* est souvent prise pour un cactus (Sánchez-Machado et al. 2017). C'est en fait une plante vivace succulente, arborescente, d'environ 1m de hauteur, aux racines courtes et peu profondes sur une tige robuste, très courte et ligneuse chaque plante a normalement 12 à 16 feuilles (entre 25-30 cm de long, tandis que les 3-10 cm à travers la base) pesant jusqu'à 1,5 kg à maturité et avec des dents en forme de scie le long de leurs marges (Ahlawat et Khatkar 2011). Il fleurit d'octobre à janvier et la longue inflorescence a un grand nombre de petites fleurs jaune vif ou rouge. La multiplication est généralement végétative (Sánchez-Machado et al. 2017). Les fruits se développent de février à avril (Manvitha et Bidya 2014) et contiennent de nombreuses graines (Sahu et al. 2013). Les feuilles sont recouvertes d'une épaisse cuticule et successives les feuilles ont moins de taches blanchâtres et de couleur gris-verdâtre (Ahlawat et Khatkar 2011).

La coupe transversale de la feuille permet de distinguer successivement, en allant de l'extérieur vers l'intérieur : la croûte (ou peau) qui est un épiderme épais recouvert de cuticule entourant la mésophylle (Eshun et HE 2004). Cela peut être différencié en cellules de chlorenchyme et cellules à parois plus minces qui forment la pulpe proprement dite parenchyme mucilagineux incolore très épais (Ramachandra et Rao 2008). Les feuilles d'aloès sécrètent deux exsudats, l'un est produit par les cellules péricycliques sous le épiderme

cutiné des feuilles et c'est un jus jaune rougeâtre, également appelé latex (Sánchez-Machado *et al.* 2017).

L'autre exsudat est produit par les cellules tubulaires à paroi mince dans la zone centrale interne (parenchyme) de la feuille et c'est un mucilage ou un gel transparent et glissant, appelé *A. vera* gel (Joseph et Raj 2010). Ce gel est clair, insipide et inodore (Pal *et al.* 2013). Le premier exsudat est utilisé comme laxatif tandis que le gel est utilisé pour traiter les brûlures cutanées (Vogler et Ernst 1999). Le gel n'est pas laxatif car il ne contient pas d'antraquinones mais les extraits totaux de feuilles peuvent contenir eux (Vogler et Ernst 1999).

La feuille est la partie de *l'Aloe vera* la plus utilisée, une écorce en recouvre la totalité, sous cette écorce, une mince couche vasculaire se présente sous forme de gel jaune (Eshun et He 2004). Puis, à l'intérieur se trouve une pulpe blanche (Eshun et He 2004). Il est donc possible de différencier trois parties distinctes (l'écorce la sève ou latex et la pulpe) (Eshun et He 2004).

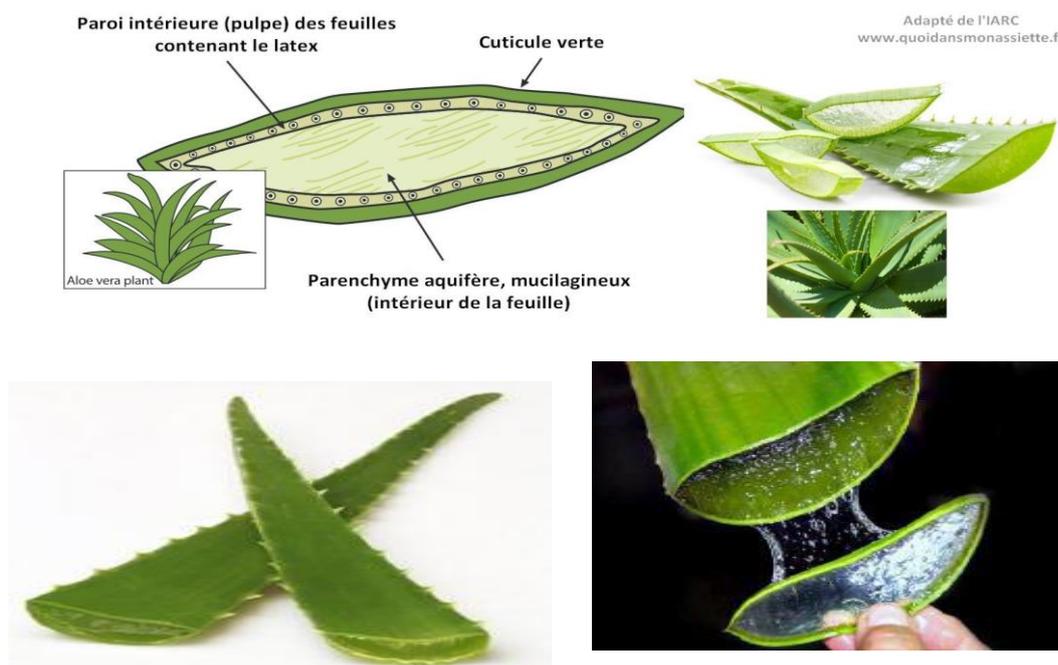


Figure 2: coupe transversale d'une feuille d'*Aloe vera* (Eshun et HE 2004).

### I.3. Systématique

En botanique, il existe plusieurs systèmes de classification, mais aujourd'hui les deux principales classifications botaniques utilisées sont la classification APG (Angiosperm Phylogeny group) cette classification est basée sur deux gènes chloroplastiques et un gène

nucléaire du ribosome et la Classification Conquist Elle repose essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques (Takhholm 1974 ;Boulos 2000; Watson et Dallwitz 1992).

**Tableau 1:** systématique selon la classification de cronquist (1981) et classification apg III (2009)(Takhholm 1974 ;Boulos 2000; Watson et Dallwitz 1992).

Classification Conquist	Classification APG III
Règne : <i>Plantae</i>	Clade : Angiospermes
Division : Magnoliophyta	Clade : Monocotylédones
Classe : Liliopsida	Ordre : Asparagales
Sous classe : <i>Liliidae</i>	Famille : Xanthorrhoeaceae
Ordre : Liliales	Sous famille : <i>Asphodeloideae</i>
Famille : Aloeaceae	
Genre : <i>Aloe</i>	
Espèce : <i>vera</i>	

#### I.4. Distribution

*L'Aloe vera* est connue comme une plante vivace résistante à la sécheresse (résiste plus de 7 ans sans eau) à épaisses, effilées, vertes en forme de lance, juteuses, basales, pointues feuilles pointues, dentelées et tranchantes (Joseph et Raj 2010 ; Manvitha et Bidya 2014). La plante pousse dans une grande variété de climats, y compris les zones tempérées et subtropicales bien qu'il soit originaire d'Afrique australe et orientale le long du Nil dans le Susan et puis il était introduits en Afrique du Nord et dans les pays méditerranéens, la plante ne peut pas survivre à des températures glaciales (Sánchez-Machado et al. 2017).

*L'Aloe vera* pousse sur des terrains sablonneux et calcaires de régions semi-désertiques au climat chaud et sec (Sánchez-Machado et al. 2017). C'est une plante originaire de la Péninsule arabique et d'Afrique orientale qui s'est ensuite propagée en Amérique après les expéditions de Christophe Colomb et Amerigo Vespucci ou le climat chaud et humide de l'Amérique centrale à aide sa diffusion aux archipels caraïbes, notamment aux îles Barbades,

d'où vient le nom scientifique *Barbadensis*(**Sánchez-Machado et al. 2017**). Des 1950 on en trouve des plantations aux Etats- Unis centraux et meridionaux (Texas, Arizone et Floride; mais aussi au Mexique et en Amerique du Sud) (**Rodriguez2010**).



**Figure 3:**répartition mondial d'*Aloe vera* (**victoire oriane dorine 2018**)

### **1.5. Culture de l'*Aloe vera***

*L'Aloe vera* n'est pas une plante astreignant en termes d'eau, donc pour les zones confrontées au problème de sécheresse, la culture de *l'aloès* peut être une bonne option car attractif économiquement pour les agriculteurs (**Manvitha et Bidya 2014**). Cependant la culture d'aloès exige des compétences et demande beaucoup de travail. En fait, les feuilles peuvent être récoltées 7 à 8 mois après la plantation à l'aide d'un couteau bien aiguisé. L'année avec le rendement le plus élevé est la deuxième mais un bon rendement peut être obtenu pendant 4 à 5 ans. La durée de vie est d'environ 12 ans (**Eshun et He 2004; Ahlawat et Khatkar 2011**).

*L'aloès* est cultivé dans toutes sortes de sols à haute teneur en matière organique (**Kent 1980**). Un bon drainage du profil du sol doit être garanti pour éviter les flaques d'eau, qui pourraient provoquer l'asphyxie des racines et la propagation de maladies de l'appareil racinaire telles que la trachéo-micose par les deux *Fusarium oxysporum* et *Verticillum sp* (**Ayodele et Ilondu 2008**). La canalisation des eaux de drainage doit également empêcher la formation de flaques de surface pendant la saison des pluies (**Boudreau et bemand 2006**).

Le séchage des fleurs peuvent être également après la récolte (généralement entre décembre et janvier)(**Femenia et al. 1999**). Les feuilles d'aloès sont séchées à l'ombre puis au

soleil avant d'être conservées au réfrigérateur températures ou traitement. Une fois séché, *Aloe vera* est une poudre noire mais lorsqu'il est congelé est une substance gélatineuse (Femenia et al. 1999).

L'agriculture *d'Aloe vera* est connue depuis l'Antiquité et s'est donc naturalisée dans de nombreuses régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes grâce à ses stomates refermés qui maintiennent l'eau à l'intérieur de la plante 12 et est cultivée principalement au Mexique ainsi que dans toute l'Amérique du sud mais aussi en Chine, en Thaïlande et aux États-Unis (Rodriguez 2010). En régions subtropicales, la plante entre en dormance durant l'hiver et utilise très peu d'eau (Femenia et al. 1999).



Figure 4: champ de culture *d'Aloe vera* (Cruz et Legaspi 2019).

## I.6. Multiplication et plantation

La culture est préférable aux graines pour la multiplication végétative *d'Aloe vera* (Sánchez-Machado et al. 2017). En effet, la levée des semis reste médiocre par rapport à la croissance initiale des rejets qui est plus rapide (Sánchez-Machado et al. 2017). Une diminution de la formation des rejets peut être causée par une restriction hydrique (Sánchez-Machado et al. 2017). Ces derniers peuvent être coupés sur la plante mère lorsqu'ils atteignent 15- 20cm de long. On peut les cultiver dans un champ ou une parcelle de terre réservée à la multiplication et à la culture de cette plante durant la première année, c'est ce qu'on appelle une culture en pépinière (Sánchez-Machado et al. 2017).

Les principaux fournisseurs *d'Aloe vera* au monde ayons des milliers d'hectares de plantations où la plante est cultivée et traitée, depuis les pépinières, jusqu'aux produits prêts à

l'emploi tout en respectant les normes de production les plus exigeantes. Les pays comme le Mexique, l'Amérique du Nord ou encore le Vietnam pratiquent la culture extensive basée sur une faible productivité du sol, sans intrants chimiques, ni drainage et arrosage, se pratiquant sur de vastes étendues, et donc caractérisée par un faible rendement à l'hectare (**Sánchez-Machado et al. 2017**). En ce qui concerne les États-Unis, la culture en serre est préférée. D'autres entreprises sous-traitent la culture de *Aloe vera* à des plantations indépendantes (**Sánchez-Machado et al. 2017**).

la prolifération conventionnel n'est pas en mesure d'assurer la demande croissante du marché pour l'aloès, qui nécessite un matériel végétal sain, homogène, fidèle au type et disponible toute l'année. Ci-après, nous donnons un aperçu des avantages et des inconvénients de ces méthodes de propagation (**Sánchez-Machado et al. 2017**).

## I.7. Récolte

Pour pouvoir récolter les plantes *Aloe vera* afin qu'elles aient une taille adéquate il faut compter environ 3 ans. En revanche, les feuilles peuvent être récoltées pendant environ 7 ans (**Femenia et al. 1999**). Généralement la récolte se fait sur Les feuilles extérieures les plus anciennes, laissant les feuilles fraîches et jeunes au sommet. Les plantes peuvent être enlevées manuellement ou à l'aide d'un déchaumeur à disques ou d'un cultivateur tracté (**Femenia et al. 1999**). Les nouvelles feuilles poussent du centre vers le haut. La récolte est un processus à forte intensité de main-d'œuvre (**Femenia et al. 1999**). Seules les feuilles matures bien développées sont récoltées, qui mesurent 60–80 cm de long et avec une largeur à la base d'environ 8–10 cm (**Femenia et al. 1999**). En règle générale, Les 3–4 feuilles les plus externes sont récoltées en éloignant chaque feuille de la tige de la plante. Les feuilles qui montrent des signes de nécrose de l'extrémité ne doivent pas être récoltées, car elles fournissent des points d'entrée pour la contamination microbienne (**Femenia et al. 1999**).

Si la récolte a lieu une fois par an, octobre-novembre est la meilleure période (**Femenia et al. 1999**). La deuxième année leur donne un rendement maximum, et pendant environ 4–5 ans, un bon rendement peut être récolté (**Femenia et al. 1999**).

Les feuilles récoltées sont soigneusement empilées puis transférées dans une installation de réfrigération ou de traitement (**Femenia et al. 1999**).

## I.8. Conditions de culture

### I.8.1. Exigences climatiques

Même si McKeown (1987) décrit *l'aloès* comme une espèce subtropicale intolérante aux basses températures, une expérience sur les hauteurs du Golan en 1995 a montré qu'il peut atteindre une taille commerciale avec une température minimale absolue de - 3 ° C et jusqu'à 2 mois avec une température de  $\leq 4$  ° C ( **Saks et Ish-Shalom Gordon 1995** ).

### I.8.2. Exigences solaires

Le rayonnement a joué un rôle important dans le développement des plantes (**Pedroza Sandoval et Gómez-Lorence 2006**). Dans la culture de jeunes plantes, Paez et coll. (2000) au Chili a montré une corrélation directe entre l'ombre partielle (30% de plein soleil) et le rendement: avec 27% de feuilles de plus que les plantes en plein soleil (**Pedroza Sandoval et Gómez-Lorence 2006**).

### I.8.3. Le sol

Le sol est connu comme un éléments essentiel dans Le développement de *l'Aloe vera* est optimal sur sols secs et calcaires ou sur terrains sablonneux, alcalins ou neutres (**Grindaly et reynolds 1986**). Il peut pousser sur des sols pauvres en éléments nutritifs mais prospère sur les sols riches (**Grindaly et reynolds 1986**). Il présente par ailleurs une bonne tolérance à la salinité (**Grindaly et reynolds 1986**).

### I.8.4. L'eau

*L'Aloe vera* est très résistant à la chaleur car elle retenant une grande quantité d'eau dans ses feuilles (**Grindaly et reynolds 1986**). Une irrigation soignée est toutefois nécessaire si le temps est chaud et sec afin d'assurer sa croissance (**Grindaly et reynolds 1986**). Un excès d'eau est néfaste pour la plante qui se mettrait à pourrir, il est donc indispensable de réaliser un drainage efficace afin de prévenir le pourrissement des racines (**Grindaly et reynolds 1986**). L'eau trop froide pouvant être nocive pour cette plante, une eau à température ambiante est recommandée (**Grindaly et reynolds 1986**). Dans tous les cas, l'irrigation doit être modérée, et arrêtée durant la période hivernale (**Grindaly et reynolds 1986**). *L'Aloe vera* s'accommode aux faibles précipitations (inférieures à 500 millimètres par an) comme aux fortes (500 à 2000 millimètres par an) (**Grindaly et reynolds 1986**).

## I.9. Composition chimique

L'extrait de feuille entière d'*Aloé vera*, y compris le gel et le latex, contient plus de 200 substances chimiques (Rodriguez 2010). La feuille d'*aloès* brute est composée d'environ 98,5% d'eau, le matériau soliderestant contient une gamme de composés comprenant des nutriments (par exemple, glucides,acides aminés, vitamines et minéraux) et des non-nutriments (par exemple, acides organiques,lignines, composés phénoliques, anthraquinones et phytostérols) (Rodriguez 2010). La composition chimique et la puissance des divers constituants sont influencées par de nombreux facteurs, tels que les espèces/sous-espèces, le climat, les terres et l'irrigation, les méthodes de culture, la récolte, le traitement d'extraction et les conditions de stockage (Rodriguez 2010 ; Boudreau 2006).

**Tableau 2:** Résumé de la composition chimique des feuilles d'*Aloe vera* (gel et suc) (Akaberi et al. 2016)

Composition	Exemples
Antrhanones	Aloïne A et B (ou barbaloinés), Aloe-émidine, acide aloétique, acide chrysophanique, Aloe-ulcine, anthracène et anthranol, émoline d'aloès, ester d'acide cinnamique, huile étheriale, résestanol
Chromones	8-C-glucosyl-(2'-O-cinnamoyl)-7-O-methylaloediol A, 8-C-glucosyl-(S)-aloesol, 8-C-glucosyl-7-O-methyl-(S)-aloesol, 8-C-glucosyl-7-O-methylaloediol, 8-C-glucosyl-noreugenin, isoaleresin D, isorabaichromone, neoaloesin A
Mono et polysaccharides	Glucose, mannose, cellulose, aldo-pentose, L-rhamnose, acemannane, aloéride
Acides aminés essentiels	Isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, valine.
Acides aminés secondaires	Acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, cystine, glycine, histidine, proline, hydroxyproline, sérine, tyrosine
Minéraux et oligoéléments	Calcium, chlore, cuivre, chrome, fer, lithium, magnésium, manganèse, phosphore, potassium, sodium, zinc
Vitamines	A, B1, Vitamines B2, B3, B6, B9, B12, C, E

Enzymes	Phosphatase alcaline, amylase, bradykinase, carboxypeptidase, catalase, cellulase, lipase, peroxydase
Composants organiques et lipides contenus dans le gel	Stérols (béta-sitostérol, lupéol, campestérol, cholestérol), acide salicylique, gibbérelline, lupéol, lignines, acide urique, acide arachidoniques.

**Tableau 3:** Comparaison du gel interne et du matériel de feuille entière (Agarwala 1997)

Propriété	Gel intérieur	Feuille entière
Solides solubles	0,62%	1,3-3,5%
pH	4.5	4.2
Azote (sous forme d'ammoniac)	12	6
Calcium <sup>2+</sup> (mg/l)	340	600
Mg <sup>2+</sup> (mg/l)	60	100
K <sup>+</sup> (mg/L)	390	750
Conductivité	1200-2300 $\mu$	1900-2500 $\mu$
Goût	Fade	Salé
Solides précipitables au méthanol	0,12–0,16 %	0,45-1,3%
(MPS) Ratio MPS/solides totaux	25-35	30-40
Rapport entre les solides précipitables à l'éthanol et les solides totaux	6–10	1–10
Pics HPLC	E-pic	E-pic ; pic non identifié à 21-31 min

Pic d'absorption UV	224 nm	254 nm
Monosaccharide	Galactane et glucomannane	Glucomannane

**Tableau 4:1** Mode d'action des substances *d'Aloe vera* (Santacruz et al. 2015).

Substance active	Effet Cosmétique	Effet médical	Mode d'action
Acemannans	Apaise et hydrate la peau	Guérit les intestins qui fuient syndrome, immunomodulateurs, antiviral contre SIDA, VIH-1, Rougeole, grippe et herpès simplex "	Lie le sucre avec récepteurs de la muqueuse intestinale et fait une barrière initiale système immunitaire qui entraîne une nécrose et une cellule cancéreuse régression en initiant la libération de tumeur, nécrose et interleukine-1 (IL-1) (Atherton et al. 1997)
Carboxypeptidase	Hydratant de la Peau	Soulage la douleur et gonflement, anti-inflammatoire	Désactive bradykinase à la place de blessure (GA Duke 1997).
Bradykinase	Hydratation de la peau, analgésique	Nettoyage des plaies, stimule le système immunitaire système et réduit l'inflammation	Cause vasodilatation (Shelton et Dermatol 1991).
Lactate de magnésium	Protection de la peau	Effets anti-prurigineux	Désactive l'histamine formation après l'histidine amino acide Histamine n'est pas confinée dans plusieurs réponses allergiques et

			raisons forte combustion et douleur. Neutralise radicaux libres et provoque une protection de la peau ( <b>Shelton et Dermatol 1991</b> )
Alprogène	Anti allergène	Anti- allergène	Inhibe l'histamine et libération de leucotriène par plusieurs signaux et Ca (2 e) blocage l'inhibition de l'afflux et antigène – anticorps réactions ( <b>Gyro et al. 1991</b> ).
Glycosyl chromone	Anti inflammatoire	- Anti-inflammatoire	Détruit le cycle de cyclooxygénase et diminue prostaglandine E2synthèse à partir de l'acide arachidonique ( <b>Santacruz et al .2015</b> )
Acide salicylique	Analgésique	Protection de la peau	Travail d'acide salicylique à travers divers itinéraires, cyclooxygénase (COX) Activité inhibition ou Adénosine monophosphate protéine activée kinase (AMPK)activation, etc ( <b>Santacruz et al. 2015</b> ).

## I.10. Utilisations et applications

Historiquement l'utilisation d'*A. Vera* pourrait remonter à l'époque biblique, *A. vera* était connue comme médecine traditionnelle du folklore pour le traitement de nombreuses maladies et maladies. *A. vera* est un anti-inflammatoire et cicatrisant bien connu, accélérant la croissance rapide du tissu épithélial (**Eshun, et He 2004**). Davis et coll, (**Davis et al.1994**) ont examiné les preuves que *A. vera* est efficace pour traiter les plaies et réduire l'inflammation par l'action du mannose6-phosphate (un sucre majeur du gel d'aloès), qu'ils ont trouvé être une substance active de croissance(**Davis et al.1994**).

### I.10.1. Dans le domaine médical

#### I.10.1.1. Médecine humaine

*L'Aloe vera* est connu par ces effets marqués dans le traitement de tissu cicatriciel et prévention de la formation de cicatrices après une blessure à la peau. En effet, *A. vera* stimule la production cellulaire grâce à l'activité des acides aminés, qui sont à la base de la formation de nouvelles cellules, et également, en raison de la capacité de ses enzymes, favorise la régénération des couches les plus profondes de la peau (Yagi et al. 1985).

Elle été également utilisé dans le traitement des brûlures (Yagi Machii et al. 1985). Il est suggéré que la lectine pourrait être responsable de l'effet thérapeutique du gel sur les brûlures (Yagi et al. 1985). *L'Aloe vera* peut être utilisé avec succès dans le traitement général des ulcères cutanés, y compris les ulcères buccaux, boutons de fièvre (herpès simplex) et ulcères de jambe (Yagi et al. 1985). C'est peut-être dû à l'effet anti-virucide du gel d'*A. vera* à des concentrations d'environ 80% (Sims et Zimmerman 1971).

L'utilisation de gel d'*A.vera* pris en traiter les ulcères gastro-duodénaux et les troubles du tractus gastro-intestinal est signalé par Blitz et coll (Blitz et al. 1963). Ils ont attribué l'effet du gel à la coacervation de l'inhibition par la pepsine de la sécrétion d'acide chlorhydrique et à un effet détoxifiant général (Blitz et al. 1963).

Dans le domaine de la dentisterie, *L'Aloe vera* a été utilisé pour traiter un diverses affections dentaires et il a été démontré qu'il soulage la douleur et accélère la guérison après une chirurgie parodontale du lambeau (Payne III 1969).

Des recherches récentes indiquent que *L'Aloe vera* peut être utilisé dans le traitement du VIH-SIDA. Ceci est attribué aux propriétés antivirales et immuno-modulantes de l'acémannane (un groupe de mucopolysaccharides présents dans l'*Aloe vera*), qui ont des effets directs sur les cellules du système immunitaire, activant et stimulant macrophages, monocytes, anticorps et lymphocytes T (Anderson 1983 ; Pittman 1992). L'acémannane agit comme un pont entre les protéines étrangères, telles que les macrophages de particules virales, et facilite la phagocytose il s'agit d'un élément clé pour renforcer l'immunité à médiation cellulaire, qui est insuffisante dans l'infection par le VIH (Anderson 1983 ; Pittman 1992).

*L'Aloe vera* trouve également son utilisation dans le traitement du cancer et il a été démontré qu'il a un effet positif sur l'inhibition de la croissance tumorale (Wolfgang 1995)

#### I.10.1.2. Médecine vétérinaire

L'emploi du gel *d'A.Vera* a également été décrite en médecine vétérinaire médicaments (Northway 1975 ; Anderson 1983). L'extrait de gel a été utilisé dans le traitement d'un nombre de conditions externes chez de nombreux animaux (Northway 1975 ; Anderson 1983). Ces conditions comprennent la teigne, les allergies, les abcès, les infections fongiques, divers types d'inflammation, la douleur et les démangeaisons (Northway 1975 ; Anderson 1983).

### I.10.2. Dans le domaine industriel

#### I.10.2.1. Industrie pharmaceutique

L'utilisation de *l'Aloe vera* dans l'industrie pharmaceutique est également très significative (Eshun et He 2004). Il est utilisé dans la fabrication de produits médicaux, tels que des traitements contre les brûlures, des onguents et des crèmes et lotions médicamenteuses pour des applications topiques pour lutter contre divers troubles cutanés (Eshun et He 2004). Le gel ou le jus *d'A.Vera* en bouteille est largement disponible aux États-Unis pour la consommation interne comme tonique, et il a été prétendu qu'il guérissait de nombreuses maladies, telles que la goutte, la constipation et l'arthrite (Eshun et He 2004).

#### I.10.2.2. Industrie de la cosmétique

Le gel *d'A.vera* a trouvé une large application dans l'industrie de la cosmétique et de la toilette (Eshun et He 2004). Ceci est principalement dû à son précieux effet émollient hydratant (Eshun et He 2004). *A. vera* gel a été-deviennent un argument de vente important dans les produits cosmétiques (Eshun et He 2004). Les formulations cosmétiques disponibles comprennent une large gamme de crèmes hydratantes, de nettoyants, de shampooings et de savons. Aux USA et en Asie, des extraits d'aloès ont été incorporés dans des crèmes et lotions à raser pour favoriser la cicatrisation des coupures (Eshunet He 2004).

Le gel *d'Aloe vera* améliore l'hydratation de la peau grâce à son mécanisme humectant. Dans une enquête, *Aloe vera* gel a montré un effet hydratant pour la couche cornée à toutes les concentrations appliquées (0,1%, 0,25% et 0,5%) (Chandan et al .2007). Les MPS sont associés à la capacité de rétention d'eau dans la peau (Chandan et al .2007). *Aloe vera* active les fibroblastes qui produisent des fibres de collagène et d'élastine rendant la peau moins ridée et plus élastique (West et Zhu 2003). Les acides aminés *d'aloès* aident également à adoucir les cellules cutanées dures et le zinc qui y est présent, étant astringent, resserre les pores (West et Zhu 2003).

**I.10.2.3. Industrie alimentaire**

*L'Aloe vera* trouve également son application dans l'industrie alimentaire essentiellement dans la formulation de boissons diététiques (**Eshun et He 2004**). Il est également utilisé dans la fabrication de yaourts et autres boissons, y compris le thé (**Eshun et He 2004**). Aux États-Unis, il devient un phénomène courant pour les gens d'ajouter les extraits en poudre à leur nourriture ou de prendre l'une des nombreuses boissons aromatisées *d'A. Vera* (**Eshun et He 2004**). En raison de ces utilisations, il apparaît que *L'Aloe vera* est extrêmement bénéfique et a une très large gamme d'utilisation (**Eshun et He 2004**).

# **Chapitre II :**

## **Les antioxydants**

## II. Les antioxydants

### II.1. Définition

Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent l'apparition de l'oxydation et peuvent être classés comme naturels ou synthétiques (**Shahidi et zhong 2010**). Les différentes classes d'antioxydants sont présentées dans le tableau 1. Les antioxydants synthétiques peuvent provoquer des effets indésirables chez l'homme, sans aucun avantage nutritionnel supplémentaire. En raison des problèmes de sécurité sanitaire des aliments et de la popularité croissante des aliments sans additifs synthétiques, de nouvelles sources de composés naturels à activité antioxydants sont recherchées depuis longtemps (**Shahidi et zhong 2010**). De nombreuses études confirment les hauts niveaux d'efficacité de certaines matières végétales dans la réduction du rancissement oxydatif des lipides (**Shahidi et zhong 2010**).

### II.2. Les radicaux libres

La matière vivante est constituée d'atomes qui comprennent respectivement des éléments appartenant au noyau et d'autres, les électrons, qui forment un nuage orbital autour de celui-ci. Ces électrons sont animés d'un mouvement de rotation à la fois autour du noyau et sur eux-mêmes (**Leverve 2009**). On appelle ce dernier le *spin* ; Ces mouvements correspondent à une énergie importante qui rend ces composés instables, c'est-à-dire très réactifs avec les éléments voisins. Dans la matière, ces électrons sont le plus souvent stabilisés grâce à la formation de couples ou paires d'électrons (**Leverve 2009**).

On appelle radical libre tout corps qui a un ou plusieurs, électrons libres (célibataires) le rendant très réactif (**Leverve 2009**).

À l'état normal, l'oxygène, qui contient naturellement deux électrons célibataires sur la couche périphérique, est très instable avec une très forte tendance à « oxyder » les composés qu'il rencontre en leur arrachant un électron pour l'apparier à l'un de ses électrons célibataires (**Leverve 2009**). Ces composés deviennent à leur tour instable, initiant une véritable chaîne de peroxydation (**Leverve 2009**). D'autres éléments physiques ou chimiques peuvent également déstabiliser les électrons des molécules biologiques (**Leverve 2009**). Ainsi, la lumière (surtout certains rayonnements ultraviolets), les radiations ionisantes (rayons X), la fumée de tabac et de nombreux composés chimiques peuvent générer des radicaux libres (**Leverve**

2009). De ce fait, l'exposition à l'oxygène et au soleil deux caractéristiques pourtant fondamentales de notre vie est à la base de la formation des composés potentiellement très toxiques pour toutes les molécules biologiques qui de ce fait les mets en danger (Leverve 2009).

### II.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène(ERO)

Deux grands groupes de molécules réactives impliquées sont alors distingué dans le stress oxydant: les espèces radicalaires et les espèces non-radicalaires ; la réactivité d'un radical libre varie d'un radical à un autre et dépend de l'environnement où ils se trouvent. Leurs constantes de vitesse réactionnelle sont très élevées (10<sup>5</sup> à 10<sup>10</sup> mol<sup>-1</sup>.L.s<sup>-1</sup>) (Delattre *et al.* 2005a).

### II.2.2. Les espèces réactives azotées (ERN)

Les espèces réactives sont principalement issues de l'oxygène mais certaines proviennent également de l'azote. Le radical NO est produit par différents types cellulaires, phagocytes et cellules endothéliales vasculaires (Speckmann *et al.* 2016). L'enzyme NO-synthase est un catalyseur dans la réaction qui produit du monoxyde d'azote ou oxyde nitrique (NO•) à partir d'arginine et d'oxygène (Speckmann *et al.* 2016). Le NO• joue un rôle physiologique dans le tonus vasculaire (Speckmann *et al.* 2016). Néanmoins, lorsqu'il est produit en quantité importante, il est délétère pour les cellules et peut réagir avec l'anion superoxyde pour former le peroxyde nitrite (ONOOH) (Koppenol *et al.* 1992 ; Fontaine 2007).

NO<sup>-</sup> (anion nitroxyde) est la forme réduite, elle dimérise rapidement pour donner l'oxyde nitreux N<sub>2</sub>O. Sous sa forme protonée HNO, il réagit avec des thiols, avec l'ADN ou avec les hèmes ferriques (Miranda *et al.* 2003). Le NO<sup>+</sup> (cation nitrosonium) est la forme oxydée, c'est un agent nitrosant (Stamler *et al.* 1992). Il participe à des réactions d'additions ou de substitutions électrophiles, la plus courante étant la S-nitrosylation des thiols (glutathion, cystéine) , N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> et N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (trioxyde et tétraoxyde d'azote) peuvent faire aussi des réactions de S-nitrosation par transfert de NO<sup>+</sup> sur des groupements thiols , et enfin, NO<sub>2</sub><sup>+</sup> (cation nitrile) ou •NO<sub>2</sub> (dioxyde d'azote) sont aussi capables de réagir avec des protéines ou des thiols (Stamler *et al.* 1992).

## II.3. La production de radicaux libres (l'origine des radicaux libres)

### II.3.1. La production intracellulaire

La production des EOR dans les cellules mammifères vient de plusieurs sources possibles (Figure 5) mais est essentiellement d'origine enzymatique (**Delattre et al. 2005 d**). Il s'agit principalement de la NAD(P) H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire (**Delattre et al. 2005 d**). La NAD(P) H oxydase est une enzyme membranaire qui catalyse la réduction de l'oxygène selon :  $\text{NAD (P) H} + 2 \text{O}_2 \rightarrow \text{NAD (P)} + \text{H}^+ + 2 \text{O}_2$  (**Delattre et al. 2005 d**)

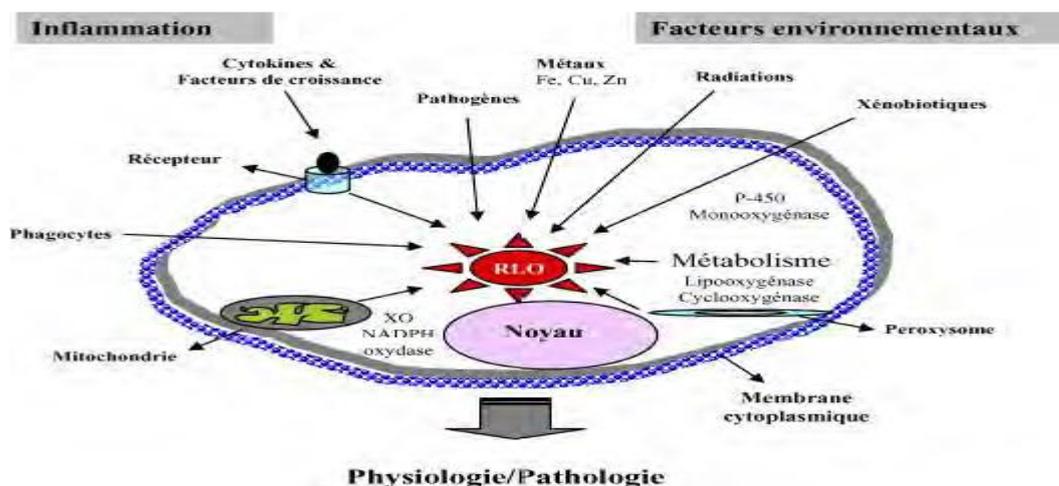
D'autres sources ayons également la capacité de jouer un rôle dans la production de radicaux telle que la xanthine oxydase qui réduit l'oxygène moléculaire en ion super oxyde, les peroxysomes qui possèdent plusieurs enzymes sources de peroxyde d'hydrogène et les lipo-oxygénases, enzymes de la voie de l'acide arachidonique qui permettent notamment la synthèse des prostaglandines, oxydent les acides gras pour donner des hydroperoxydes d'acide gras insaturés(**Delattre et al. 2005 d**).

D'un autre côté, au cours de la défense antibactérienne, les cellules phagocytaires activées par une réaction inflammatoire vont produire un grand nombre d'ERO (**Delattre et al. 2005 b ; Valko al. 2006**). De plus, il y a production massive d'anion superoxyde par le mécanisme leucocytaire (**Delattre et al. 2005 b ; Valko al. 2006**). C'est la flambée respiratoire, les NO synthases, à l'origine du radical  $\text{NO}\bullet$ , peuvent, sous certaines conditions, produire également des anions superoxydes (**Delattre et al. 2005 b ; Valko al. 2006**).

### II.3.2. La production extracellulaire

Par ailleurs, la création et l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme sont liées à l'environnement et le mode de vie de ces organismes (**Sumaya Martinez 2004**). Ces facteurs environnementaux incluant des agents cancérigènes non-génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres (xénobiotiques, activation des leucocytes..) (**Sumaya Martinez 2004**). Les rayonnements UV induisent la synthèse de  $\text{O}_2\bullet-$ ,  $\text{OH}\bullet$ ,  $\text{HO}_2$  et d' $\text{H}_2\text{O}_2$  l'intermédiaire d'agents photosensibilisants (**Sumaya Martinez 2004**).

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2$ ) présents dans notre mode de vie (tabagisme, radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels..), ainsi qu'une alimentation « chimiquée » (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (**Mena et al. 2009**).



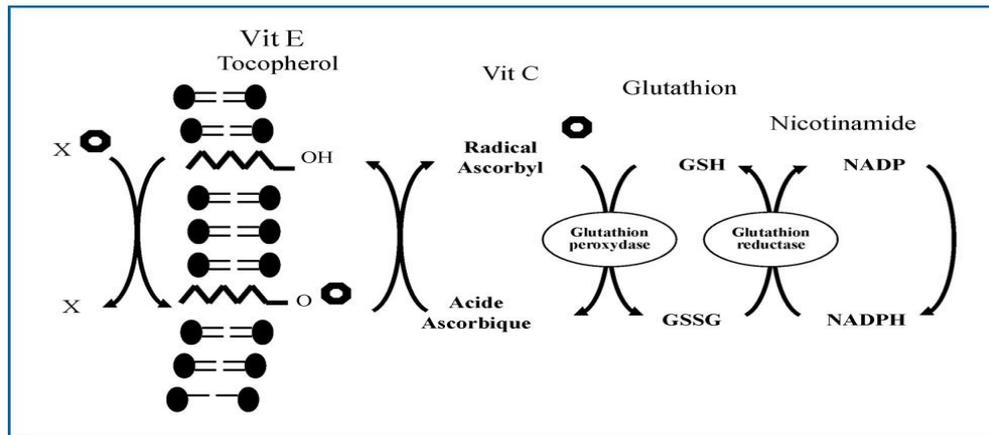
**Figure 5:** Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso *et al.* 2007).

## II.4. Systèmes de défense contre les radicaux libres

Le dérivé radicalaire, et donc le risque potentiel qu'il représente du fait de l'un d'électron célibataire, est très instable et il va réagir le plus rapidement possible avec l'environnement pour se stabiliser (Leverve 2009). Cela est obtenu soit en cédant l'électron célibataire à un autre composé (oxydation), soit en récupérant un (réduction) (Leverve 2009).

De toute façon, le composé nouvellement agressé va se retrouver à son tour déstabilisé avec un électron non apparié et, à son tour, il va chercher une victime (Leverve 2009). Plus le composé est instable, plus il réagit vite et plus il est dangereux (Leverve 2009).

Physiologiquement, la défense contre ces composés se base sur deux mécanismes distincts et complémentaires : les substances antioxydantes proprement dites, qui sont capables en s'oxydant de récupérer l'électron libre et de la conduire vers une réaction chaîne spécifique (fig 6) (Leverve 2009).



**Figure 6:**Systèmes de défense contre les radicaux libres (leverage 2009).

Les défenses antioxydantes est complémentarité entre systèmes non enzymatiques et enzymatiques (leverage 2009). Les défenses antioxydantes correspondent à la capacité d'éliminer définitivement les espèces radicalaires, c'est-à-dire présentant un électron non apparié au niveau de leur couche périphérique (leverage 2009). Les substances non enzymatiques (vitamines C et E) ont pour rôle de canaliser l'électron célibataire afin d'éviter l'attaque des lipides membranaires (leverage 2009). La réduction de la vitamine C permise par l'oxydation du glutathion représente la première étape enzymatique qui conduira à l'élimination définitive du glutathion oxydé sous l'effet de la glutathion réductase en consommant un NADPH. Chaque étape est importante mais le niveau des capacités enzymatiques est très contrôlant (leverage 2009).

En effet, l'objectif final est de se débarrasser totalement de ces radicaux libres, ce qui est obtenu moyennant une consommation d'énergie (leverage2009).

## II.5. Stress oxydant et antioxydants en pathologie

Le stress oxydatif est défini par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme (Beaudeau et Durand 2011). La production d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense (Beaudeau et Durand 2011). C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif (Beaudeau et Durand 2011). Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré (Belaich et boujraf 2016). Une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose (Belaich et boujraf 2016).



membrane plasmique de différentes cellules, notamment celles impliquées dans la réponse inflammatoire ; la xanthine oxydase dont le fonctionnement est affecté par l'ischémie **(leverte 2009)**. Le résultat est la production d'ion superoxyde, une espèce radicalaire potentiellement dangereuse, mais rendue immédiatement inoffensive grâce aux superoxydes dismutases (SOD) qui le transforment en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), composé stable qui n'est pas un radical **(leverte 2009)**. Ce composé peut être ensuite éliminé grâce à deux systèmes enzymatiques : la voie du glutathion et celle de la catalase **(leverte 2009)**. En revanche, si ce composé n'est pas éliminé sans transformation en hydroxyle ( $OH^-$ ) en présence de fer ou de cuivre, il est responsable des principaux dommages oxydatifs **(leverte 2009)**.

## II.6. Utilisation des antioxydants

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est subie actuellement remise en question en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées **(Boungdoura et Bendimerad 2012)**. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé **(Boungdoura et Bendimerad 2012)**. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique **(Boungdoura et Bendimerad 2012)**.

Des recherches scientifiques ont été effectuées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales **(Hung et Prior 2005 ; Marc et al 2004)**.

## II.7. Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles énormément retrouvées dans le règne végétal. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes **(yoshikawa et al. 1996)**. Ils sont principalement synthétisés par la voie du shikimate **(yoshikawa et al. 1996)**. Cette voie métabolique est présente uniquement chez les bactéries, champignons et les plantes **(yoshikawa et al. 1996)**. C'est pourquoi l'alimentation apporte des acides aminés essentiels non synthétisés par le corps humain **(yoshikawa et al 1996)**.

Les polyphénols naturels forment une gamme de molécules comportant au moins un groupe phénolique dans leur structure et sont en général de haut poids moléculaire (**yoshikawa et al. 1996**). On retrouve plusieurs sous-groupes caractérisés par la structure de leur squelette carboné (**Yoshikawa et al 1996**).

Les polyphénols ont les capacités de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations (**Selena 2008**). Ils sont cependant présents en faible concentration dans le plasma et sont principalement retrouvés sous forme conjuguée et donc n'ont probablement que des effets indirects *in vivo* (**Selena 2008**). Il paraît néanmoins que les polyphénols interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...) ce qui leur assure des effets anti-athérogéniques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, anti-cancérigènes (**Selena 2008**).

Ainsi, les polyphénols naturels peuvent être des molécules simples comme les acides phénoliques, mais aussi des composés hautement polymérisés comme les tanins. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal (**Bravo 1998**). On compte, à l'heure actuelle, pas loin de 8000 composés (**Bravo 1998**). Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Bravo 1998**).

Ces substances phénoliques sont très utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne pour leurs activités antioxydantes (**Rice-Evans et al. 1996**). Vue leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (**Valko et al. 2006**).

## II.8. Les flavonoïdes

Ces composés représentent le groupe le plus vaste et le plus important et le plus distribué dans le règne végétal. Le nom flavonoïde est issu du latin « Flavus » qui signifie jaune (**Richard et al. 2014**). Ce sont des pigments qui sont responsables de la coloration des fruits et des fleurs. Les différentes couleurs dépendent de la structure mais également du pH du milieu (**Richard et al. 2014**). Ils peuvent avoir comme rôle d'attirer les insectes pollinisateurs (**Richard et al. 2014**).

Les flavonoïdes ayons une structure qu'est constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné (**Richard et al.**

2014). Selon le degré d'oxydation, les flavonoïdes sont classés en six classes : anthocyane, flavonol, flavone, flavanone, isoflavone, flavanol (**Richard et al. 2014**).

## II.9. Les tanins

Les tanins sont définis comme des composés polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible (**Bravo 1998**). Ceci s'explique par la création de liaisons entre les molécules de tanin et les fibres de collagène de la peau (**Bravo 1998**). Ces molécules présentent de nombreuses fonctions hydroxyles et phénoliques qui vont leur permettre de se complexer avec de nombreuses macromolécules telles que les protéines (**Bravo 1998**). Ils ont également le pouvoir de pouvoir chélater les ions ferriques et cuivriques (**Hagerman 1988**).

Les tanins vont être classés selon deux groupes:

Les tanins hydrolysables : il s'agit d'oligo- ou de poly-esters de sucre, souvent le glucose avec des molécules d'acide-phénols (**Hagerman 1988**). Ils seront alors classés selon la nature de l'acide-phénol en question : les tanins galliques seront dérivés de l'acide gallique alors que les tanins éllagiques seront dérivés de l'acide hexadroxyphénique (**Hagerman 1988**).

Les tanins condensés : sont des polymères flavaniques constitués d'unités flavan-3-ols. Ces molécules vont être liées entre elles par des liaisons C-C (type B) ou C-O (type A) (**Hagerman1988**). Selon la définition, les homo-polymères sont des tanins condensés présentant uniquement des flavan-3-ols alors que les hétéro-polymères présenteront des monomères de classes différentes (**Hagerman 1988**).

Les tanins vont présenter des caractéristiques biologiques diversifiées (**Hagerman 1988**). La principale est l'effet astringent, c'est-à-dire la capacité à précipiter les glycoprotéines. Notons des propriétés anti-diarrhéiques, veinotoniques, antiseptiques, antioxydantes ou encore cicatrisantes (**Hagerman 1988**). Comme vu précédemment, ils vont pouvoir chélater les métaux mais également inhiber des systèmes enzymatiques (**Hagerman 1988**). De plus, les cathécols vont avoir une activité cardioprotectrice, anti-inflammatoire mais également anti-thrombotique (**Hagerman 1988**).

# **Chapitre III : matériels et méthodes**

### III. Les Matériels et méthodes

#### III.1. Objectifs de l'expérimentation

L'objectif général de ce travail est de déterminer le contenu en polyphénols et en flavonoïdes totaux et les tanins hydrolysés de *Aloe Vera*. Ensuite mesurer le pouvoir antioxydant des composés phénoliques contenu dans l'extrait de la plante étudié.

**Tableau 5:** Produits chimiques, réactifs et appareillage utilisé durant la pratique

Produits chimiques et réactifs	Appareillage
➤ Acide ascorbique : (vitamine C) C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	➤ Agitateur
➤ Acide gallique : Acide 3, 4,5-trihydroxybenzoïque C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> (OH) 3-COOH	➤ Bécher
➤ Carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	➤ Balance
➤ Trichlorure d'Aluminium AlCl <sub>3</sub>	➤ Etuve
➤ DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazine)	➤ Cuillère
➤ Méthanol (CH <sub>3</sub> -OH)	➤ Erlenmeyer
➤ Ethyle acétate	➤ Eprouvette graduée
➤ Folin-Ciocalteu	➤ Fiole
➤ Acide tannique	➤ Hottes
➤ Quercétine	➤ Micropipettes
	➤ Pissette
	➤ papier filtre (wattman)
	➤ Réfrigérateur
	➤ Spectrophotomètre
	➤ portoir les tubes
	➤ Tubes à essai
	➤ verre de montre

#### III.2. Échantillonnages

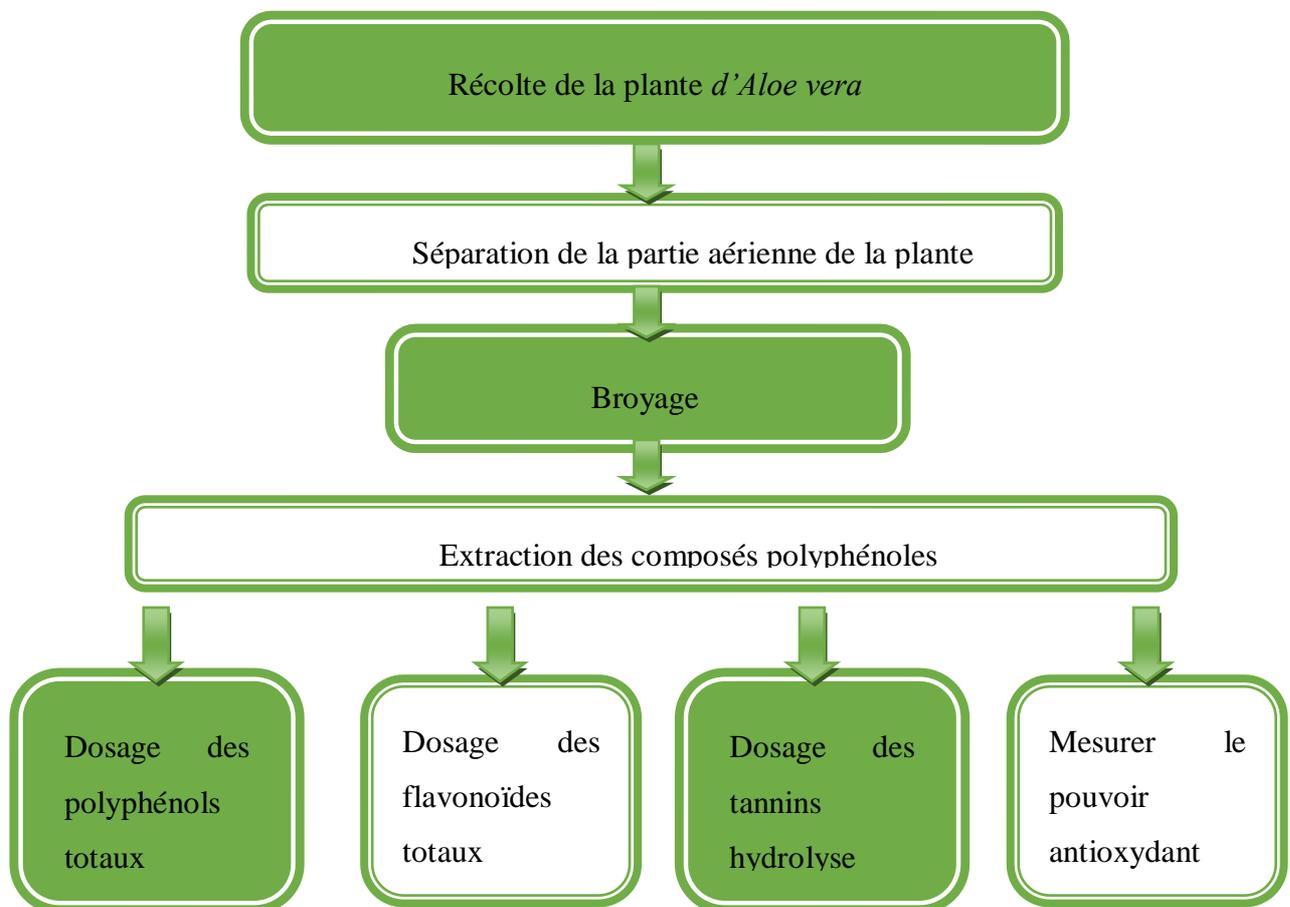
Les échantillons *d'Aloe Vera* utilisés dans cette étude ont été collectés durant le mois de mai 2021 au niveau de la commune de Haizer (wilaya de Bouira). La partie aérienne (les feuilles) de la plante est utilisée fraîche après les séparer de la plante.

**Tableau 6 :** Récapitulation des conditions de récoltes des échantillons *d'Aloe vera*

Nom botanique	Date de récolte	Lieu	Organe	L'âge du plant	Saison	Milieu végétatif
<i>L'Aloe barbadensis Miller</i>	17/05/2021	Haizer	Feuille	5 ans	printemps	Le Jardin de la maison

**Figure 8 :** Echantillon *d'Aloe Vera* (Nous avons pris la photo).

Les étapes de l'expérimentation sont présentées dans la (Fig 9)

**Figure 9 :** Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation.

### III.3. Préparation de l'échantillon

Une fois arrivée au laboratoire Biochimie (Université de Bouira). Les feuilles de la plante sont triées, lavées puis séchées, et coupées et enfin pressées manuellement à l'aide d'un mortier. Ensuite, la purée obtenue après filtration est utilisée dans les dosages des polyphénols et la détermination des antioxydants.

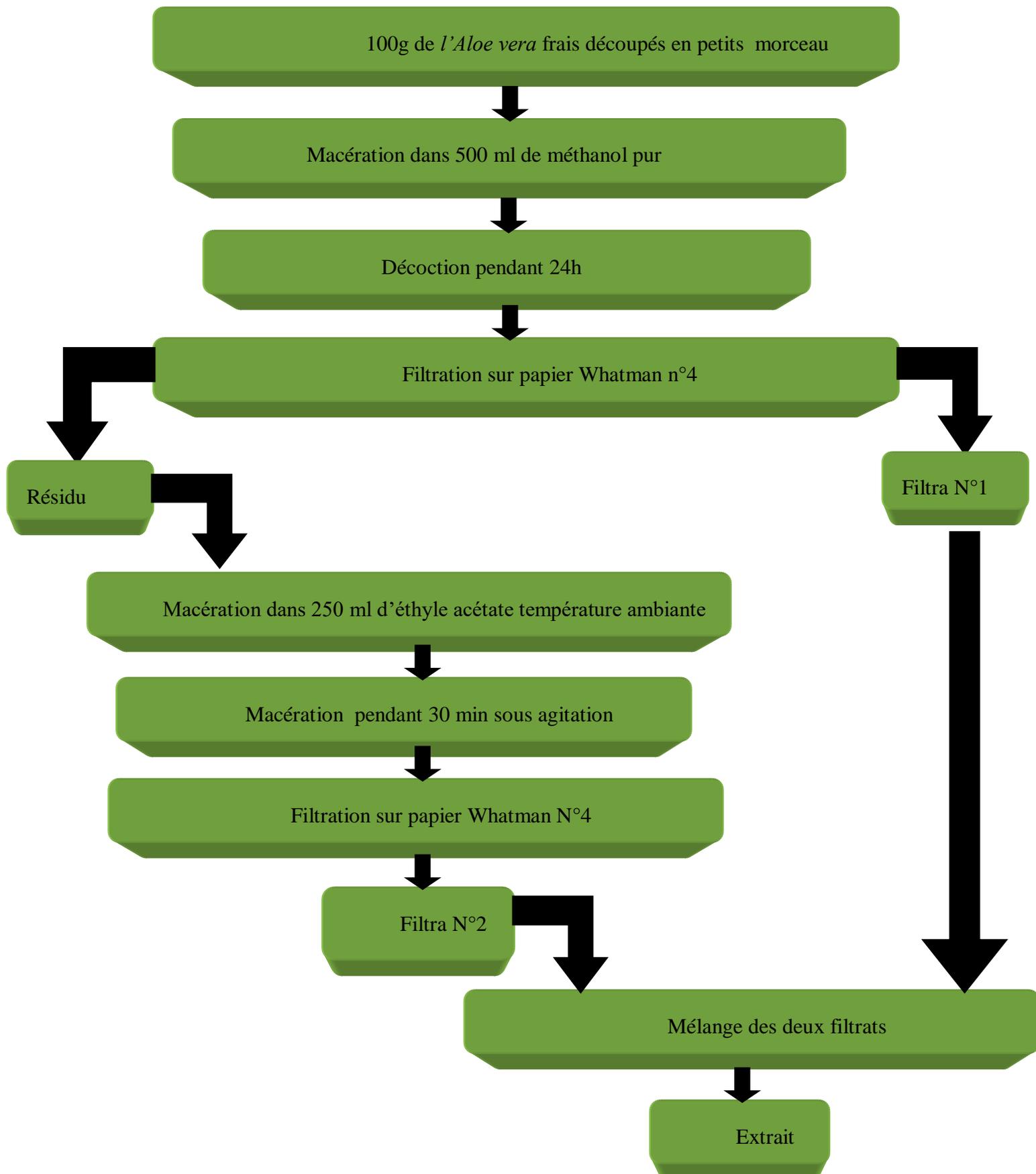
### III.4. Extraction des substances bioactives

#### III.4.1. Extraction des polyphénols

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des polyphénols. La méthode la plus efficace qui a été choisie dans cette étude c'est l'extraction liquide-liquide par technique macérations c'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles, sans transfert de chaleur. Cette technique permet d'extraire une substance dissoute dans un solvant, à l'aide d'un autre solvant, appelé solvant d'extraction nous utilisons dans notre expérience le méthanol comme un solvant d'extraction, dans lequel il est plus soluble.

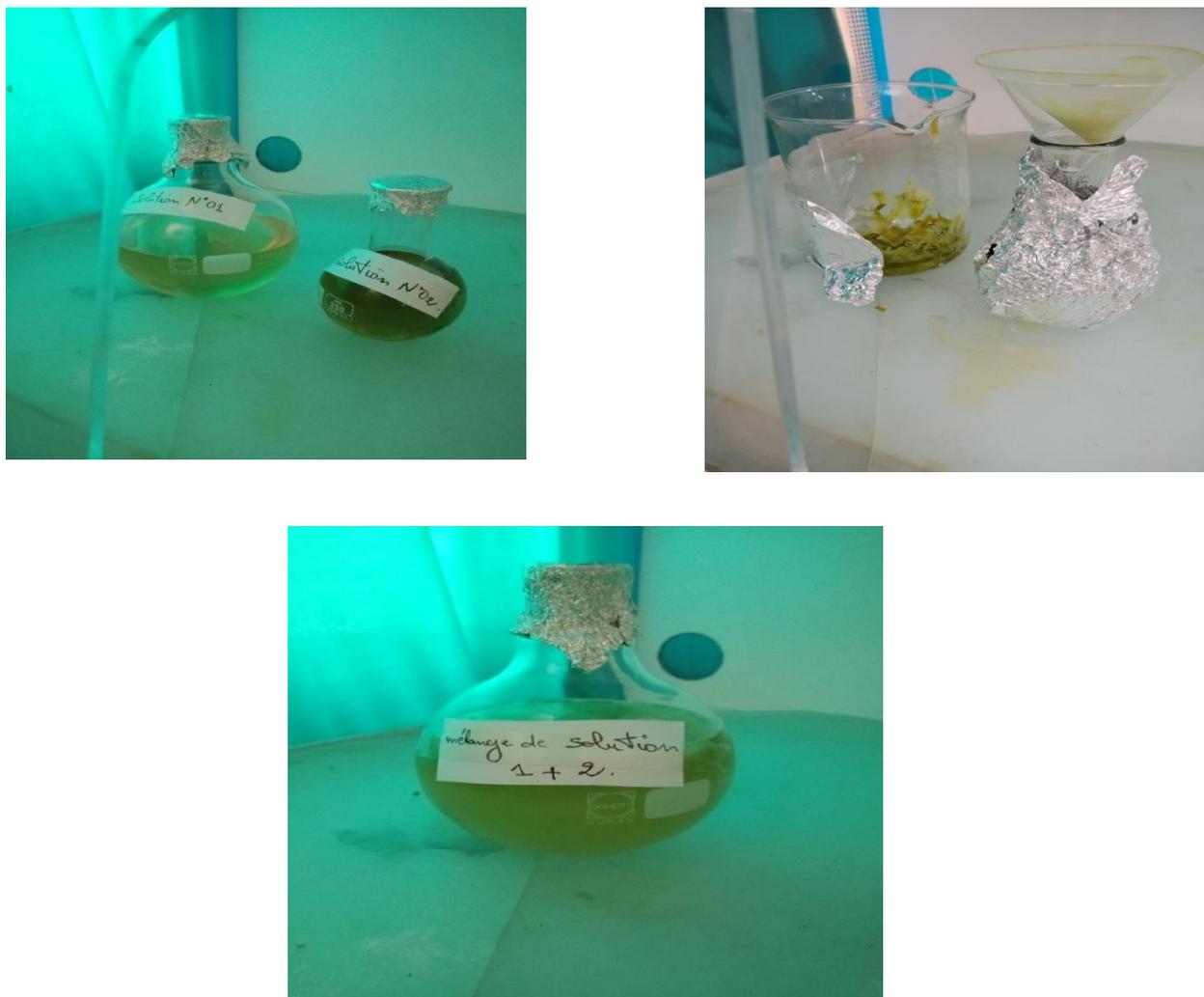
La plante est préalablement séparée, coupée et broyée ; un échantillon de 100g est mis à macérer avec 500ml de méthanol sous agitation pendant 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité pendant 24h. L'extrait reçu est ensuite filtré avec du papier Whatman N°4, en suite nous avons obtenu une solution (l'extrait) et les résidus, les résidus sont additionnés en ajoutant 250 ml d'Ethyle acétate avec agitation pendant 30 minutes après en filtrer pour la deuxième fois le mélange ensuite en mélange les deux solutions.

La méthode utilisée pour l'extraction des composés phénoliques, est celle décrite par (**Arnnok et al. 2012**). Avec quelques modifications. Le protocole expérimental est illustré dans la (fig 10).



**Figure10** : Schéma simplifié des étapes du procédé d'extraction des polyphénols





**Figure 11** : les étapes d'extraction d'extrait méthanolique ; **1** ) Plante *d'Aloe vera* ; **2**) Laver la feuille ; **3**) Couper en petits morceaux ; **4**) Broyage à l'aide d'un mortier ; **5**) Ajoutons le Méthanol ; **6**) filtration n°1 par papier Whatman N4 ; **7**) les résidus ; **8**) Ethyle acétate+les résidus ; **9**) Filtration n°2 ; **10**) Solution n°1 + Solution n°2 ; **11**) Mélange de solution 1+2.

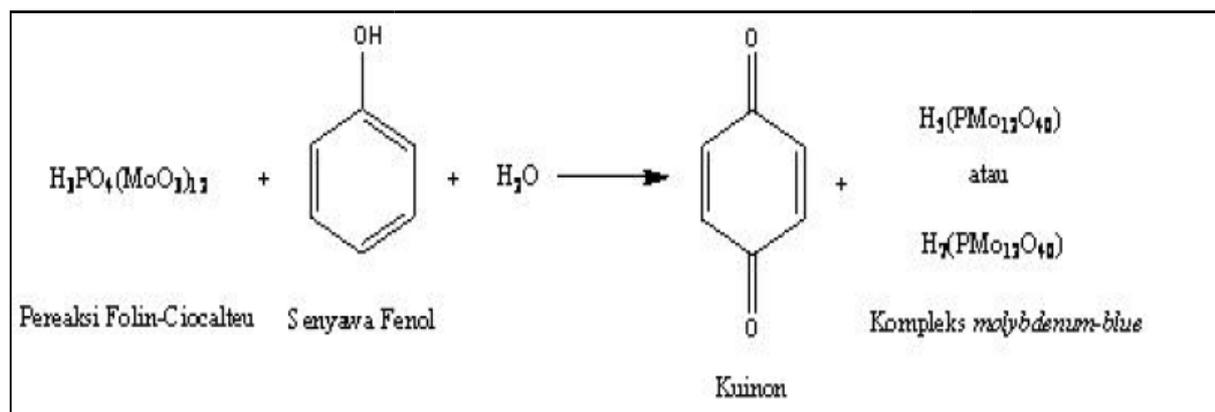
### III.5. Dosage des composés phynolique

#### III.5.1. Dosage des Polyphénols totaux

##### III.5.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu tungungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon 1968**). La coloration produite dont l'absorption maximum à 765 nm est

proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits obtenus (fig 12)



**Figure 12:**Réaction du Folin-Ciocalteu avec les polyphénols (Boizot et charpentier 2006).

### III.5.1.2. Préparation des solutions

Le réactif Folin-Ciocalteu est utilisé à une concentration de (10%). Une solution mère d'acide gallique est préparée à une concentration de  $100\mu\text{g} / \text{ml}$  dans le méthanol. La gamme qui sera réalisée à partir de celle-ci permettra de tracer la courbe d'étalonnage. Une solution de carbonate de sodium est ensuite réalisée dans de le méthanol à une concentration de (7.5%).

### III.5.1.3. Mode opératoire

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par (Arnous et al. 2002) en y apportant quelques modifications.

Dans des tubes à essai en verre, on place  $20\mu\text{l}$  d'extrait après on ajoute  $500\mu\text{l}$  de réactif Folin-Ciocalteu. Le milieu est mélangé à l'aide d'un vortex et puis incubé pendant 5 minutes, après on ajout  $800\mu\text{l}$  de solution de carbonate de sodium (7.5%) aux mélange réactionnel est finalement laissé à incuber durant 30 minutes à l'obscurité. L'absorbance est lue à  $765\text{ nm}$  sur spectrophotomètre UV contre .La teneur en polyphénols est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de la matière, en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les essais sont répéter trois fois et les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

### III.5.1.4. Expression des résultats

Les valeurs de concentration seront directement lues à partir des droites d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence d'acide gallique, de la forme  $Abs = a \cdot [AG] + b$ . Il s'ensuit que la concentration de l'échantillon est exprimée en mg d'équivalent de l'étalon par gramme d'extrait.

« a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite étalon.

La gamme d'acide gallique est tracée pour des concentrations comprises entre 0.01 et 0.07 mg/ml (Fig. 13).

### III.5.1.5. Droite d'étalonnage d'acide gallique

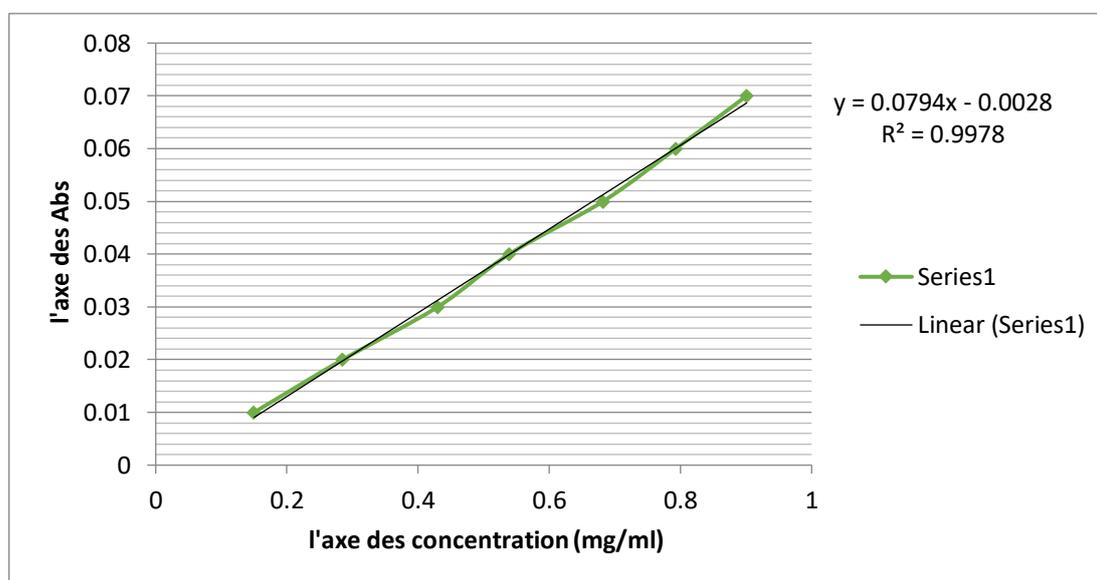
Les absorbances de l'acide gallique correspondantes aux solutions de concentrations citées ci-dessus sont enregistrées dans le tableau suivant

**Tableau 7 :** Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique.

<b>Abs</b>	0,15	0,285	0,43	0,539	0,682	0,793	0,901
<b>C (mg/ml)</b>	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07

### III.5.1.6. Application

On peut représenter la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (fig.13) en prenant la concentration (mg/ml) en fonction de l'absorbance, le coefficient de corrélation  $R^2 = 0,997$



**Figure 13:** Droite d'étalonnage de l'acide gallique dans le dosage de Folin-Ciocalteu

**Tableau 8 :** Absorbances des échantillons à tester

Tubes	01	02	03
Abs d'échantillon testé	0.432	0.495	0.583

### III.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux

#### III.5.2.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes peuvent et réalisé en utilisant l'une de leurs propriétés structurales : la chélation des cations métalliques. Dans un milieu contenant des ions  $Al^{3+}$ , les flavonoïdes se complexent avec ces cations grâce à leurs groupements hydroxyles (OH), en formant une coloration jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait.

La détermination de la teneur en flavonoïdes de l'extrait *d'Aloe Vera* est effectuée par la méthode colorimétrique décrite par (Arvouet-Grand *et al.* 1994).

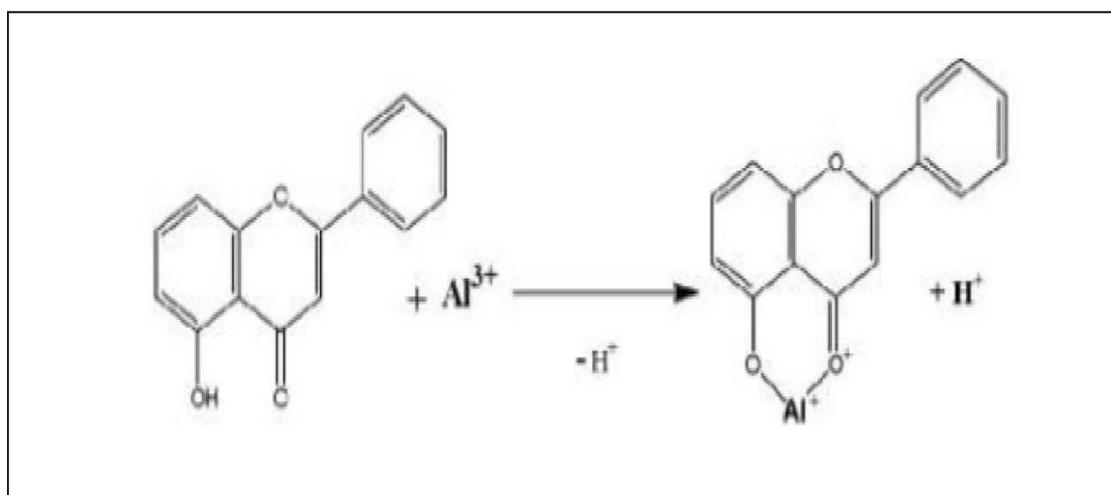


Figure 14: Réaction du chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau-Gayon et Gautheret 1968).

#### III.5.2.2. Préparation des solutions

Une solution mère de quercétine est préparée à une concentration de  $100\mu\text{g/ml}$  dans le méthanol. La gamme qui sera réalisée à partir de celle-ci permettra de tracer la courbe d'étalonnage.

#### III.5.2.3. Mode opératoire

La quantification des flavonoïde été réalisée par la méthode de (Djeridane *et al.* 2006) avec le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) on y apportant quelques modifications.

Un volume de 20 $\mu$ l d'extrait est mélangé avec 800 ml de la solution de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 3.6 %. Le milieu est mélangé à l'aide d'un vortex Après 1 heure d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm sur spectrophotomètre UV. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de la matière, en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (**fig.15**).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

#### III.5.2.4. Expression des résultats

Les valeurs de concentration seront directement lues à partir de la droite d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence, de la forme  $Abs = a \times [Q] + b$ . Il s'ensuit que la concentration de l'échantillon est exprimée en mg d'équivalent de l'étalon par gramme d'extrait.

La gamme de quercétine est tracée pour des concentrations comprises entre 0.01et 0.07 mg /ml (Fig.15)

#### III.5.2.5. Droite d'étalonnage de quercétine

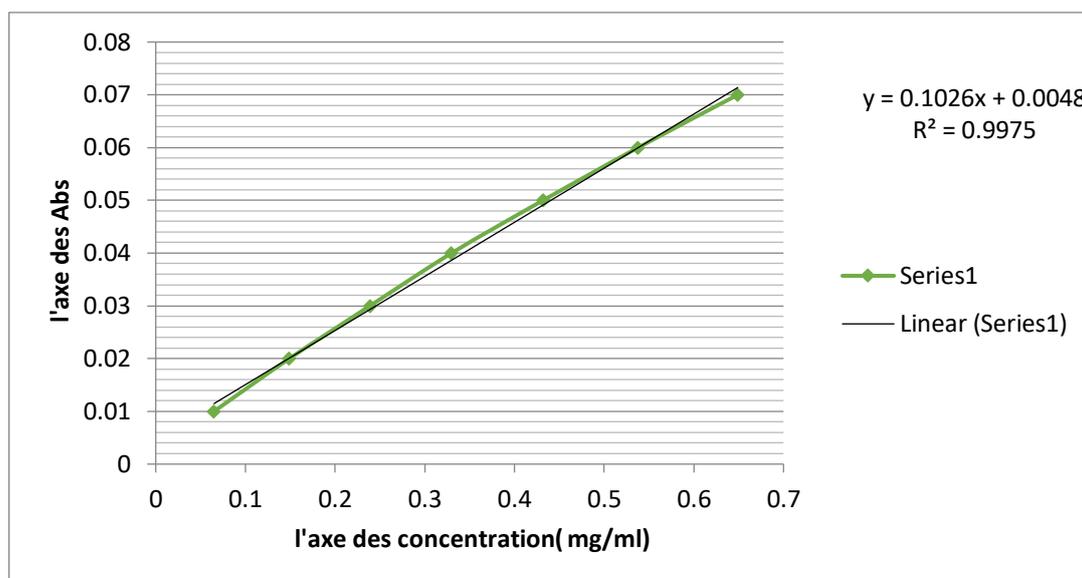
Les absorbances de quercétine correspondantes aux solutions de concentrations cité ci-dessus sont enregistrées dans le tableau suivant

**Tableau 9** : Absorbances de la gamme de concentration de la quercétine

Abs	0,065	0,149	0,239	0,33	0,432	0,538	0,649
C(mg /ml)	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07

#### III.5.2.6. Application

On peut représenter la courbe d'étalonnage de la quercétine (fig.15) en prenant la concentration (mg/ml) en fonction de l'absorbance, le coefficient de corrélation  $R^2= 0.997$



**Figure 15** : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux

**Tableau 10** : Absorbances des échantillons à tester

tubes	01	02	03
Abs d'échantillon testé	0.210	0.271	0.232

La quantité de flavonoïdes totaux de l'extrait testé à une concentration fixe est alors calculée à l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage à partir des valeurs absorbances mesurées.

### III.5.3. Dosage des tannins hydrolysable

#### III.5.3.1. Principe

Cette méthode colorimétrique est basée sur une réaction avec le trichlorure de fer, le mélange d'extrait tannique plus le réactif du trichlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) provoque une coloration rouge violette du complexe d'où la formation des ions de ( $\text{Fe}^{3+}$ ) (Swain et Hillis 1959 ;Falleh et al.2006)

#### III.5.3.2. Préparation de solution

La solution est préparée à base de trichlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) une concentration de  $1.62 \mu\text{g/ml}$  après on doit éliminée  $16 \mu\text{l}$  de la solution préparé et on va la remplacée par  $16 \mu\text{l}$  de l'acide chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ).

### III.5.3.3. Mode opératoire

La quantification de teneur en tanins a été réalisée par la méthode de (Dif et al. 2015) on y apporté des modifications.

Pour le dosage des tanins hydrolysable on a préparé des tubes à essai en verre après 250µl d'extrait est mélangé avec 875 ml de la solution de trichlorure ferrique(FeCl<sub>3</sub>). L'absorbance du mélange est lue 15 secondes après addition du réactif, à une longueur d'onde (λ) de 660 nm sur spectrophotomètre UV.

Les essais sont reproduit trois fois les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

### III.5.3.4. Expressions des résultats

Les valeurs de concentration seront directement lues à partir de la droite d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence, de la forme  $Abs = a \times [AT] + b$ . Il s'ensuit que la concentration de l'échantillon est exprimée en mg d'équivalent de l'étalon par gramme d'extrait.

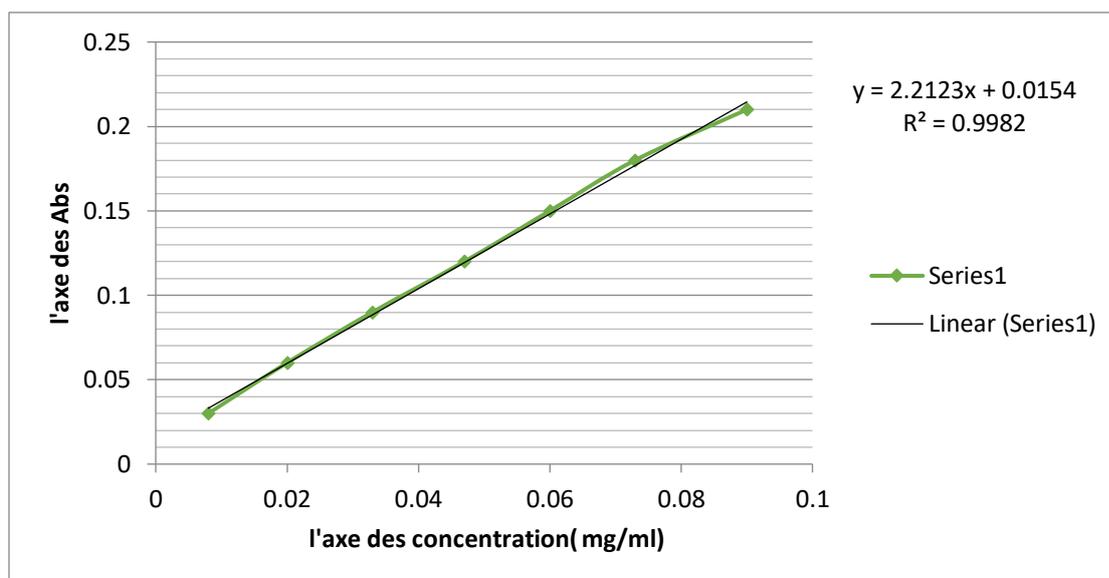
La gamme de l'acide tannic est tracée pour des concentrations comprises entre 0.03 et 0.21 mg /ml (Fig.16).

**Tableau 11** : Absorbances de la gamme de concentration d'acide tannic

<b>Abs</b>	0,008	0,02	0,033	0,047	0,06	0,073	0,09
<b>C(mg/ml)</b>	0,03	0,06	0,09	0,12	0,15	0,18	0,21

### III.5.3.5. L'application

On peut représenter la courbe d'étalonnage de l'acide tannic (fig.16) en prenant la concentration (mg/ml) en fonction de l'absorbance, le coefficient de corrélation  $R^2 = 0.998$



**Figure 16** : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tannais hydrolysable

**Tableau 12** : Absorbances des échantillons à tester

tubes	01	02	03
Abs d'échantillon testé	0.060	0.062	0.076

## III.6. Evaluation du potentiel antioxydant

### III.6.1. Principe

De nombreux tests colorimétriques sont utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques purs ou d'extrait (Milée 2012). Dans notre étude nous avons utilisé des tests chimiques qui mesurent la réduction du radical stable. Le test de DPPH est l'un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité anti-radicalaire de l'extrait (Milée 2012)

Initialement la couleur de DPPH est violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie .Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (Milée 2012)

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits (Milée 2012).

### III.6.2. Préparation de solution

Une solution méthanolique de DPPH a été préparée en dissolvant 2.4 mg de ce produit dans 100 ml de méthanol cette préparations est estimé d'après le protocole de (Dahmoune 2013)

### III.6.3. Mode opératoire

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH a été effectuée en utilisant la méthode décrite par Molyneux (2003) légèrement modifiée

On prépare 5 tubes à essais moins concentré que le premier à des volumes de (100 ; 90 ; 80 ; 70 ; 60 ; 50 ; 40 ; 30 ; 20 ; 10 µl) de notre extrait après on ajoute le méthanol pour les 9 tubes jusqu'à atteindre le volume de premier tube (celui de 100 µl) après on ajoutant 1000 µl de DPPH pour tout les tubes. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé.

Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de lumière à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 517 nm sur spectrophotomètre UV.

### III.6.4. Expressions des résultats

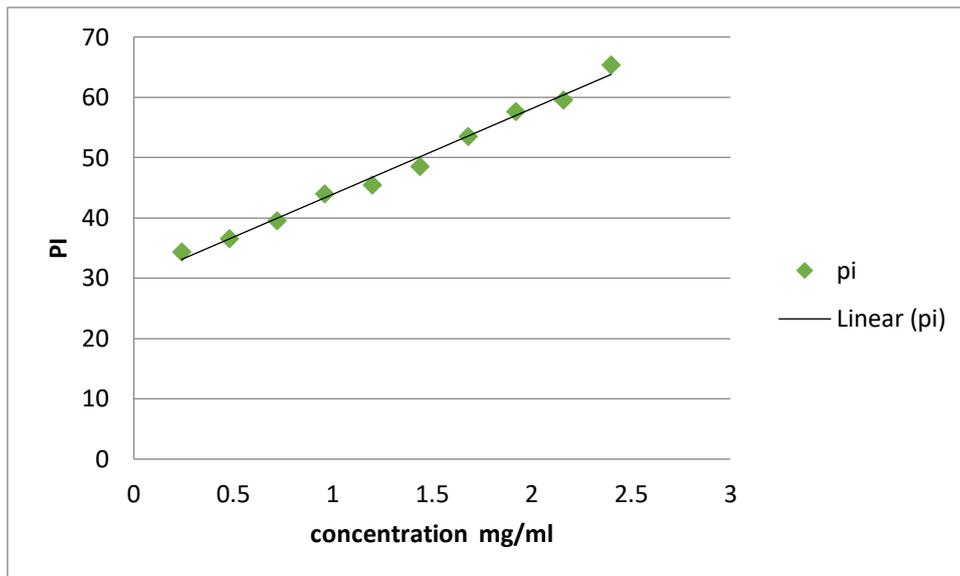
La capacité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (% d'inhibition DPPH) calculé selon ce qui suit équation  $PI = \frac{Abs\ contrôle - \acute{E}chantillon}{Abs\ contrôle} \times 100$

PI : pourcentage d'inhibition.

### III.6.5. L'application

**Tableau 13** : pourcentage d'inhibition des radicaux libre en fonction de concentration

C(mg/ml)	0.24	0.48	0.72	0.96	1.20	1.44	1.68	1.92	2.16	2.4
Pi (%)	34,37	36,58	39,53	43,95	45,43	48,52	53,54	57,67	59,59	65,34



**Figure17** : courbe des pourcentages d'inhibition des radicaux libre en fonction de concentration.

### III.7. Analyses statistique

Nous avons obtiens nos graphe a l'aide de l'Excel 2007.

# **Chapitre IV : résultats et discussions**

## IV. Résultats et discussions

### IV.1. Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tannins

Parmi tous les constituants chimiques des végétaux, les composés phénoliques, s'ils n'occupent qu'une place quantitative modeste, ont de multiples propriétés qui ont de tout temps, été recherchées par les êtres humains, (**Macheix et al. 2005**)

Les tests colorimétriques ont été utilisés pour évaluer et déterminer la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale. La macération et le choix du solvant utilisé sont les principaux critères à prendre en considération pour une extraction rentable (**Turkmen et al. 2007**).

#### IV.1.1. Teneur en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux, nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenu au niveau de l'extrait.

Le dosage colorimétrique de Folin-Ciocalteu nous a permis d'avoir une idée sur les variations qualitatives des composés phénoliques précisément les polyphénols totaux.

La concentration en polyphénols totaux de l'échantillon est d'environ  $47.97 \pm 7.20$  mg EAG/g, Le taux de polyphénols trouvés dans notre échantillon est supérieur aux résultats apportés par (**AZIB et HAMMACHE 2019**) qui ont notés des valeurs 13,78 mg EAG/100g, et aux résultats approuvés par (**Attabi 2012; Monirrozzaman 2012**) qui ont notés des valeurs entre 2000 mg EAG/100g, du Polyphénols totaux.

Les cause de cette différence pourrait être due aux conditions climatiques, au temps de la récolte et aux conditions de culture, mais aussi à la méthode d'extractions et la méthode de dosage elle-même et au solvant d'extraction.

D'après les études fait par (**Zapata et al. 2013**), ont indique la teneur en composés phénoliques totaux est influencée par les saisons de l'année, où ces composés prennent leurs valeurs maximales en été, et minimales en printemps, la température élevée induit l'accumulation des produits phénoliques comme réponse de stresse de la plante.

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.

D'après (Menyar *et al.* 2012), ont démontré que l'absence de l'oxygène dans le milieu réactionnel réduit la teneur en polyphénols à une température de 25°C la teneur est de 14.3% et à une température de 150° C diminue le taux est de 12.4%. Selon la même étude, dans une atmosphère azotée résulte une diminution de 38.5% à 25° C et plus de 31.5% à 150° C.

Donc Le type de l'atmosphère et la température d'extraction peuvent influencer sur le taux de polyphénols.

#### IV.1.2.Teneur en flavonoïdes

La raison principale pour laquelle on a choisi les flavonoïdes, car ils constituent la classe des polyphénolique les plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrit par (Gomez-Caravaca *et al.* 2006).

La teneur en flavonoïdes totaux étant observé est  $17.18 \pm 2.27$  mg EQ/g d'*Aloe Vera* ; est supérieure à celle aux résultats menés par (AZIB et HAMMACHE 2019) qui ont notés des valeurs égale à 0.921mg EQ/100g; et aux résultats menés par (Attabi 2012; Monirrozzaman 2012) qui ont enregistrées des teneurs 200 mg EQ /100g.

Cette différence de teneur en flavonoïde peut être liée au temps et aux saisons de la récolte, aux conditions climatiques et condition d'extraction et du dosage lui-même.

Selon l'étude de (Rawel *et al.* 2005), les méthodes de conservation et d'exposition à la lumière des plantes peuvent affecter la teneur en flavonoïdes. En effet, ceux-ci sont sensibles à l'oxydation, ce qui pourrait expliquer ces différences.

(Cardoso *et al.* 2010), ont trouvés que la concentration des flavonoïdes dans les feuilles d'*Aloe Vera* est variable en fonction de saisons et des solvants utilisés, les flavonoïdes prennent leur concentration maximale en automne, alors que la concentration minimale a été marquée en été. Ils ont constatés aussi que les concentrations des flavonoïdes obtenues à partir des extraits chloroformiques sont supérieures à celles obtenues en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction.

#### IV.1.3.Teneur en tannais

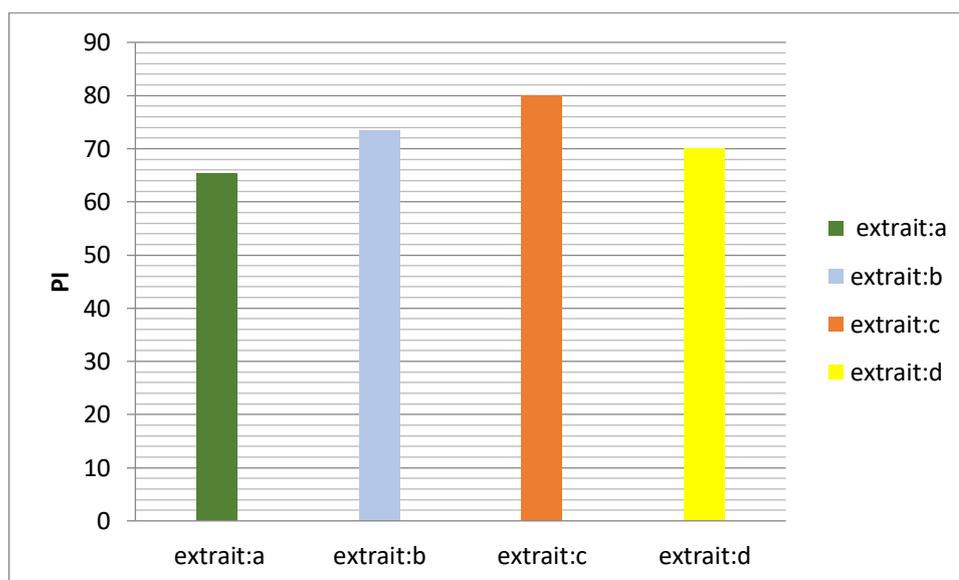
On est intéressé de faire un test de dosage pour les tanins pour vu que ces divers propriété. La principale propriété des tannins est leur aptitude à se combiner aux protéines, cette dernière constitue l'un des principes de leur quantification. Cependant cette propriété est liée aux conditions du milieu réactionnel (pH, température, force ionique...etc.) (De Freitas *et al.* 2003 ; Naczk *et al.* 2006).

La teneur des tannais étant déterminé est  $0.25 \pm 0.12$  mgEAT/g *d'Aloe vera* ; Cette valeur est légèrement inférieure à celle obtenu par (Attabi et Bouzekri 2013) qui ont notés des valeurs égale à 3000mg EAT/100g. Ces études sont fait avec les même plante de région différente en utilisant comme solvant d'extraction le éthanol.

## IV.2. Détermination du Pouvoir antiradicalaire

L'activité antioxydant d'extraits de plante d'Aloe vera vis-à-vis du radical DPPH est évaluée par spectrophotomètre UV à une absorbance de 517 nm en suivant la réduction de ce radical (Chang et al. 2007 ; Wang et al. 2009). Les antioxydants interagissent avec le DPPH en lui transférant un électron ou un atome d'hydrogène ce qui entraîne son neutralisation, par conséquent la couleur change de pourpre vers le jaune (Kubola et Siriamornpun 2008).

Les résultats de l'activité antiradicalaire de quatre extraits de la plante d'Aloe vera présentés sur la figure 18:



**Figure 18:** comparaison de pourcentage d'inhibition du radical DPPH de notre extrait (a) avec l'extrait éthanologique (b ; c ; d ) qui est étudié par (Attabi et Bouzekri 2013) ; (Milée et al.2012) ;(Ozsoy et al.2009) respectivement.

Les résultats de la (fig.18) indiquent que tous les extraits étudiés présentent la capacité de piéger plus de 50% du radical DPPH.

Notre extrait de l'Aloès vera présente une activité antiradicalaire estimée à 65.34%, inférieure ou conforme à celle trouvés par (Attabi et Bouzekri 2013) ;(Milée et al 2012); (Ozsoy et al 2009), qui ont constaté un taux de 73.50% et 80% et 70% respectivement.

La forte activité antioxydant de notre plante et les plante à les qu'elles on a comparée notre résultat serait donc liée à leur forte teneur en phénols totaux.

# **Conclusion**

## Conclusion

Les résultats relatifs à notre étude qui consiste à évaluer *in vitro* l'activité inhibitrice de l'extrait méthanolique des feuilles *d'Aloe vera* montre son efficacité sur l'inhibition des radicaux libres.

D'autre part, le mécanisme d'action des inhibiteurs étant lié à leur composition chimique, Les résultats obtenus par spectrophotomètre UV montrent clairement que les composés contenus dans l'extrait se manifestent au stade de la croissance.

Dans ce travail, nous nous sommes concentrés sur l'étude de l'activité antioxydante de l'extrait phénolique obtenu à partir de la feuille verte de *l'Aloe vera*. D'après les tests de dosage contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-ciocalteu qui nous à donné un taux de (47.97mg EAG/g). Et les flavonoïdes par la méthode d'AlCl<sub>3</sub> qui nous donné une teneur de (17.17mg EQ/g) et aussi les tanins par la méthode de (FeCl<sub>3</sub>) qui nous donné un taux de (0.12mg EAT/g). D'après ces résultats obtenu et les résultats à les qu'elles on a comparés nous avons constaté que *l'Aloe vera* est riche en polyphénol, flavonoïdes et tanins. L'activité antioxydante *in vitro* qu'est évaluée par un pourcentage d'inhibition de (65.34%) montre que l'extrait phénolique *d'Aloe vera* a une activité antiradicalaire modérée et conformement par rapport aux résultats à les qu'elle on a compare qui sont réalisé par des autres chercheurs.

Les différents résultats obtenus au cours de cette étude, nous ont permis de conclure que Les rendements des extraits méthanolique de la plante *Aloe vera* sont généralement élevés, ce qui indique la bonne solubilité des composés des feuilles étudiées dans méthanol.

On perspectives de faire des projets pour la culture *Aloe vera* et des études biochimique sur l'évaluation de l'activité antioxydants *in vivo*.

## Résumé

*L'Aloe vera* aussi appelé *Aloes*, est une plante originaire d'Afrique. C'est une plante vivace connu depuis l'antiquité. *L'Aloe vera* présente plusieurs vertus médicinales. Elle est considérée comme plante dépolluante. Ainsi, elle est au vue de notre étude considérée comme une plante antioxydante et antiradicalaire. Ce travail est une contribution à l'étude de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et les tannins d'extrait d'une plante de la région Haizer (Bouira) et d'évaluer l'activité antioxydant par la méthode de DPPH, les phénols totaux ont été déterminé par la méthode de réactif Folin-Ciocalteau et les flavonoïdes par la méthode au chlorure d'aluminium et les tannins par trichlorure de fer. Les résultats de ce travail dont la teneur de (47.97mgEq AG/g) ;(17.17mg Eq Q/g) et (0.12mg Eq AT/g) respectivement.. Les résultats de ce travail nous ont permis d'affirmer que l'activité antioxydante d'*Aloe vera* revient essentiellement aux composés phénoliques. L'extrait donne une grande activité approche de la vitamine C suivant la méthode des radicaux libres DPPH.

**Mots clés :** *Aloe vera* ; méthode colorimétrique ; polyphénols totaux ; flavonoïdes, les tannins ; activité antioxydantes, DPPH ; radicaux libres

## Abstract

*Aloe vera* also called *Aloes*, is a plant native to Africa. It is a perennial known since antiquity. *Aloe vera* has several medicinal properties. It is considered a de polluting plant. Thus, it is in view of our study considered as an antioxidant and antiradical plant. This work is a contribution to the study of the total polyphenol, flavonoid content and tannins of a plant extract of the Haizer (Bouira) region and to evaluate the antioxidant activity by the DPPH method, the total phenols have was determined by the Folin-Ciocalteau reagent method and flavonoids by the aluminum chloride method and tannins by the iron trichloride The results of this work including the content (47.97mgEq AG /g); (17.17mg EQ/g) and (0.12mg EAT /g). The results of this work have allowed us to state that the antioxidant activity of *Aloe vera* is essentially the phenolic compounds. The extract gives a great activity approach of vitamin C following the method of free radicals DPPH.

**Keywords:** *Aloe vera*; colorimetric method; total polyphenols; flavonoids, tannins; antioxidant activity, DPPH; free radicals.

## ملخص

*الألويفيرا* ، المعروف أيضًا باسم الصبار ، هو نبات موطنه الأصلي إفريقيا. إنه نبات معروف منذ العصور القديمة. الصبار له العديد من الفوائد الطبية. يعتبر نبات مزيل للتلوث. وبالتالي، في ضوء دراستنا، يعتبر نباتاً مضاداً للأكسدة ومضاداً للجذور الحرة. هذا العمل هدفه دراسة محتوى البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص للنبات من مستخلص نبات الألويفيرا الذي تم قطفه من منطقة حيزر (البويرة) ولتقييم نشاط مضادات الأكسدة بطريقة النشاط المضاد للراديكالية، تم تحديد إجمالي محتوى البوليفينول بواسطة فولتا سيوكلتو وطريقة الكاشف والفلافونيدات بطريقة كلوريد الألومنيوم والعفص بواسطة ثلاثي كلوريد الحديد التجارب التي قمنا بها سمحت لنا بالحصول على النتائج على التوالي (47.97 مغ/ع/غ) (17.17 مغ/ع/غ) (0.12 مغ/ع/غ) سمحت لنا نتائج هذا العمل أن نقول أن النشاط المضاد للأكسدة في الألويفيرا يرجع أساساً إلى المركبات الفينولية. يعطي المستخلص نهجاً عالي النشاط لفيتامين ج باتباع طريقة الكشف على النشاط المضاد للراديكالية.

**الكلمات المفتاحية:** *الألويفيرا* ، طريقة قياس اللون ، البوليفينول الكلي ، مركبات الفلافونويد ، العفص ، نشاط المضاد للأكسدة ، الجذور

الحرة.

# **Références bibliographique**

## V. Référence bibliographique

A

**Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.

**Agarwala, OM (1997).** Gel d'*Aloès* à feuilles entières par rapport au gel d'*Aloès* standard. *Drogues et Industrie Cosmétique* 22-28 février

**Ahlawat, K. S., & Khatkar, B. S. (2011).** Processing, food applications and safety of *Aloe vera* products: a review. *Journal of food science and technology*, 48(5), 525-533.

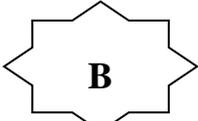
**Akaberi, M., Sobhani, Z., Javadi, B., Sahebkar, A., & Emami, S. A. (2016).** Therapeutic effects of *Aloe* spp. in traditional and modern medicine: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 759-772.

**Anderson, B. C. (1983).** *Aloe vera* juice-a veterinary medicament. *compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, 5(7), s364.

**Arnnok, P., Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongstien, S., & Chanthai, S. (2012).** Determination of total phenolics and anthocyanin contents in the pericarp of hot chilli pepper (*Capsicum annum* L.). *International Food Research Journal*, 19(1).

**Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2002).** Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of food composition and analysis*, 15(6), 655-665.

**Attabi, B., Brahmi, N. E., & Bouzekri, H. (2013).** Etude comparative de l'activité antioxydante de cinq plantes médicinales.

B

**Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés: effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des maladies Métaboliques*, 10(1), 38-42.

**Blitz, J., Smith, J. W., & Gerard, J. R. (1963).** *Aloe vera* gel in peptic ulcer therapy; Preliminary report. *Journal AOA*, 62, 731-735.

**Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

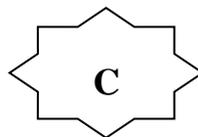
**Boudreau, M. D., & Beland, F. A. (2006).** An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (miller), *Aloe vera*. *Journal of Environmental Science and Health Part C*, 24(1), 103-154.

**Boufford D. E.1997.** *Fumaria*. In: *Flora of North America* Editorial Committee, eds. 1993+. *Flora of North America North of Mexico*. 18+ vols. New York and Oxford. Vol. 26, p 411.

**Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

**Boulos L. (2000).** *Flora of Egypt*, Vol.2 (*Geraniaceae-Boraginaceae*). Cairo: Al HadaraPuplishing. 352.

**Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.

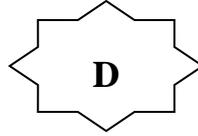


**Chahrazed, A. Z. I. B., & Ratiba, H. A. M. M. A. C. H. E. (2019).** Evaluation des propriétés antioxydantes et fonctionnelles de *l'Aloe Vera* et élaboration d'un jus à base de cette plante (Doctoral dissertation).

**Chandan, B. K., Saxena, A. K., Shukla, S., Sharma, N., Gupta, D. K., Suri, K. A., ... & Singh, B. (2007).** Hepatoprotective potential of *Aloe barbadensis* Mill. against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(3), 560-566.

**Cook, N. C., & Samman, S. (1996).** Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of nutritional biochemistry*, 7(2), 66-76.

**Cruz, R. G., & Legaspi, G. F. A. (2019).** 7. Boracay beach closure: the role of the government and the private sector. In *Overtourism* (pp. 93-110). De Gruyter Oldenbourg.



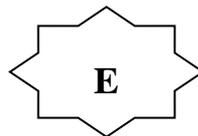
**Dahmoune, F., Boulekbache, L., Moussi, K., Aoun, O., Spigno, G., & Madani, K. (2013).** Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants: evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 50, 77-87.

**Davis, R. H., Donato, J. J., Hartman, G. M., & Haas, R. C. (1994).** Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in *Aloe vera*. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 84(2), 77-81.

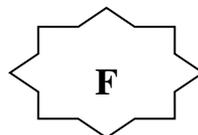
**De Freitas, V., Carvalho, E., & Mateus, N. (2003).** Study of carbohydrate influence on protein–tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*, 81(4), 503-509.

**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.

**Durand, G., & Beaudeau, J. L. (2011).** *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives.* Lavoisier.



**Eshun, K., & He, Q. (2004).** *Aloe vera*: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(2), 91-96.



**Falleh H, Ksouri R, Abdelly C (2006)** Activité antioxydante et contenu en polyphénols dans les différents organes de l'artichaut sauvage *Cynara cardunculus*. Institut des régions arides, *Revue des régions arides*, Tunisie, 344 p.

**Femenia, A., Sánchez, E. S., Simal, S., & Rosselló, C. (1999).** Compositional features of polysaccharides from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. *Carbohydrate polymers*, 39(2), 109-117.

**Femenia, A., Waldron, K. W., Robertson, J. A., & Selvendran, R. R. (1999).** Compositional and structural modification of the cell wall of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var botrytis) during tissue development and plant maturation. *Carbohydrate polymers*, 39(2), 101-108.

**Fontaine, É. (2007).** Radicaux libres et vieillissement. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42(2), 110-115.

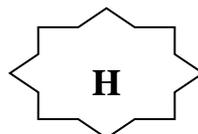


**Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4), 1220-1234.

**Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4), 1220-1234.

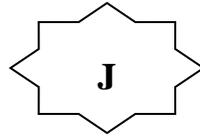
**Grindlay, D., & Reynolds, T. (1986).** The *Aloe vera* phenomenon: a review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *Journal of ethnopharmacology*, 16(2-3), 117-151.

**Guillén, F., Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Valero, D., Serrano, M., Castillo, S., & Martínez-Romero, D. (2013).** *Aloe arborescens* and *Aloe vera* gels as coatings in delaying postharvest ripening in peach and plum fruit. *Postharvest biology and technology*, 83, 54-57.



**Hagerman, A. E. (1988).** Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of chemical Ecology*, 14(2), 453-461.

**Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.

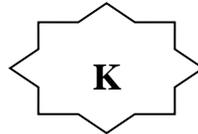


**Ja, D. (1997).** *Green Pharmacy*. Emmaus PA: Rodale Books, 507.

**Javed, S. (2014).** *Aloe vera* gel in food, health products, and cosmetics industry. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 41, pp. 261-285). Elsevier.

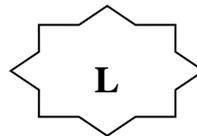
**Jean, B. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier.

**Joseph, B., & Raj, S. J. (2010).** Pharmacognostic and phytochemical properties of *Aloe vera* linn an overview. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 4(2), 106-10.



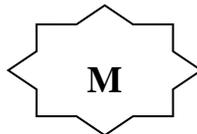
**Kolesnikov, M. P., & Gins, V. K. (2001).** Phenolic substances in medicinal plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 37(4), 392-399.

**Koppenol, W. H., Moreno, J. J., Pryor, W. A., Ischiropoulos, H., & Beckman, J. S. (1992).** Peroxynitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide. *Chemical research in toxicology*, 5(6), 834-842.



**Leverve, X. (2009).** Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224. doi:10.1016/j.cnd.2009.09.001

**Luta, G., & McAnalley, B. (2005).** *Aloe vera*: chemical composition and methods used to determine its presence in commercial products. *GlycoScience & Nutrition*, 6, 1-12.



**Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35.

**Manvitha, K., & Bidya, B. (2014).** *Aloe vera: a wonder plant its history, cultivation and medicinal uses.* Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2(5), 85-88.

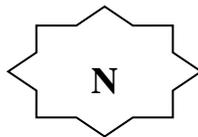
**Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. M/S: médecine sciences, 20(4), 458-463.

**Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., ... & Nabavi, S. M. (2016).** Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. Food chemistry, 210, 402-414.

**Mehta, N. Rathour, M., Malav, O. P., Kumar, P., & Chatli, M. K., (2017).** Standardization of protocols for extraction of aloe vera and cinnamon bark extracts. *Journal of Animal Research*, 7(1), 175-182

**Milée E, Bai H-W , Siklee S , Hyun Hong S , Cho J-Y , Chung B (2012).** Gamma irradiation improves the antioxidant activity of *Aloe vera* (*Aloe Barbadensis* miller) extracts. Radiation Physics and Chemistry 81 :1029-1031.

**Miranda, K. M., Nims, R. W., Thomas, D. D., Espey, M. G., Citrin, D., Bartberger, M. D., ... & Wink, D. A. (2003).** Comparison of the reactivity of nitric oxide and nitroxyl with heme proteins: a chemical discussion of the differential biological effects of these redox related products of NOS. Journal of inorganic biochemistry, 93(1-2), 52-60.



**Nacz, M., Grant, S., Zadernowski, R., & Barre, E. (2006).** Protein precipitating capacity of phenolics of wild blueberry leaves and fruits. Food Chemistry, 96(4), 640-647.

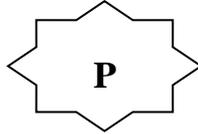
**Nathalie, N. G. (2011).** Compléments alimentaires : les plantes, vitamines et minéraux la base des compléments alimentaires. p: 12.

**Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American journal of clinical nutrition, 74(4), 418-425.

**Nkhili, E. Z. (2009, January).** Polyphénols de l'alimentation: extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Avignon.

**Nakatani, K., & Delaire, J. A. (2000).** Linear and nonlinear optical properties of photochromic molecules and materials. *Chemical Reviews*, 100(5), 1817-1846.

**Northway, R. B. (1975).** Experimental use of *Aloe vera* extract in clinical practice. *Veterinary medicine, small animal clinician: VM, SAC*, 70(1), 89.



**Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007).** Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological reviews*, 87(1), 315-424.

**Paganga, G., Miller, N., & Rice-Evans, C. A. (1999).** The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute?. *Free radical research*, 30(2), 153-162.

**Pal, K., Eastwood, S. V., Michie, S., Farmer, A. J., Barnard, M. L., Peacock, R., ... & Murray, E. (2013).** Computer-based diabetes self-management interventions for adults with type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3).

**Payne III, J. M. (1969).** Tissue Response to *Aloe Vera* Gel Following Periodontial Surgery.

**Pittman, J. C. (1992).** Immune enhancing effects of Aloe. *Health conscious*, 13(1), 28-30.



**Ramachandra, C. T., & Rao, P. S. (2008).** Processing of *Aloe vera* leaf gel: a review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3(2), 502-510.

**Rawel, H. M., Meidtner, K., & Kroll, J. (2005).** Binding of selected phenolic compounds to proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4228-4235.

**Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon... Dunod.

**Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.

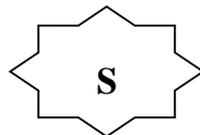
**Rice-Evans, C., Halliwell, B., Lunt, G. G., & Rice-Evans, C. (1995, November).** Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants?. In *Biochemical Society Symposia* (Vol. 61, pp. 103-116). Portland Press.

**Richard, T., Temsamani, H., Delaunay, J. C., Krisa, S., & Mérillon, J. M. (2014).** Stilbènes: de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 173-180.

**Richard, T., Temsamani, H., Delaunay, J. C., Krisa, S., & Mérillon, J. M. (2014).** Stilbènes: de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 173-180.

**Ro, J. Y., Lee, B. C., Kim, J. Y., Chung, Y. J., Chung, M. H., Lee, S. K., ... & Park, Y. I. (2000).** Inhibitory mechanism of Aloe single component (Alprogen) on mediator release in guinea pig lung mast cells activated with specific antigen-antibody reactions. *Journal of Pharmacology and experimental therapeutics*, 292(1), 114-121.

**Rodríguez, E. R., Martín, J. D., & Romero, C. D. (2010).** *Aloe vera* as a functional ingredient in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(4), 305-326.



**Sahu, A., Choi, W. I., Lee, J. H., & Tae, G. (2013).** Graphene oxide mediated delivery of methylene blue for combined photodynamic and photothermal therapy. *Biomaterials*, 34(26), 6239-6248.

**Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Sendón, R., & Sanches-Silva, A. (2017).** *Aloe vera*: Ancient knowledge with new frontiers. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 94–102. doi:10.1016/j.tifs.2016.12.005.

**Santacruz-Vázquez, V., Santacruz-Vázquez, C., & Laguna Cortés, J. O. (2015).** Physical characterization of freeze-dried foam prepared from *Aloe vera* gel and guar gum. *Vitae*, 22(2), 75-86.

**Schmelzer, G. H., & Gurib-Fakim, A. (2008).** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 11 (1): Plantes médicinales. Schmelzer GH & Gurib-Fakim A, Pay-Bas.

**Selena, C. (2008).** Mes petites soupes magiques : Fraîches, désaltérantes, ces soupes « nouvelle génération » sauront égayer déjeuners ou dîner d'une touche originale et colorée. Leduc.s Éditions, p32.

**Shahidi F, Zhong Y (2010)** Nouveaux antioxydants dans la préservation de la qualité des aliments et la promotion de la santé. Eur J Lipid Sci Technol 112:930– 940.

**Shelton, R. M. (1991).** *Aloe vera*. Int J Dermatol, 30(10), 679-83.

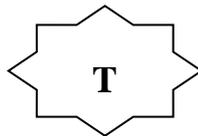
**Shelton, R. M. (1991).** *Aloe vera*: its chemical and therapeutic properties. International journal of dermatology, 30(10), 679-683.

**Sims, R. M., & Zimmerman, E. R. (1971).** The effect of Aloe vera on mycotic organisms (fungi). Aloe vera of America Archives, Stabilised Aloe vera, 241-42.

**Speckmann, B., Steinbrenner, H., Grune, T., & Klotz, L. O. (2016).** Peroxynitrite: From interception to signaling. Archives of biochemistry and biophysics, 595, 153-160.

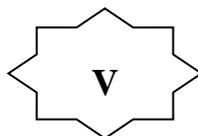
**Stamler, J. S., Singel, D. J., & Loscalzo, J. (1992).** Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. Science, 258(5090), 1898-1902.

**Swain T, Hillis WE (1959)** The phenolics constituents of *Prunus domestica* -I- the quantitative analysis of phenolics constituents. J Sci Food Agric 10: 63–81



**Tackholm V. (1974).** Student's Flora of Egypt, 2nd edn, Cairo University, Cooperative Printing Company, Beirut, 31, 313, 868.

**Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. Molecules, 12(3), 484-496.



**Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

**Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.



**Watson L. et Dallwitz M.J. (1992)** onwards. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Version: 10th April 2008.

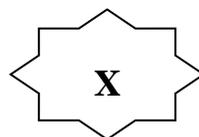
**West, D. P., & Zhu, Y. F. (2003).** Evaluation of *Aloe vera* gel gloves in the treatment of dry skin associated with occupational exposure. *American Journal of Infection Control*, 31(1), 40-42.

**West, D. P., & Zhu, Y. F. (2003).** Evaluation of *Aloe vera* gel gloves in the treatment of dry skin associated with occupational exposure. *American Journal of Infection Control*, 31(1), 40-42.

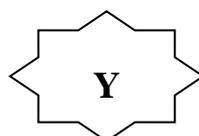
**Wolfgang, W. (1995).** Healing with *Aloe*. *Ennsthaler*, 44(1), 3-5.

**Wollgast, J., & Anklam, E. (2000).** Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.

**World Health Organization. (1999).** WHO monographs on selected medicinal plants (Vol. 2). World Health Organization.



**Xu, G. H., Ryoo, I. J., Kim, Y. H., Choo, S. J., & Yoo, I. D. (2009).** Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of *Thuja orientalis*. *Archives of pharmacal research*, 32(2), 275-282.



**Yagi, A., Machii, K., Nishimura, H., Shida, T., & Nishioka, I. (1985).** Effect of *Aloe* lectin on deoxyribonucleic acid synthesis in baby hamster kidney cells. *Experientia*, 41(5), 669-671.

**Yoshikawa, K., Inagaki, K., Terashita, T., Shishiyama, J., Kuo, S., & Shankel, D. M. (1996).** Antimutagenic activity of extracts from Japanese eggplant. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 371(1-2), 65-71.