



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

**Evaluation de l'activité antimicrobienne et anti-oxydant de cinq extraits
des feuilles de *beta vulgaris***

Présenté et soutenu par :

Le : 20/09/2020

BOULSANE Doua

BOULMAALI Rania

SAHRAOUI Roumaissa

Jury d'évaluation :

Président du jury : ABEDLAZIZ Wided

Maitre de conférences classe B UFM Constantine

Rapporteur : BOULAHROUF Khaled

Maitre de conférences classe B UFM Constantine

Examineurs : MEZIANI Meriem

Maitre-assistant classe A- UFM Constantine

*Année universitaire
2019- 2020*

Remerciement

*Nous remercions **DIEU** tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur **Mr. Boulahrouf Khaled**, Maître de conférences qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous remercions également **Mlle. Abedlaziz Wided**, Maître de conférences classe B à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Constantine d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions **Mlle. Meziani Meriem**, Maître de conférences classe A à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Constantine d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.*

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents

En reconnaissance des sacrifices qu'ils se sont imposés pour ma réussite.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde affection

A mon petit frère et mes chères sœurs

A toute ma famille qui m'a toujours soutenu

A mes collègues Rania et Romeissa qui m'ont aidé à achever ce mémoire

A toutes mes chères amies

Mes enseignants et mes amis de l'étude

Tous ceux que j'aime dans le monde

*Une spéciale dédicace à mon prof **Mr. Kebaili Fethi** qui nous a aidés à mieux comprendre notre thème.*

Un Grand Merci.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chères parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur, de le leur amour inestimable

Leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

C'est à eux que je suis arrivé la aujourd'hui. Que dieu les protège et leur procure bonne santé et long vie.

Et sans aucun doute, mon cher frère Akram, et ma grand-mère bien-aimée qui me suivent avec ses prières.

A tous ma famille de petits au vieux,

A mes copines et mes collègues au travail Rania et Doua.

A tous ceux qui ont contribué de près ou loin à la réalisation de ce mémoire.

*Je remercie énormément mon prof **Mr. Kebaili Fethi** qui nous a aidées à réaliser notre thème.*

Je vous dis merci.

Dédicace

Je dédie humblement ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

A ma tendre mère

A mon père

A ma sœur Riham

A mon frère Nassim

A ma grand-mère et à mon grand père

*A mon prof **Kebaili Fethi** qui m'a aidé beaucoup à l'achèvement de ce travail*

A tous mes amis

Et à tous ceux qui m'ont aidé même avec un mot

Un grand merci pour vos encouragements

Et votre patience

ملخص

الهدف من الأعمال المقدمة في هذه الدراسة هو تعزيز وتقييم النشاط المضاد للمكروبات لنبات *Beta vulgaris*. تم تجهيز عدة مستخلصات خام من أجزاء هوائية (أوراق) بطريقة الاستخراج صلبة-سائلة (Soxhlet) باستعمال مذيبات ذات اقطاب مختلفة (Eau، N-butanol، Acétate d'éthyle، Chloroforme،N-hexane). كما تم فحص المستخلصات لمعرفة نشاطها المحتمل كمضاد للميكروبات، في المختبر، مقابل خمس سلالات من البكتيريا المسببة للأمراض وخميرة واحدة: *Bacillus pumilus* ATCC® 14884، *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538 ، *Salmonella* ، *Escherichia coli* ATCC® 8739، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 9027 *Candida albicans* ATCC® 10231، *typhimurium* ATCC®14028 . الطرق المستخدمة هي: طريقة الانتشار على gélose Mueller-Hinton بواسطة قرص صلب وطريقة البئر. أظهرت النتائج أن هذه المستخلصات لها نشاط مضاد للجراثيم، والذي قد يكون بسبب غناها بالجزئيات الطبيعية النشطة بيولوجيا. تفاعلت جميع المستخلصات بشكل إيجابي على واحدة على الأقل من السلالات الميكروبية التي تم اختبارها، حيث سجل مستخلص hexanique نشاط قوي مع طيف مهم من مضادات الميكروبات، وحتى بجرعات أقل ضد البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية، مقارنة بباقي المستخلصات. ومنه وفقاً لعملنا، فإننا نوصي بطريقة نشر القرص من بين أفضل الطرق المطبقة. يعتبر نوع *Beta vulgaris* من الأنواع الغنية بالمواد النشطة بيولوجيا بما في ذلك الفيتامينات. التجربة التي أجريت في العمل الحالي، سيتم توظيفها باستمرار في الدورات العملية المستقبلية.

الكلمات المفتاحية : نشاط مضاد للميكروبات، استخلاص، مذيبات، نبات طبي، *Beta vulgaris*.

Résumé

L'objectif des travaux présentés dans cette étude est la valorisation et l'évaluation de l'activité antimicrobienne du légume *beta vulgaris*. Des extraits bruts des parties aériennes (feuilles) ont été préparés par la méthode d'extraction solide-liquide (Soxhlet), en utilisant des solvants de diverses polarités (N-hexane, Chloroforme, Acétate d'éthyle, N-butanol, Eau). Les extraits ont été soumis à un criblage pour leur activité antimicrobienne possible in vitro, contre cinq souches de bactéries pathogènes et une levure: *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, *Bacillus pumilus* ATCC® 14884, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 9027, *Escherichia coli* ATCC® 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC®14028, *Candida albicans* ATCC® 10231. Les méthodes employées sont : la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton à partir d'un disque solide et la méthode des puits. Les résultats ont révélé que ces extraits ont une activité antibactérienne, pouvant être due à leur richesse en molécules naturelles bioactives. Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées, l'extrait hexanique a marqué une forte activité avec un spectre antimicrobien important et même à des doses plus faibles vis à vis des bactéries résistantes aux antibiotiques, comparant aux autres extraits. Selon notre travail, nous recommandons la méthode de diffusion de disque parmi les meilleures méthodes appliquées. L'espèce de *beta vulgaris* est l'une des espèces riches en substances bioactives comprenant notamment des vitamines. L'expérience menée dans le présent travail servira de manière conséquente dans le futur parcours scientifique.

Mots clés : activité antimicrobienne, extraction, solvants, plante médicinale, *beta vulgaris*.

Abstract

The objective of the work presented in this study is to enhance and evaluate the antimicrobial activity of the *beta vulgaris* vegetable. Raw extracts of the aerial parts (leaves) were prepared by the solid-liquid extraction method (Soxhlet), using solvents of various polarities (N-hexane, Chloroform, Ethyl acetate, N-butanol, Water). The extracts were screened for possible antimicrobial activity in vitro, against five strains of pathogenic bacteria and one yeast : *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, *Bacillus pumilus* ATCC® 14884, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 9027, *Escherichia coli* ATCC® 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC®14028, *Candida albicans* ATCC® 10231. The methods used are: the Method of Spreading on Agar Mueller- Hinton from a solid disk and the well method. The results revealed that these extracts have an antibacterial activity that may be due to their richness in natural bioactive molecules. All extracts reacted positively to at least one of the microbial strains tested, the hexanic extract showed a strong activity with a large antimicrobial spectrum and even with lower doses of antibiotic-resistant bacteria, as compared to other extracts. According to our work, we recommend the disk distribution method among the best methods applied. The species of *beta vulgaris* is a species rich in bioactive substances, including vitamins. The experiment conducted in this work will consistently serve in future scientific works.

Keywords : antimicrobial activity, extraction, solvents, medicinal plant, *beta vulgaris*.

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

/ : Par

µg/ml : Microgramme par millilitre

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATP : Adénosine triphosphate

CHCl₃ : Chloroforme

DO: Densité optique

ERO: Espèces réactives oxygénées

EX : Extraits

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H : hydrogène

C : carbone

H⁺ Proton

O₂ : Oxygène

VIH : virus de l'immunodéficience humain

EMA: Agence européenne des médicaments

EMEA : Europe Moyen-Orient et Afrique

MABP: Tension artérielle moyenne

Zip : zones

RL : radical libre

SO : stress oxydatif

ERO : espèce réactive de l'oxygène

UV : Ultraviolet

DA : dalton

VIT : vitamine

SI : système international

Liste des abréviations

Pa : pascal

S : seconde

Cm : centimètre

Cm²: centimètre carré

Cm³ : centimètre cube

m³ : mètre cube

G : gramme

Kg : kilogramme

MT : médecine traditionnelle

G⁺ : gram positif

G⁻ : gram négatif

OMS : organisation mondiale de santé

Ifn : interféron

Y: gamma

[] : concentration

CMI : la concentration minimale inhibitrice

CMB : la concentration minimale bactéricide

MDR : multi-drug résistance

Sub sp : sous espèce

ATPase : adénosine triphosphatase

PH : le potentiel hydrogène

AGG : arginine

CGS : centimètre gramme second

BLSE : les bêta-lactamases à spectre étendu

S : Staphylococcus

P : Pseudomonas

B :

Bacillus

Liste des abréviations

S : Salmonella

NaOH : hydroxyde de sodium

KOH : hydroxyde de potassium

NaCO₃ : carbonate de sodium

H₂O : l'eau

µg : microgramme

µl : microlitre

H : heure

Mg : milligramme

ml : millilitre

mm : millimètre

N° : numéro

Nm : nanomètre

DMSO : Le diméthylsulfoxyde

Ctx : céfotaxime

Gen : gentamicine

NA : acide nalidixique

K : kanamycine

DCM : dichlorométhane

Liste des figures

Figure 01 : répartition géographique des ZIP

Figure 02 : vue photographique des racines de *Beta vulgaris*

Figure 03 : vue photographique des tiges feuillées de *Beta vulgaris*

Figure 04 : photo représentative du légume « betterave »

Figure 05 : carte de distribution de *Beta vulgaris* dans le monde

Figure 06 : structure générale de l'acide hydroxybenzoïques

Figure 07 : structure générale de l'acide hydro cinnamique

Figure 08 : structure de resvératrol

Figure 09 : structure chimique de lignane

Figure 10 : structure chimique de la coumarine

Figure 11 : structure chimique et système de numérotation du squelette du xanthone

Figure 12 : structure chimique des flavonoïdes

Figure 13 : structure moléculaire des six flavonoïdes majeurs

Figure 14 : structure d'acide gallique

Figure 15 : dessin illustratif du Soxhlet

Figure 16 : extraction par Soxhlet

Figure 17 : rotavapor

Figure 18 : photo réelle de sensibilité de deux souches aux disques antibiotiques testés.

Figure 19 : photo réelle de sensibilité des trois souches aux disques de n-hexane.

Figure 20 : photo réelle de sensibilité de *B. pumilus* aux disques de chloroforme

Figure 21 : photo réelle de sensibilité de *S. aureus* à l'acétate d'éthyle par méthode des puits

Liste des tableaux

Tableau 1 : les différentes concentrations des dilutions de chaque extrait.

Tableau 2 : tableau illustratif des diamètres critiques des disques antibiotiques testés.

Tableau 3 : tableau illustratif de résistance/sensibilité des souches aux disques antimotiques.

Tableau 4 : tableau illustratif de résistance/sensibilité des souches aux disques des extraits.

Tableau 5 : tableau illustratif de sensibilité de *S. aureus* à l'acétate d'éthyle par méthode des puits

Table de matière

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : les plantes médicinales

1. Généralité sur la phytothérapie.....	5
2. Les plantes médicinales	5
2.1 Description des plantes médicinales.....	5
2.2 Les plantes médicinales en Algérie.....	6
2.3 Les métabolites secondaires des plantes médicinales	7
2.4 Les critères de sélection des plantes.....	8
2.4.1 Les plantes en médecine traditionnelles.....	8
2.4.2 L'origine géographique	8
2.4.3 Classification botanique et chimiotaxonomique.....	8
2.4.4 Période de la récolte	9
2.4.5 Les apports de la littérature.....	9
2.5 Les avantages de la plante médicinale.....	9
2.6 Les inconvénients de la plante médicinale.....	10
2.6.1 Risque lié à une erreur de « posologie »	10
2.6.2 Les risques liés à la perte du savoir	10
2.6.3 Risque lié à une erreur du tisanneur	10
2.6.4 Risque lié au corps de l'homme	11
2.6.5 Problèmes lié à la pharmacopée	11
3. Limite de la phytothérapie	11
4. Étude ethnobotanique de la plante utilisée	11
4.1 Description botanique	12
4.2 Taxonomie et systématique.....	13
4.3 Classification.....	14
4.4 La composition chimique.....	..14

4.5	Habitat et répartition géographique.....	14
4.6	Utilisation en médecine traditionnelle.....	16
4.7	Données pharmacologiques et biologiques.....	16
4.8	Données commerciales.....	17
4.9	Données toxicologiques.....	18

Chapitre 2: les antioxydants des plantes médicinales

1.	Définition des radicaux libres.....	20
1.1	Dommages liés aux radicaux libres	20
2.	Définition du stress oxydatif	20
2.1	Origine du stress oxydatif.....	21
2.1.1	Origine exogène	21
2.1.2	Origine endogène.....	21
3.	Généralité sur les antioxydants.....	21
4.	Les antioxydants ayant des propriétés antimicrobiennes.....	22
4.1	Les polyphénols.....	22
4.1.1	L'histoire des Polyphénols	22
4.1.2	Généralité sur Les polyphénols.....	22
4.1.3	Structure des composés polyphénoliques et leur Classification.....	23
4.1.3.1	Composés polyphénoliques non flavonoïdes.....	24
4.1.3.1.1	Les acides phénoliques.....	24
4.1.3.1.2	Les stilbènes.....	25
4.1.3.1.3	Les lignanes et les lignines	26
4.1.3.1.4	Les coumarines.....	27
4.1.3.1.5	Les xanthones.....	28
4.1.3.2	Composés polyphénoliques flavonoïdes.....	29
4.1.3.2.1	Les flavones.....	31
4.1.3.2.2	Les flavonols	31
4.1.3.2.3	Les flavanones.....	32
4.1.3.2.4	Les flavanols	32
4.1.3.2.5	Les isoflavones.....	33
4.1.3.2.6	Les anthocyanines.....	33
4.2	Les tanins.....	33
4.2.1	Les Tanins hydrolysables.....	34

4.2.1.1	Les gallotannins	35
4.2.1.2	Les ellagitannins	35
4.2.2	Tanins condensés	35
4.3	Les vitamines.....	36
4.3.1	Vitamine A.....	36
4.3.2	Vitamine B6.....	37
4.3.3	Vitamine C.....	37
4.3.4	Vitamine D.....	38
5.	Les propriétés physico-chimiques des antioxydants	38
5.1	Les phénols.....	38
5.1.1	Les acides phénoliques.....	39
5.1.2	Les flavonoïdes.....	39
5.2	Les tanins.....	39
5.3	Les vitamines	39
6.	L'intérêt antimicrobien des antioxydants	40
7.	Les effets des antioxydants sur la santé	42
7.1	Les effets bénéfiques des antioxydants sur la santé	42
7.2	Les effets néfastes des antioxydants sur la santé.....	42
8.	Les solvants organique.....	42
8.1	Les propriétés physicochimiques.....	43
8.2	Les principales familles.....	44
8.3	La polarité des solvants.....	44
8.4	L'influence des solvants sur l'extraction des composés phénoliques	45
8.4.1	La constante d'acidité.....	45

Chapitre 3 : l'activité antimicrobienne et les antibiotiques

1.	Activité antibactérienne.....	47
1.1	Généralité sur les bactéries.....	47
1.2	Activité antibactérienne.....	47
1.3	Les critères de sélection des bactéries	48
1.4	Mécanisme d'action antimicrobien des composés phénoliques.....	48
1.4.1	Interaction dans la membrane bactérienne	48
1.4.2	Pénétration des composés phénoliques jusqu'au cytoplasme.....	49
1.4.3	Acidification du cytoplasme	50
1.4.4	Perturbation du métabolisme.....	50

2. Notion du bactériostatique et du bactéricide.....	50
2.1 Notion bactéricide.....	50
2.2 Notion bactériostatique	50
3. Activité antifongique.....	51
3.1 Généralité sur les champignons	51
3.2 Activité	52
4. Les antibiotiques naturels	53
5. Notion de CMI	53

Partie expérimentale

Chapitre 1 : matériels et méthodes

Introduction.....	56
1. Le matériel végétal.....	56
2. Extraction.....	56
2.1 Extraction par Soxhlet	57
2.2 Les avantages et les inconvénients du Soxhlet.....	58
3. Préparation de l'extrait brut	58
4. Détermination de l'activité antibactérienne.....	60
4.1 Stérilisation du matériel	60
4.2 Préparation des solutions des extraits	60
4.3 Les souches microbiennes testées	61
4.3.1 Repiquage des souches bactériennes.....	62
4.4 Préparation de l'inoculum	62
4.5 Préparation des milieux de culture	62
4.6 Ensemencement	62
5. Essais antibactériens	63
5.1 La méthode de diffusion des disques	63
5.1.1 Test de sensibilité "antibiogramme comparatif"	63
5.1.2 Méthode de diffusion des disques des extraits (antibio aromato-gramme)	63
5.2 Méthode des puits.	64

Chapitre 2 : discussion et résultats

1. Résultats.....	66
2. Discussion.....	70

3. Conclusion.....	73
Référence bibliographique.....	75

Introduction

Introduction

Il est bien connu dans les années précédentes et jusqu'à l'heure actuelle, que la phytothérapie possède un impact remarquable et bénéfique sur la santé humaine ainsi qu'animale.

Depuis très longtemps, les gens du monde entier ont utilisé les plantes comme un remède naturel très efficace pour guérir plusieurs maladies. Malgré le développement de la médecine au cours des années suivantes, cette tradition s'est largement répandue d'un pays à un autre et de génération en génération jusqu'au nos jours. [1]

En effet, l'importance des plantes médicinales réside en leur possession de nombreuses substances ayant des fins thérapeutiques curatives et préventives. [2] De plus, il est nécessaire de savoir qu'une grande partie des médicaments que soit chimiques ou allopathiques tirent leur origine des plantes.

Au Moyen-âge de nombreux instituts catholiques ont participé au développement des plantes médicinales, dont une célèbre religieuse allemande qui s'appelle Hildegarde Von Bingen n'a pas cessé de découvrir ce genre de plantes qui sont classées aujourd'hui parmi les plantes les plus utilisées dans le monde. [3]

En Algérie, l'exploitation des plantes en médecine traditionnelle est très connue dans l'antiquité, notamment dans les régions pauvres à cause du manque de médecins. [1]

Les plantes médicinales sont devenues de plus en plus essentielles dans notre vie quotidienne, et leur utilisation est devenue l'une des premières solutions dont les gens y recourent.

Les molécules naturelles sont l'une des solutions essentielles pour la lutte contre la résistance bactérienne, qui est devenu aujourd'hui l'un des plus grands problèmes menaçant principalement la santé public. À côté de tous les efforts faits par les chercheurs, nous avons présenté ce travail contribué à la recherche des ressources remplaçable, qui contiennent des antibiotiques naturels, y compris les vitamines et les antioxydants, qui sont aussi importants pour le corps humain.

Pour cela, nous avons choisi les feuilles de *beta vulgaris* dans cette recherche, en utilisant plusieurs techniques pour extraire ces produits, et savoir leur efficacité sur un groupe des microorganismes qui ont été choisis avec soin.

La recherche a été faite au sein du laboratoire de génie microbiologique et applications de l'université 1 Les Frères Mentouri de Constantine.

L'objectif de cette étude est d'évaluer, *in vitro*, l'activité antimicrobienne et anti-oxydante de cinq extraits des feuilles de *beta vulgaris*. La stratégie de ce travail repose sur les axes suivants :

- Préparation des cinq extraits (n-hexane, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et l'eau) par la technique extraction solide-liquide Soxhlet.
- Recherche, *in vitro*, des potentialités antibactériennes et antifongiques des extraits préparés.
- Étude, *in vitro*, de l'activité anti-oxydante des extraits étudiés.
- Analyse phytochimique des extraits préalablement préparés.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : les plantes médicinales

1. Généralité sur la phytothérapie

Le mot phytothérapie se constitue étymologiquement de deux racines grecques « photon » et « thérapie », qui signifient respectivement « plante » et « traitement » c'est-à-dire « la thérapie par les plantes ». [1]

La phytothérapie est une pratique médicale, basée sur la science qui repose sur une appréciation expérimentale des herbes médicinales. Elle trouve son origine dans la connaissance traditionnelle et l'utilisation populaire. [2] Donc, c'est une thérapie destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen des plantes, ou une partie de ces plantes. Ce traitement est toujours largement utilisé dans certains pays qui perpétuent les âges de leurs ancêtres. [3] De ce fait, il existe de nombreux essais et études pharmacologiques de préparations phyto-thérapeutiques spécifiques. Certains pays, ont autorisé l'utilisation de ces produits comme médicaments, est, ont les considérés comme une forme de médecine synergique et complémentaire. [2] Ces savoirs empiriques sont ensuite transformés en analyse botanique pour déterminer par quel mécanisme d'action les plantes peuvent agir, et quelles étaient les molécules ou les constituants responsables de cet effet thérapeutique.

Bien que, l'usage de ces produits ait diminué avec le développement de l'industrie pharmaceutique, et le changement de paradigme dans la construction des connaissances en santé, l'augmentation des prix des soins médicaux privés, et médicaments fabriqués font évoluer ces utilisations au cours des dernières décennies. [4]

L'assistance et la tradition d'utiliser les plantes comme complément thérapeutique est la tendance actuelle, qui prouve qu'un produit phytothérapeutique peut remplacer un traitement allopathique, en raison de ses effets pharmacologiques similaires, et qui ont souvent une vision simple de la prise en charge thérapeutique du patient. [5] On peut donc dire que la phytothérapie est le cœur de la pharmacie.

2. Les plantes médicinales

2.1 Description des plantes médicinales

Lorsqu'une plante possède, au niveau de ses parties (feuille, racine, fleurs, tronc, etc.), des propriétés thérapeutiques afin de soigner l'homme naturellement, elle se classe selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), parmi les plantes médicinales. [6]

Une plante médicinale, est un végétal qui comporte des substances chimiques, ayant des fonctions biologiques. Elle fait partie des thérapies naturelles. Leurs substances chimiques

appelées aussi des principes actifs jouent le même rôle des médicaments, et servent dans différents domaines, tels que : la production des produits pharmaceutiques, crèmes et autres produits cosmétiques. [7] [8] Ce qui prouve l'importance de ces ressources naturelles, et renouvelables dans le monde.

Autrement dit, malgré le développement médical, la médecine à base de plantes reste toujours un traitement curatif et préventif utilisé par l'être humain.

2.2 Les plantes médicinales en Algérie

L'étude de la phytothérapie en Algérie est également avantageuse. L'Algérie est le plus grand pays d'Afrique, dont sa superficie est estimée de 2 381 741 km². Il se caractérise par sa diversité et sa richesse en plantes médicinales et aromatiques. [9] Ce patrimoine est dû au climat de ce pays qui est très diversifié, et très bénéfique (méditerranéen, aride). Les plantes médicinales poussent principalement dans les zones côtières, montagneuses et même sahariennes. **(Figure 01)** [10]

Depuis longtemps, nos ancêtres utilisaient les plantes médicinales, comme un soin, pour traiter plusieurs maladies sans connaître exactement leurs bienfaits, en raison du manque de médecins et de médicaments en particulier dans les régions rurales. Avec le temps, le peuple algérien montre que cette tradition qui date de milles ans, n'a pas cessé de croître d'une génération à l'autre. Jusqu'à l'heure actuelle, les médecins et biologistes recourent toujours à découvrir et à bien connaître ces plantes, qui servent dans différents domaines notamment la phytothérapie ainsi que la pharmacologie. [11]

Dès la colonisation française jusqu'à l'indépendance de l'Algérie, les botanistes ont découvert un grand nombre d'espèces médicinales. En 1999, l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques. [8] Selon l'estimation de M.Mahmoudi, seulement 600 espèces sur 3000 sont exploitées en Algérie. [12] Un nombre assez faible par rapport à la richesse algérienne.

L'étude de Makkadem a prouvé aussi que cette flore a connu une disparition conséquente à cause de plusieurs facteurs, mentionnés comme suit : la sécheresse, les incendies et les défrichements de forêts, les herboristes ambulants non agréés, le surpâturage, l'utilisation des herbicides et pesticides, etc. [13]

Il est important de savoir, que la médecine traditionnelle demeure encore importante et utile en Algérie. En effet, elle englobe 70% des plantes médicinales les plus utilisées dans le marché mondial. [14] C'est pour cette raison, l'Algérie doit exploiter ses vertus, pour leur

production et leur commercialisation, en respectant les règles de récoltes, et en fournissant les conditions favorables pour un meilleur rendement.



Figure 01 : répartition géographique des ZIP [9]

2.3 Les métabolites secondaires des plantes médicinales

Les plantes consistent à une variété de substances naturelles, renouvelables, riches et complexes, difficiles à être reformulées dans un laboratoire. Deux types de métabolites dont la plante synthétise, les métabolites primaires et les métabolites secondaires. [15] Les composés primaires comprenant les protéines, les glucides, les lipides, les acides aminés, et les hydrates de carbones, ont des fonctions physiologiques où ils s'intègrent forcément dans la croissance et le développement des plantes, donc ils sont indispensables à leur survie. En revanche, les métabolites secondaires ne rentrent pas directement aux processus précédents, ils participent cependant dans l'adaptation de ces derniers à leur environnement. [16]

Chaque plante regroupe une centaine de métabolites secondaires spécifiques, ces métabolites représentent de nombreuses fonctions, comme la protection contre l'attaque des pathogènes et des herbivores par la sécrétion des toxines, l'attraction des pollinisateurs. Ils sont des molécules d'intérêt agronomique, cosmétique, mais aussi ils s'impliquent aux usages pharmaceutiques et thérapeutiques, [17] afin d'affronter diverses maladies.

Outre, les biologistes s'intéressent particulièrement aux molécules secondaires pour étudier l'activité médicinale des plantes. [18]

2.4 Les critères de sélection des plantes

La construction d'une recherche réussie à des véritables fondements s'effectue avec des étapes et des critères à suivre pour le bon choix de plantes qui convient au champ de la recherche avec des précautions afin de ne pas tomber sur une plante toxique.

2.4.1 Les plantes en médecine traditionnelle

Depuis la préhistoire, l'homme pense de trouver des solutions pour traiter les blessures et soulager les maux à partir de son environnement et parmi lesquelles les plantes médicinales. [19] Les remèdes à base de plante, ou les différents médicaments à base de plantes médicinales connaissent un développement dans les années précédentes. [20]

De notre part toutes ces données attirent notre attention pour choisir la plante étudiée afin de participer aux grands travaux qui combattent la résistance bactérienne.

2.4.2 L'origine géographique

L'Algérie est le plus grand pays riverain de la méditerranée. Il est célèbre par non seulement sa richesse en plantes médicinales et aromatiques, mais aussi leurs diverses utilisations populaires dans toutes les régions du pays (particulièrement rurales). Ces plantes sont réellement abondantes, et dispersées géographiquement avec des rendements faibles. Leur contrôle est difficile, et leur exploitation est relativement insuffisante à couvrir les besoins nationaux de la médecine, de la pharmacie, et de l'herboristerie.

Ces plantes sont organisées essentiellement dans des zones importantes pour les plantes (ZIP). Une ZIP est un « site naturel ou semi-naturel présentant une richesse botanique exceptionnelle et/ou une composition remarquable de plantes. » Ces ZIP se localisent en territoires forestiers, deux en particulier en zones humides et une dernière en zone littorale. [9]

Le Sahara africain, en particulier le Sahara algérien présente une faible abondance et endémisme en espèces. Mais certaines espèces surviennent en forme d'adaptation extraordinaire. [21]

2.4.3 Classification botanique et chimiotaxonomique

Le but principal de la chimio-taxonomie est d'élaborer la corrélation entre les métabolites secondaires de la plante "composition chimique", et la classification botanique basée sur les caractères morphologiques. [22] Les jardins familiaux des plantes médicinales qui étaient possible d'utiliser l'une de leurs espèces sont susceptibles de donner les mêmes signes thérapeutiques, pharmaceutiques, et antimicrobiens. [23]

Les caractères morphologiques de la plante, ou leur classification botanique, sont l'étape primordiale pour nous guider à sélectionner la partie ou la plante cible pour notre étude.

L'enchaînement à ces étapes est très probable de donner des nouvelles, ou des molécules similaires à celles qui ont déjà détecté leur efficacité.

2.4.4 Période de la récolte

L'exploitation des plantes en phytothérapie et/ou la pharmacopée est nécessaire. Il est obligatoire de suivre quelques étapes de maturation de la plante sélectionnée. Les rapports scientifiques précisent les notions chrono-biologiques des moments optimaux de la récolte qui permettent d'obtenir une meilleure qualité de la matière première qui sont :

- ❖ Les racines pendant le repos végétatif (automne, hiver).
- ❖ Les parties aériennes, généralement au moment de la floraison.
- ❖ Les feuilles justes avant la floraison. [24]

2.4.5 Les apports de la littérature

Dans le cadre de recherche professionnel, pour trouver des nouveaux traitements thérapeutiques ou des nouvelles molécules utilisables dans plusieurs domaines, il faut développer et travailler sur des molécules peu ou pas utilisées chimiquement ou biologiquement. En confrontation, l'usage des molécules anciennement analysées facilite la découverte et l'identification des composés de la plante et les procédés utilisés. [25]

2.5 Les avantages de la plante médicinale

La phytothérapie offre de multiples avantages, d'après les énormes progrès réalisés par la médecine moderne. Les plantes sont majoritairement bénéfiques, issues de la nature, non manipulées chimiquement. Contrairement aux médicaments fabriqués, ces plantes ont été bien traitées depuis des siècles, elles contiennent des molécules intactes et leurs effets sont plus rapides. Grâce à la nature des plantes médicinales, Il existe de nombreuses maladies dont elle a pu les surmonter. [26]

Selon le Dr Bertrand Graz, médecin généraliste en santé montre que son grand intérêt est l'exploitation des plantes médicinale dans différents soins, comme par exemple: antidépresseur classique en réduisant les effets secondaires. [27] De plus, elles sont naturelles, ce qui les rend plus bénéfiques que les médicaments synthétisés.

Les plantes médicinales possèdent des principes actifs très puissants, qui permettent à la phytothérapie d'ouvrir un très large champ thérapeutique. Leurs composants les aident à avoir plusieurs activités: antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, sédatives, relaxantes, hypocholestérolémiantes, antiasthmatiques, carminatives, diurétiques, diaphorétiques, fébrifuge, vermifuge, herbicide, insecticide, et anti-insecte. Outre, certaines sources les mentionnent comme un traitement topique des morsures de serpent ou de scorpion. [28, 29, 30, 31, 32, 33]

En effet, les plantes médicinales sont bien acceptées par l'organisme, plus facilement disponibles et peuvent être auto-prescrites, sans ordonnance avec un prix à la portée de presque toutes les bourses. [34]

2.6 Les inconvénients de la plante médicinale

Tout ce qui provient de la nature n'est pas inoffensif, mais comme une provenance thérapeutique, les plantes médicinales présentent un ensemble des inconvénients revient principalement à des risques reliés à :

2.6.1 Risque lié à une erreur de « posologie »

L'utilisation des plantes médicinales n'apporte aucun risque. Par contre, les risques sont liés à des potentiels effets indésirables et des interactions médicamenteuses chez les patients, qui ne respectent pas « les dosages », donc il faut utiliser les plantes « sans abuser » [35]

Parfois ces mêmes doses sont utilisées dans des mauvaises circonstances ou sur des personnes à risque (personnes âgées, femmes enceintes, etc.). Dans ce cas, certaines plantes peuvent être nocives. [36]

2.6.2 Les risques liés à la perte du savoir

❖ Risque lié à un mésusage de la plante :

Ce n'est pas la plante qui est dangereuses, une partie seulement, parce que "chaque organe de la plante présentant des propriétés différentes ne produit pas les même effets (henry joseph). D'autres plantes sont potentiellement toxiques. Elles étaient utilisées de manière traditionnelle, mais le manque de connaissance peut développer des erreurs.

❖ Risque lié à une erreur d'identification :

Ce risque comprend les plantes homonymes, ces plantes sont plus dangereuse, elles ont le même nom, le même aspect, mais pas les mêmes propriétés.

2.6.3 Risque lié à une erreur du tisaneur

Les vendeurs des plantes ne sont pas des tisaneurs, donc les mauvais conseils de consommation ou les erreurs des doses peuvent donner des graves conséquences. [35]

2.6.4 Risque lié au corps de l'homme

La phytothérapie se compose de divers ingrédients, donc vous devez être sûr que votre corps n'est pas allergique à certains ingrédients.

La phytothérapie est une médecine pour certaines affections, qui peuvent avoir des effets secondaires et qui ne se révèlent pas immédiatement. Elles peuvent prendre parfois des mois voire des années. [37]

2.6.5 Problèmes lié à la pharmacopée

Certaines formes d'utilisation des plantes médicinales comme la forme galénique, les comprimés, les capsules, présentent des inconvénients au niveau du prix des gélules qui est relativement élevé, aux nombres importants des doses par jour, et aux moyens utilisés dans la fabrication et dans la conservation. [38]

3. Limite de la phytothérapie

Les plantes sont à usage étroite à côté de leurs inconvénients. Une seule plante peut être une source de multiple molécules qui réagissent entre elles, l'usage des plantes dans la phytothérapie est servi souvent pour traiter ou pour prévenir contre les problèmes sanitaires légers et pour faciliter la vie quotidienne. Parmi ces problèmes : les maux et les pathologies bénignes. [39] Donc elle est exclue dans le traitement de l'hypertension, des cancers, du sida. [37]

La phytothérapie est limitée aussi à cause des difficultés d'obtenir suffisamment de molécules à partir d'une seule plante, y compris des substances qui sont distinguées pour traiter le cancer à partir de l'écorce de l'if qui porte du taxol. Donc pour obtenir 150 mg du taxol en récoltant un Kg d'écorce évidemment. Cette quantité est impossible d'utiliser pour composer un médicament.

La phytothérapie se sert par un mode automédication, c'est-à-dire une auto diagnostic résultant d'une mauvaise consultation des symptômes.

De côté statistique, le nombre de mortalité dans les pays développés est inférieur. Ces pays utilisent principalement la médecine conventionnelle, ce qui confirme la limite de cette application. [39]

4. Etude ethnobotanique de la plante utilisée

4.1 Description botanique de la plante

Les preuves scientifiques suggèrent que *Beta vulgaris* est cultivée depuis le 1er siècle au cours de laquelle une gamme variée de formes a été développée. Il s'agit notamment de betterave sucrière, *Beta vulgaris*, communément appelée betterave qui fait partie de la famille des amarante et du pied d'oie (*Amaranthacées*), et qui comprend également les épinards (*Spinacia oléacée*) et le quinoa (*Chenopodium quinoa*). Le nom générique *Beta* dérive de la bette celtique qui signifie rouge. [40]

C'est une plante herbacée habituellement annuelle à bisannuelle, et plus rarement vivace. [41] Elle contient un système racinaire composé d'une racine principale longue et de petites racines profondes dans les 25 premiers centimètres du sol, et denses avec une ramification latérale se présentant sur deux lignes opposées dans la partie inférieure. (**Figure 02**)



Figure 02 : vue photographique des racines de *Beta vulgaris* [42]

Chez la betterave potagère, l'hypocotyle étant la partie supérieure de la racine principale constitue un organe visiblement gonflé sous formes ronde, plate, cylindrique ou conique, formé à son tour par des couches changeante de tissus conducteurs, fortement coloré et de tissus de réserve légèrement colorés. [43] Elle possède également une partie tubéreuse, rouge violacée, avec un caractère globulaire, au goût sucré, qui se développe majoritairement sur la

surface du sol, [44] et qui a des feuilles longue sous forme un cœur, estimée entre 1 et 20 cm. **(Figure 03)** D'autre part, les plantes sauvages sont souvent plus grandes que les plantes cultivées, et les graines attachées les unes aux autres sont couvertes dans une enveloppe ligneuse (calices), et chacune est très petite de 3 à 5 mm de diamètre, vert rougeâtre ou teintée. [45]

Les feuilles de *Beta vulgaris* sont ovales longuement pétiolées, nervurées, gaufrées, allongées pouvant atteindre 60cm de long. Elles sont comestibles, crues ou cuites et peuvent traiter plusieurs maladie telles que l'inflammation des vois urinaires, constipation et certaines infections. En cas cuit et écrasé, les feuilles de la betterave servent à soulager l'abcès et les douleurs des dents. [46][47]



Figure 03 : vue photographique des tiges feuillées de *Beta vulgaris* [42]

4.2 Taxonomie et systématique

Beta vulgaris connue sous le nom de betterave **(Figure 04)** a été nommée par le naturaliste Linnaeus en 1753 qui l'a mentionné dans son ouvrage « Species Plantarum ». Cette plante appartient à la famille des *Amaranthaceae*. [48, 49]



Figure 04 : photo représentative du légume « betterave » [46]

4.3 Classification :

- ❖ Domaine : *Biota*
- ❖ Règne : *Plantae*
- ❖ Sous-règne : *Viridiaeplantae*
- ❖ Infra-règne : *Streptophyta*
- ❖ Classe : *Equisetopsida*
- ❖ Clade : *Tracheophyta*
- ❖ Clade : *Spermatophyta*
- ❖ Sous-classe : *Magnoliidae*
- ❖ Super-ordre : *Caryophyllanae*
- ❖ Ordre : *Caryophyllales*
- ❖ Famille : *Amaranthaceae*
- ❖ Sous-famille : *Betoideae*
- ❖ Genre : *Beta*
- ❖ Espèce : *Beta vulgaris*
- ❖ Sous-espèce : *Beta vulgaris subsp.vulgaris*
- ❖ Sous-espèce : *Beta vulgaris subsp.maritima* [50]

4.4 La composition chimique

La *beta vulgaris* vient de la famille *Amaranthaceae*, nommée aussi betterave, [51] la chimie de *beta vulgaris* montre la présence des composés suivant dans le tubercule (racines) :

- ❖ Des sucres : saccharose, fructose, glucose.
- ❖ Des sels minéraux : sodium, potassium, calcium, magnésium, de la glutamine et choline et bétaine.
- ❖ Des pigments : le principal est une substance azotée, la bétanidine.
- ❖ Des constituants volatils : pyridine et dérivés, géosmine.

L'analyse proximale de 100 mg de tubercules (racines) montre la présence de : calories : 44, l'eau : 87,4%, protéines : 1,6%, lipides : 0,2%, glucides : 10%, fibres : 0,9%,

endre : 0,8%, calcium : 23 mg, phosphore : 35 mg, fer : 1,1 mg, sodium 36 mg, potassium : 33 mg, carotène : 0 Ug, thiamine : 0,02, riboflavine : 0,04 mg, niacine : 0,3 mg, acide ascorbique : 6 mg. [52] Les vitamines prennent une place importante dans la *Beta vulgaris* dont les principales sont : A, B, C, E, K, et aussi la bêta-cyanine, fibre, corrosif folique. [53] Les betteraves rouges riche en métabolites secondaires comme les acides phénoliques, les flavonoïdes, et l'acide ascorbique, et même les feuilles sont des meilleures sources en antioxydants et des vitamines. [51]

4.5 Habitat et répartition géographique

La seule et la principale plante cultivée qui fabrique le sucre est la betterave, depuis la seconde guerre mondiale. Le botaniste russe N.I.Vavilov a déclaré la méditerranée orientale ou Moyen-Orient comme leur origine et l'Asie mineure comme la deuxième source. [54] Cette espèce appartenant à la famille de *Beta vulgaris* est largement distribuée dans les milieux caractérisés par une température douce à froides (10–20 ° C), [55] particulièrement autour de la méditerranée et l'Europe (espèce sauvage) [56] Cependant la distribution s'étend vers l'est jusqu'à l'Inde, et vers le sud-ouest le long des côtes de l'Atlantique jusqu'aux îles Canaries et vers le nord le long des îles britanniques, du Danemark et du suède. [57]

C'est une plante cultivée grâce à l'origine de ses feuilles qui a été mise en évidence presque dans tous les pays d'Europe, Amérique du nord, la grande culture centrée au Nord du Bassin Parisien et de l'Europe au sens large. [58] Elle se trouve aussi dans certains pays du sud d'Europe (Italie, Espagne), et est alors cultivée dans des conditions très différentes (irrigation, semis d'automne). L'union européenne est le premier producteur mondial. La betterave occupe une surface très importante en Asie, en particulier en Chine qui est le 5ème producteur mondial. [59]

Aujourd'hui, les betteraves sont cultivées dans le monde entier pour leurs racines charnues (betterave potagère). Cependant, selon les botanistes les deux espèces sont importantes. [60] Cette dernière existe dans tous les pays africains notamment dans les parties les plus fraîches (l'Est et australe) et rarement dans les basses terres. Les bettes à feuille sont plus importantes que la betterave potagère. **(Figure 05)** [61]

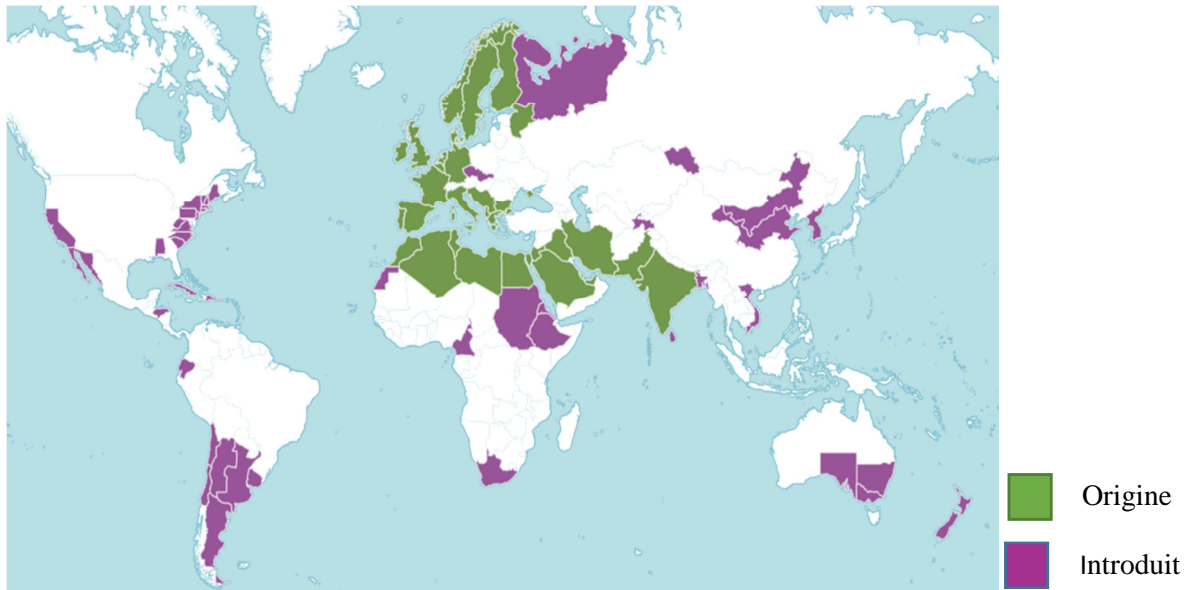


Figure 05 : carte de distribution de *Beta vulgaris* dans le monde. [62]

4.6 Utilisation en médecine traditionnelle

Les légumes et les fruits se considèrent depuis toujours comme de bonnes et essentielles sources impliquées en médecine traditionnelle. *Beta vulgaris* est l'un de ces végétaux utilisés pour des fins thérapeutiques. Les betteraves peuvent être consommées crues ou cuites ou encore comme un jus.

La richesse de *Beta vulgaris* en composés bioactifs tels que les glucides, les vitamines, les oligo-éléments et les phénols y compris les flavonoïdes leur permet de jouer plusieurs rôles précieux en médecine. 80% des pigments trouvés dans cette plante sont des bétacyanines notamment la bétanine. Ce sont des pigments azotés appelés bétalaïnes qui participent à des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antivirales, antioxydantes et anticancéreuses. Des recherches récentes ont montré que le jus de betterave minimise le risque de l'hypertension, la cause principale de maladie cardiaque.

D'autres vertus caractérisant la plante *Beta vulgaris* résident à éliminer les toxines, à traiter les maladies liées au stress et l'inquiétude, à prévenir contre le diabète, l'obésité et l'anémie. [48] [63]

4.7 Les données pharmacologiques et biologiques

a. Les données pharmacologiques

Récemment les chercheurs montrent que l'utilisation excessive des drogues synthétiques pour la protection de l'homme contre les maladies est devenue nocive pour lui ainsi pour l'environnement, donc l'utilisation des plantes médicinales riche en métabolites

secondaire et en antioxydants est essentielle. La betterave rouge porte des usages pharmaceutiques, et cosmétiques, et s'implique aussi dans la formulation des médicaments. Et parmi ces alternatives, la *beta vulgaris* est le 10ème légume dans le monde ayant des antioxydants qui éliminent les radicaux libres et arrêtent les dommages oxydatifs des macromolécules aboutissant à de nombreuses maladies tels que : le cancer, les maladies cardio-vasculaires, les maladies neurodégénératives, et aussi pour la prévention contre les maladies raccordées à l'âge. En plus, elle est utilisée comme un agent antimicrobien, antiallergique, anti-inflammatoire, et principalement comme un protecteur de contamination contre les bactéries et les champignons dans les transformations de l'industrie alimentaire. [51][53]

Les industries pharmaceutiques s'intéressent également par la synthèse de pectine qui se trouve dans les végétaux jouant un rôle important dans le tractus intestinale. Elle est utilisée pour l'amélioration des oligosaccharides ayant des propriétés prébiotiques, pour la protection contre le cancer du côlon, une action antibactériennes caractérisée par l'élimination de l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales, ainsi la stimulation de la croissance des bifidobactéries. La plante *beta vulgaris* est une source principale de pectine par un taux de 1% du poids frais. [64]

b. Les données biologiques

Le jus de betterave rouge présente *in vitro* chez les souris des activités antibactériennes devant les bactéries *salmonella typhi*, *staphylococcus aureus*, *trichophyton mentagrophytes*, une prévention contre le virus de l'influenza, ainsi une activité anti-tumorale qui est bien remarquable. [52]

4.8 Les données commerciales

La betterave à sucre se classe parmi les cultures qui l'utilise pour des fins industrielles notamment pour la production du sucre de table, il y a aussi des autres sous-espèces comme : la betterave fourragère qui est cultivée spécialement pour l'alimentation du bétail. [65]

Les racines de *beta vulgaris* couvrent environ 24% des besoins mondiaux en sucre. [66] D'autre utilisation de cette plante est apparue dans la production des colorants naturels alimentaires. Ces colorants remplacent ceux de nature synthétique artificiels, ils améliorent la qualité alimentaire. On parle de bétalaïnes de betterave. L'obtention de ces pigments naturels est due aux procédés d'extraction Solide-Liquide, à l'eau et aux solutions d'éthanol ou méthanol. [53]

4.9 Les données toxicologiques

Plusieurs plantes médicinales possèdent un potentiel de toxicité, ce potentiel apparaît lorsque le patient exagère dans leur utilisation. La beta vulgaris précisément le traitement avec les racines a été testé cliniquement avec des patients entre 50 et 60 pour l'asthénie par le jus de racine dans une période de 30 jours (120ml /jour). Les résultats montrent l'absence de symptômes et des signes cliniques de toxicité, aussi aucune modification dans les paramètres sanguins, donc la thérapie avec l'administration du jus de racine et l'utilisation de saccharose industriel, extrait de beta vulgaris est inoffensive. [52]

Chapitre 2 : les antioxydants des plantes médicinales

1. Définition des radicaux libre

Dans la plupart des molécules organique, les électrons sont appariés, c'est -à- dire que la liaison chimiques entre deux atomes A et B est faite par la mise en commun de deux électrons, ces liaisons peuvent être rompues, ce qui induit la production des radicaux libres.

D'un point de vue chimique, le RL est définie comme une molécule ou un atome qui possède un ou plusieurs électrons non appariés, ou célibataires dans la dernière orbite, [67] ce qui lui confère la caractéristique d'être très instable cinétiquement, et énergétiquement marquée par le point situé à droite de symbole, ils sont très réactifs et ils ont une courte demi-vie. [68]

Cette configuration instable génère de l'énergie libérée par des réactions avec des molécules voisines, telles que les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques [69], car ce RL aura toujours la tendance de remplir son orbitale, soit en acceptant un autre électron, ou attaquant ces dernières composantes cellulaires, afin de coupler son ou ses électrons célibataires, pour obtenir un état plus stable [70]. Il s'agit donc d'un intermédiaire de réaction, cela va entraîner une réaction en chaîne, produisant par la suite des nouveaux RL résultant de la molécule attaquée, qui devient à son tour radicalaire. [71]

1.1 Dommages liés aux radicaux libres

Plusieurs événements éventuels dus au déséquilibre des RL donnent naissance au stress oxydatif, en provoquant des conséquences violentes sur le corps humain, et produisant également des troubles moléculaires et cellulaire. [72]

Le SO cause des graves dommages dont beaucoup sont irréparable. Ces altérations augmentent le risque de différentes maladies [73] telle que le psoriasis, le cancer, le diabète et l'athérosclérose. [74] Certains RL semblent être un agent principal dans les phénomènes de vieillissement. [75]

2. Définition du stress oxydatif

Le SO est un mal rapport capable de traverser nos cellules, ou l'un de nos tissus lorsqu'ils s'obéissent à une forte production endogène ou exogène des radicaux libres oxygénés. [76] Ces RL sont les résultats normaux de la consommation de l'oxygène par tous les êtres vivant. [77] L'apparition du SO survient principalement lorsqu'il y a un déséquilibre dans la balance pro-oxydante /antioxydant. [78] En effet, toutes les circonstances ou tous les

exercices physiques dont la consommation en dioxygène et la surproduction d'ERO sont accrus, mènent à une circonstance dans laquelle l'organisme soumet à un stress. [79]

2.1 Origine du stress oxydatif

2.1.1 Origine exogène

La vie quotidienne expose l'arbre respiratoire aux polluants atmosphériques gazeux, dont les effets toxiques reviennent aux cellules par une grande quantité des oxydants, les sources principales sont : le tabac, alcool, UV, l'ozone et le NO₂.

2.1.2 Origine endogène

Parfois les oxydants sont des composants provenant de nombreuses cellules épithéliales et endothéliales, cependant l'élévation de leur concentration est due aux cellules inflammatoires essentiellement les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. [80]

3. Généralité sur les antioxydants

Les antioxydants sont les armes de défense physiologique qui empêchent les lésions oxydatives générées sous l'abondance d'ERO. [81] Au sein de l'ambiguïté créée entre les besoins en oxygène et les RL, servant aux nécessités corporelles et leurs effets néfastes, la nature est bien ré pondue avec des systèmes antioxydants équilibrant ce métabolisme. Par rapport aux RL, l'antioxydant doit s'oxyder et recouvrir l'électron libre, [82] par rapport au SO, la balance pro-oxydant /antioxydant est ajustée par un taux antioxydant exogène tels que la vitamine C, la vitamine E, la vitamine A et l'acide folique [83].

Les plantes sont parmi les fontaines naturelles des antioxydants dirigés pour combattre le stress. Cette capacité renvoie à leur puissance à construire des substances anti radicalaires. [84] A l'échelle des industries agroalimentaires, l'addition des antioxydants à leur préparation est une étape très importante pour éviter certaines réactions toxicologiques. Les antioxydants utilisés sont principalement d'origine végétale (carvacrol, eugénol, tocophérol, thymol, les composés phénoliques de l'olive, etc.) Tous ces composés sont des extraits volatiles des plantes aromatiques dans le rôle de maintien des acides gras insaturés. [85]

Les antioxydants exportés des sources alimentaires sont à l'origine de multiples précurseurs, et de fonctions de préservations endogènes observant le stress oxydatif, tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les éléments traces (Zinc, Cuivre, Manganèse) qui établissent la famille des antioxydants enzymatiques. Il y a aussi des vitamines venant du

groupe B qui luttent essentiellement contre l'inflammation et améliorent ainsi la sensibilité à l'insuline. L'alimentation basée en fruit, légumes et céréale conduit à une meilleure source et apports en antioxydants. [86]

4. Les antioxydants ayant des propriétés antimicrobiennes

4.1 Les polyphénols

4.1.1 Historique sur les polyphénols

L'historique des polyphénols a commencé avant le nom actuel, où était l'appel « tanins végétal », ces polyphénols sont en origine des plantes "divers extraits des plantes".

La première définition des polyphénols a été intéressée par l'utilisation de ces extraits dans la transformation des peaux animales en cuir. Au commencement du XX siècle, diverses études ont ouvert le débat sur les caractérisations structurales de ces extraits polyphénoliques après 1945, où plusieurs techniques analytiques sont devenues disponibles. Entre autre, la chromatographie du papier en 1962, les scientifiques sont arrivés à une détection des polyphénols végétaux comme « des composés phénoliques solubles dans l'eau ayant des poids moléculaires entre 500 et 300 (Da) et des pouvoirs de précipitation ». [87]

4.1.2 Généralité sur les Polyphénols

Dans la communauté scientifique, le terme polyphénol est un renouvellement de l'ancien terme "tanin végétal" [88]. Chimiquement, on peut définir les polyphénols par la réunion de divers éléments naturels, ces éléments sont structurellement phénoliques. On distingue pleins de sous-groupes sous le gros terme de polyphénol. Selon les chercheurs, le terme polyphénol est déconcerté jusqu'à ce temps et apparemment y'a pas de conventions sur un nom commun, certains appellent « phénols végétaux », les autres appellent « polyphénols ». Ce terme est exclusif aux structures chimiques qui détiennent deux groupements phénoliques en minimum, sans nous considérons le nombre de groupe hydroxyle qu'ils ont chacun d'eux. [87] Les polyphénols venant du métabolisme secondaire des végétaux, sont diversifiés en fonction de squelette carboné. On trouve que les groupes acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3) et surtout les flavonoïdes (C6-C3-C6) sont les principaux antioxydants d'origine végétale, par contre le groupe lignane (C6-C3-C3-C6) est moins courant, on trouve aussi le groupe stilbéne (C6-C2-C6), c'est le groupe le plus important des substances naturelles polyphénoliques. Le groupe le plus large dans les végétaux est les flavonoïdes (400 types). [89] La molécule polyphénolique possède de multiples groupements

phénols, et pour être exact : plusieurs groupements hydroxyle (-OH) qui s'attachent sur ce noyau. Il existe divers types et familles de ces polyphénols avec des fonctions variées y compris : le flavonol concentré dans l'oignon avec des pouvoir antioxydants, anti-inflammatoire, la présence de la procyanidine venant de la famille des tanins dans la pomme, on parle aussi des flavone du persil et l'isoflavone du soja. [90] A l'échelle microbiologique, nombreux extraits méthanolique des plants exercent une sensibilité remarquable aux multiples souches parmi lesquelles : *S.aureus*, *S.pneumoniae*, *S.flexeneri*, *S.typhi*, et *C.albicans*. Ces extraits sont riches en polyphénols. [91]

4.1.3 Structure des composés poly-phénoliques et leurs classifications

Les composées phénoliques sont les principes actifs de la plupart des plantes médicinales, précisément dans les plantes vasculaires. La classification des composées phénoliques dépend d'une façon fondamentale sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques, et tous les éléments liant ces noyaux. Les plantes utilisées par l'homme dans le domaine de la médecine ou autre domaine organisent 10 000 composés phénoliques. Ces composés progressent des molécules très simples comme les acides phénoliques jusqu'à les composés hautement polymérisées, on parle des tanins. Ces composés sont :

- les acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3)
- les flavonoïdes (C6-C3-C3 C6)
- les lignanes (C6-C3-C3-C6)
- les stilbènes (C6-C2-C6) [92]

Les flavonoïdes sont divisés en six-groupes y compris :

- les flavonols (par exemple : kaempférol, quercétine)
- les flavones (par exemple : apigénine, lutéoline)
- les isoflavones (par exemple : daidzéine, génistéine)
- les flavanols (par exemple : (+)-catéchine, (-) épicatechine, épicatechine)
- les anthocyanes (par exemple : pélargonidine, cyanidine, malvidine)
- Les flavanones.

Les autres catégories sont les non flavonoïdes divisé en deux :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques)

➤ Les stilbènes. [93]

4.1.3.1 Les composés phénoliques non-flavonoïdes

4.1.3.1.1 Les acides phénoliques

Un acide phénolique est un composé organique qui porte en minimum une fonction carboxylique, et aussi un hydroxyle phénolique. Ce terme est simplifiable aux dérivés de l'acide benzoïque, et l'acide cinnamique. [94] Le composant principal d'un acide phénolique est l'acide gallique, ce nom vient du mot français galle, qui résulte d'un gonflement dans le tissu d'une plante, lorsque ce dernier est touché par une agression d'insecte parasite, ce gonflement est à son tour dû à la formation d'une masse de glucides et d'autres nutriments. La composition phénolique du galle est formée jusqu'à 70% d'esters d'acide galiciens. [95]

Les acides phénols sont classés en :

- phénols simples (catéchol) qui sont rare dans la nature
- Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque
- Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique

a. Dérivés de l'acide hydroxy benzoïque : (C6-C1)

Ces acides sont très répandus sur leur forme libre que sur la forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides, citons : P-hydroxy benzoïque acide ou P-hydroxy-acide benzoïque, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique, l'acide gallique et l'acide sirengique. Cette classe est riche en végétaux et aliments. (Figure 06)

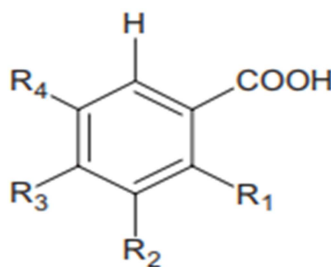


Figure 06 : Structure générale de l'acide hydroxybenzoïques [96]

b. Dérivés de l'acide hydroxy cinnamique :(C6-C3)

La disponibilité de ces composés est très étendue et parfois estérifiés, amidifiés ou cohérés avec des sucres ou des polyols, prenant l'exemple de l'acide quinique. Les acides

hydro cinnamiques qui possèdent une présence particulière par les plantes sont : l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique. **(Figure 07)** [92]

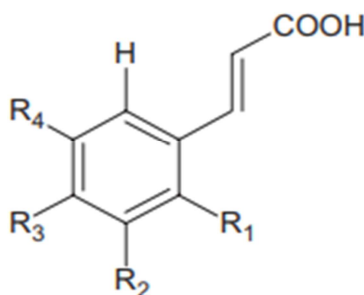


Figure 07 : structure générale de l'acide hydro cinnamique [96]

4.1.3.1.2 Les stilbènes

Les stilbènes sont composés par deux anneaux aromatiques, conjoints par un pont d'éthylène (1,2-diaryléthènes). En 1980, Corrharm a donné le nom de stilbène à cette structure phénolique, et sa première découverte a été marquée en 1899 sur des plantes africaines. [97] Les phytoalexines (premier dérivé de stilbène) sont synthétisés par des plantes comme une arme de défense contre les attaques bactériennes, fongiques et virales, aussi pour la protection contre les UV. Le resvératrol est le stilbène le plus commun, bien évident dans les tissus végétaux. [95] Dans le monde, le resvératrol **(Figure 08)** est un composant très diversifié et caractérisé par des valeurs sanitaires excellentes.

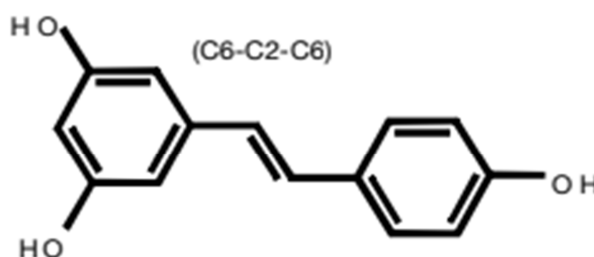


Figure 08 : structure de resvératrol [89]

Les stilbènes sont des composés phénoliques non flavonoïdes caractérisés par leurs structures carbonée C6-C2-C6. C'est la structure de base qui régénère plusieurs autres groupes de composés, avec des variations dans le nombre, et les positions des fonctions hydroxyles dans les cycles phénoliques. Les plantes sont les principales sources de ces composés. Les familles les plus courantes sont : melanthiacea, polygonaceae, mora-ceae. D'autres groupes peuvent être portés aussi par des aliments comme, la vigne et ses dérivés

(raisin de table, jus de raisin). Les plantes médicinales représentent une bonne source de stilbène et leurs dérivés comme la renouée du japon (*Polygonum cuspidatum*), et le vérâtre (*Veratrum album* et *Veratrum formosanum*). [98]

4.1.3.1.3 Les lignanes et les lignines

Les lignines sont parmi les biopolymères les plus connus et disponibles dans la nature après la cellulose. Des études montrent que 30% du carbone organique de la biosphère sont sous forme de lignine, aussi les parois cellulaires secondaires des plantes vasculaires sont les principales sources de lignine. [99]

Lignine est la dernière substance naturelle de la voie Shikimique avec une structure C6-C3 très compliquée. Cette structure chimique joue un rôle primordial dans les végétaux trachéophytes, avec une résistance importante et une structure rigide par la création d'un réseau tridimensionnel. La liaison entre les unités de lignines est la conséquence de l'accouplement des oxydants classiques et des phénols, les unités inclus sont l'alcool paracoumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique, ces unités sont organisées respectivement en lignines de H (à résidus hydroxy phényle). G (à résidus guaiacyle) et S (à résidus syringyle). [100]

Les lignanes (**Figure 09**) se sont des dérivés de la dégradation de lignines. [101] Le terme lignane introduit par Haworth en 1937 dont le squelette est de nature radicalaire avec un couplage entre les carbones 8 des chaînes latérales de deux unités dérivées du 1-phénylpropane (liaison 8-8'). On peut dire aussi que ce sont des dimères d'alcool ou d'acide cinnamique. Les données précises sur cette structure sont incomplètes. A l'exception de quelques molécules, ce sont des structures actives résultant de la liaison stéréospécifique des carbones C-8, (elles sont découvertes la première fois chez des *Forsythia Spp*).

Il y a presque soixante-dix familles des plantes qui portent des composés lignanes. Ils sont isolés chez les Gymnospermes (*Acrogymnospermae*), et les Angiospermes (*Magnoliophyta*), à partir des tissus, des racines, feuilles, fleurs, fruits, graines, etc. [100]

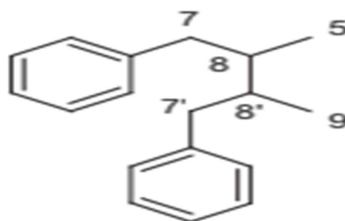


Figure 09 : structure chimique de lignane [97]

De multiples activités pharmaceutiques des lignanes ont été découvertes par l'isolement de plusieurs plantes médicinales africaine. [102], [97]

Chez les plantes, les composés des lignanes et ses dérivés moléculaires se caractérisent par des propriétés antibactériennes, antifongiques, et antivirales. La médecine chinoise inclus des plantes à lignane telles que schisandraceae fruits de schisandra chinensis. Des résultats in vitro des agents anti-VIH sont bien remarqués. [100]

Actuellement les infections bactériennes sont devenues résistantes aux antibiotiques, donc les nouvelles démarches ont des objectifs de trouver de nouveaux médicaments antibactériens. Les lignanes isolés à partir des plantes médicinales africaines "plante camerounaise pycnanthus angolensis" sont parmi les solutions qui luttent contre ces infections grâce à leur participation aux activités antimicrobiennes [97]

4.1.3.1.4 Les coumarines

Le nom de la coumarine appartient d'une langue amérindienne « kumaru », c'est un nom d'un arbre de l'Amérique du sud, isolée la première fois en 1820 par un chimiste Heinrich August Von Vogel (**Figure 10**) [88]

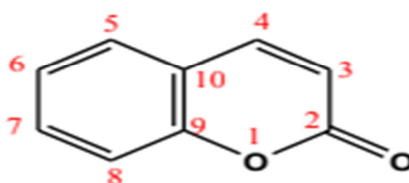


Figure 10 : structure chimique de la coumarine [39]

Les coumarines sont parmi les antioxydants les plus répandus dans le règne végétal. Ces substances naturelles, organiques et aromatiques se composent par neuf atomes de carbone, le noyau de coumarine est de forme 2H-1 benzopyrane-2-one, les coumarines constituent d'un large groupe des isocoumarines et des flavonoïdes. Cette molécule a une sensation proche de celle de la vanilline. Plusieurs études et efforts donnent une valeur à la pharmacopée traditionnelle africaine des coumarines. [103] Les coumarines possèdent des substances aromatiques avec des propriétés anticoagulantes. Cependant l'usage excessif de ces

composées peut entraîner un risque toxique. [104] Il existe plusieurs types de coumarines mentionnés comme suit :

a. Les coumarines simples

On distingue les coumarines remplacées en C6 et/ou C7

b. Les coumarines complexes

La particularité de cette catégorie réside dans sa composition, les coumarines complexes se composent de deux parties : un noyau benzopyrane lié au noyau furane ou pyrane. [105]

Au niveau de la plante, les coumarines répondent aux attaques pathogènes grâce à leurs propriétés bactériostatiques. [106] En plus de leurs activités anticoagulantes, les coumarines participent aussi aux activités pharmacologiques pour l'élaboration de nouveaux médicaments, cela indique, par exemple que les antibiotiques et les anti-protéases VIH-1 peuvent être synthétisés à partir de ces coumarines. [107]

Parmi les plantes qui sont exploitées dans la pharmacopée et qui portent aussi des coumarines, les feuilles de « *Apium graveolens* Linn » sont utilisées pour traiter les intoxications alimentaires, les graines de « *Coriandrum sativum* Linn » pour traiter les parasites intestinaux, « *Petroselinum sativum* Mill » « *Nyman ex A.w hill* » (le persil) pour soigner les troubles urinaires (racines et feuille), les feuilles et les fruits et les racines de « *Pimpinella anisum* » sont utilisés comme un agent antimicrobien, et en dernier les feuilles de « *Cnicus benedictus* Linn » pour traiter le rhume. [103]

4.1.3.1.5 Les xanthones

De nos jours, les progrès technologiques s'intéressent par tous ce qui provient de la nature, les antioxydants sont des produits d'une compétence suffisante dans le terrain médical, sous le grand terme de la médecine traditionnelle. [105] Les xanthones sont parmi les composés phénoliques naturels les plus importants d'entre eux. [109] Le mot xanthone vient du mot grec : Xanthos, c'est-à-dire jaune. Ces substances sont des métabolites secondaires qui administrent plusieurs plantes et fruits, ainsi que les champignons notamment les lichens. (Figure 11)

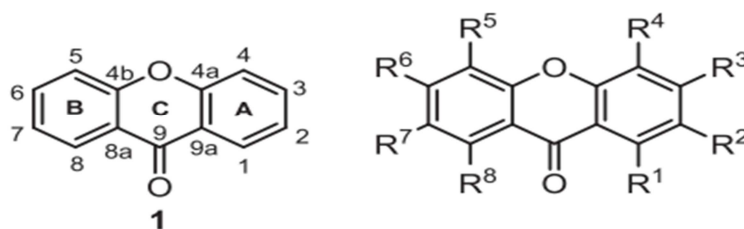


Figure 11 : structure chimique et système de numérotation du squelette du xanthone

[110]

Hostettmann et Wagner ont découvert les glycosides des xanthones la première fois en 1977, comme un groupe primordiale naturel, ces substances possèdent des capacités de synthèse pharmacologiques résultant des extraits des plantes. [111] La formation des xanthones commence par une cyclisation des benzophénones résultant de l'ajout d'unités dicarbonées sur C6-C1 qui signifie l'acide benzoïque, donc la biosynthèse de c-glucosyl "xanthones" ressemble à celle des flavonoïdes. [100] Ces composées sont divisés en plusieurs sous-classes en fonction du degré d'oxygénation dont les sous-groupes impliquées sont des substances non-, mono-, di-, tétra, penta- et hexa- oxygénées, les autres sous classes se forment soit entièrement aromatique, soit autant que dihydro-, tétrahydro-, hexahydro, ou encore en forme monomérique ou dimérique. Il y a environ 650 types de xanthone qui viennent de multiples sources, dont la plupart provient de mangosteen (fruits tropical de l'Asie du sud). [111] Bien que le mangosteen est la principale source de xanthones, mais il est très rare et cultivé seulement en Indonésie, Malaisie, Sri Lanka, Philippines et Thaïlande. [112] Citons quelques xanthones qui contiennent le mangosteen : 1-isomangoustin hydrate, 1-isomangoustin, 3-isomangoustin hydro, 3-isomangoustin, a-Mangousti, etc. [113]

Les caractères d'oxygénation qui reviennent à la nature de xanthone peuvent donner des activités pharmacologiques. De plus, à cause du contraste des groupes fonctionnels, les fonctions étudiées par un nombre d'article montrent des activités antibactériennes, antivirales, et antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-tumorales, antihypertenseurs in vitro et in vivo, effets gastro protecteurs, aussi contre le VIH/SIDA et plusieurs autres activités biologiques. Le mode d'action de xanthone contre les affections revient à leur capacité phytoalexine qui empêchent le développement des pathogènes. [111] La plante du genre *Allanblakia* est une plante riche en métabolites secondaires notamment en xanthone, très utilisée en médecine traditionnelle avec des propriétés antifongiques, antibactériennes, et anti-inflammatoire. [114]

4.1.3.2 Les composés phénoliques flavonoïdiques

Auparavant, un scientifique hongrois qui s'appelle Albert Szent-Györgyi a essayé de guérir les hémorragies dues à la fragilité capillaires par l'utilisation du jus de citron, où il a confirmé que la vitamine C seule n'était pas efficace, et qu'il y a une autre substance qui s'associe avec cette dernière pour avoir un bon résultat. A ce moment, il a découvert les flavonoïdes (**Figure 12**) connus aussi sous le nom de la vitamine P. En 1937, Albert Szent-Györgyi a été honoré par le prix Nobel grâce à sa découverte. [115]

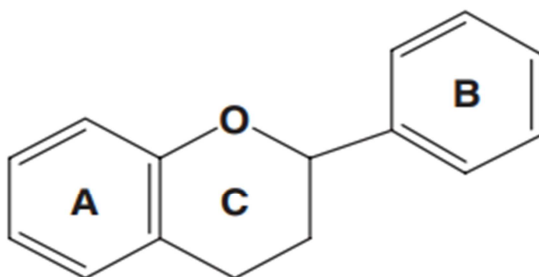


Figure 12 : structure chimique des flavonoïdes [116]

Les flavonoïdes sont des substances qui se produisent principalement dans les plantes. Ce sont des pigments appartenant à la famille polyphénolique, leur rôle principal est la coloration des végétaux, mais ils ont également différents rôles privilégiés pour avoir une bonne santé. [117] L'homme peut donc en profiter grâce à la consommation des fruits, des légumes et d'autres aliments riches en ces composés.

Quelques exemples des aliments ayant une source flavonoïdiques : [118]

- L'ail
- L'oignon
- Le chocolat noir
- Les brocolis
- Les fraises
- Les raisins, etc.

De nombreuses études montrent l'importance des flavonoïdes rencontrés dans les plantes médicinales, ils participent dans diverses activités : activité antioxydante, activité antimicrobienne, activité anticancéreuse, activité cardiovasculaire, etc.

Parmi les différents sous-groupes des flavonoïdes, les plus répandus sont réduits en six classes : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanines. (**Figure 13**) [116]

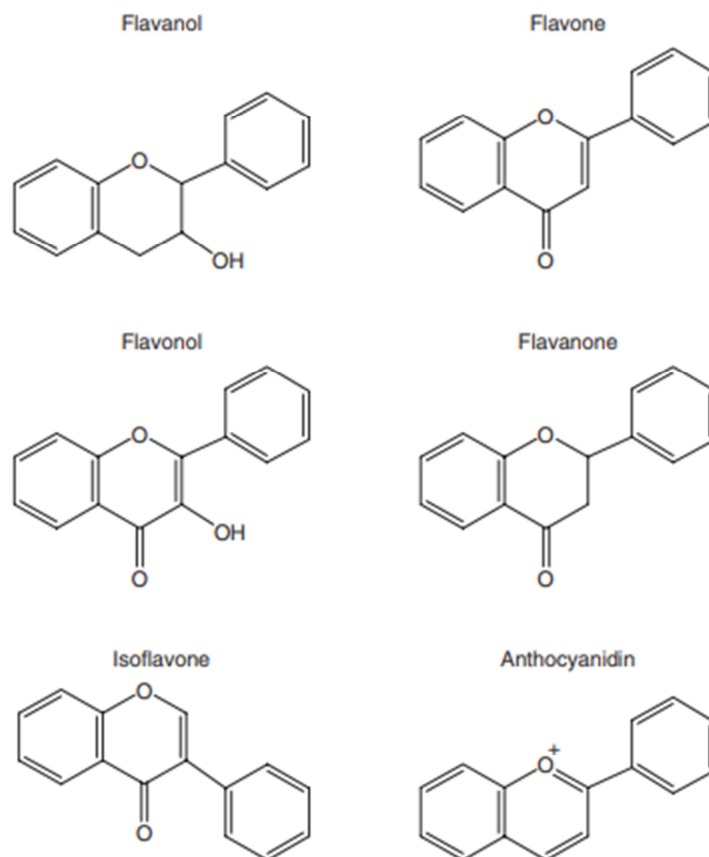


Figure 13 : structure moléculaire des six flavonoïdes majeurs [116]

4.1.3.2.1 Les flavones

Selon des études scientifiques, les flavones sont des constituants naturels de la famille des benzopyranes, qui se définissent comme étant des pigments incolores ou de couleur jaune. Elles sont composées de deux cycles benzéniques qui se trouvent dans les plantes majoritairement sous forme de flavone-C-glycolyse, contrairement aux autres flavonoïdes qui existent sous forme O- glycolysée dérivée. Cela les distingue des autres flavonoïdes, en les rendant plus stables et biologiquement actives. Tandis que certaines flavones existent sous forme d'aglycone. [119]

L'apigénine, la lutéine, et la tricétine sont les principales flavones qui se trouvent le plus souvent dans les légumes et les fruits. [96] L'intérêt des flavones réside dans leurs multiples activités pharmacologiques notamment l'activité antimicrobienne.

4.1.3.2.2 Les flavonols

A l'instar des flavones, les flavonols sont les pigments les plus connus et les plus importants dans le groupe flavonoïdiques. Leur structure est similaire de celle des flavones dont ils possèdent une double liaison entre C2 et C3. Cependant, ils se différencient les uns des autres par la présence d'un hydroxyle en position 3 dans les flavonols.

Les substances mentionnées ci-dessus comprennent deux formes primordiales, glycoside et aglycones, sachant que « O-glycoside » est la plus fréquente. Les flavonols participent principalement aux activités antimicrobiennes, mais aussi ils ont d'autres avantages remarquables pour la santé humaine (activité antioxydante, activité neuroprotectrice, etc.) [119] Chez les végétaux, trois types de flavonols sont rencontrés en abondance : la quercétine, la myricétine, et le kaempférol. [96]

4.1.3.2.3 Les flavanones

Les flavanones sont un sous-groupe des flavonoïdes qui tirent leurs origines des flavones, elles sont dépourvues de la double liaison entre C2 et C3 qui est présente dans les substances précédentes. Il est utile de savoir qu'en position 2, l'atome de carbone est asymétrique. [120] Comme prévu, les flavanones sont de nature aglycone ou glycoside dont les principaux aglycones sont naringénine, l'hespéridine et l'eriodictyol.

Les flavanones dites aussi dihydroflavone jouent multiples rôles nécessaires, elles s'impliquent dans l'activité antimicrobienne, antifongique et antioxydante. Prenant l'exemple de naringine qui est caractérisée comme antioxydant piègeur des radicaux libres réduisant ainsi le stress oxydatif. De plus, elles réduisent le taux de cholestérol total et améliorent le métabolisme des lipides. [119]

4.1.3.2.4 Les flavanols

Le raisin, les pommes, le chocolat, le thé font partie d'une bonne source en flavonoïdes précisément les flavanols. [121] Identiquement aux flavanones, les flavanols se caractérisent par l'absence de la double liaison entre C2 et C3, par contre ils ont deux atomes de carbones asymétriques en position 2 et 3. [122]

Les flavanols autrement connus sous le nom de catéchines sont des substances chimiques ayant diverses sous formes, telles que les flavan-3-ols. Ce sont des pigments responsables de la coloration du thé et du cacao. La consommation des aliments riches en flavanols aide à baisser les risques de certaines maladies vasculaires. [123]

Les bienfaits des flavanols montrent leur importance dans la vie quotidienne de l'être humain.

4.1.3.2.5 Les isoflavones

L'activité phytoestrogénique classe les isoflavones parmi les flavonoïdes fondamentaux. Leur composition qui ressemble à la structure des estrogènes les permet de fonctionner comme des pseudo-hormones en se liant aux récepteurs des œstrogènes. Outre cela, il existe d'autres activités auxquelles ils y participent en particulier l'activité antimicrobienne. Les isoflavones connaissent essentiellement deux types qui sont la daidzéine et la génistéine, dont le soja est l'aliment le plus riche de ces composants. [124]

Généralement, les isoflavones sont rencontrés autant que glycosides. Leurs formes aglycones peuvent aisément être absorbées par des enzymes ou par des bactéries dans l'intestin grêle et dans le grand intestin respectivement. [121]

4.1.3.2.6 Les anthocyanes

Les anthocyanes présentent le dernier sous-groupe des flavonoïdes les plus étudiés. Elles peuvent être classées parmi les pigments végétaux hydrosolubles qui changent leurs couleurs tout dépend l'acidité ou la basicité du pH. La cyanidine, la delphinidine, et la pélargonidine sont des anthocyanes fréquemment trouvées dans les plantes. [119]

Il existe principalement deux formes communes entre tous les flavonoïdes. Les anthocyanes se composent d'un aglycone nommé anthocyanidine qui se lie à une liaison glycosidique constituant suite à cette association un glycoside d'anthocyanidine. Ces substances chimiques présentes dans les plantes précisément les plantes médicinales sont devenues de plus en plus étudiées grâce à leurs activités thérapeutiques et pharmacologiques. [125]

Concernant l'activité antimicrobienne, les anthocyanes peuvent fonctionner comme étant des inhibiteurs de la croissance bactérienne en modifiant la morphologie cellulaire des bactéries (détruire la paroi cellulaire, la membrane, etc.) [96]

4.2 Les tanins

Le nom "tanin" provient du français, il est étroitement lié au processus de tannage végétal, qui couvre un vaste éventail de composés polyphénolique. Il se produit

naturellement par les plantes sous forme des métabolites secondaire qui ont été connus et utilisés par l'homme depuis l'antiquité. [126] [127]

Ces constituants possèdent un corps ordinairement amorphe, et une réaction légèrement acide [128], présentant ainsi une hydrosolubilité. Ils ont un poids moléculaire inclus entre 500 et 3000 Dalton. Ces polyphénols contiennent un grand nombre de groupe hydroxyle ou autres fonctions appropriées (c'est-à-dire les carboxyles). [129][130] Ces substances sont capable de s'associer avec des protéines en solution et les précipiter, ou avec d'autres polymères organiques tels que la gélatine de la solution, les glucides, la pectine, les acides nucléiques, les stéroïdes, les alcaloïdes, l'amidon, la cellulose, et les minéraux notamment ceux du peroxyde de fer pour former avec eux des complexes réversibles et irréversibles, en les rendant plus stables. [131] C'est la propriété de l'astringence. [128]

Dans la nature, les tanins sont abondamment distribués dans le règne végétal principalement chez les familles des plantes supérieures. Ce sont généralement extraits d'écorce, du bois, des feuilles, des fruits ou des racines. [132]

Sur la base structurale des tanins, ainsi que leur origine biogénétique et leurs rôles dans la vie végétale, on distingue habituellement, selon la déclaration d'Okuda et Ito, deux groupes des tanins : les tanins hydrolysables et les tannins condensés étant les plus répandus.

Cependant, aujourd'hui des autres types sont également considérés à savoir les caffetannins, les labiatae tanins et les phlorotannins. [133]

4.2.1 Les tanins hydrolysables

Selon les ouvrages scientifiques, les tanins hydrolysables sont des oligo ou des polyesters d'hydrates de carbone qui sont majoritairement du D-glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique. Les principaux acides phénoliques libérés sont l'acide gallique (**Figure 14**) dans le cas des gallotannins, et l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation (acide chébulique par exemple) dans le cas des ellagitannins. [134][135]

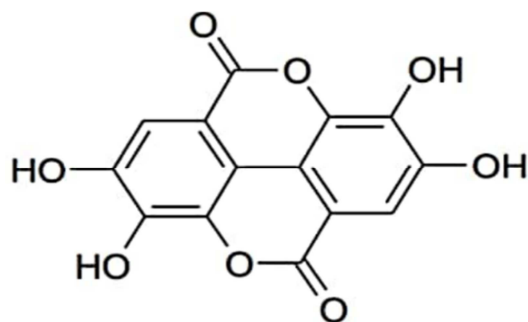


Figure 14 : structure d'acide gallique [136]

On les trouve principalement chez les dicotylédones, [137] ils sont caractérisés par leur capacité de s'hydrolyser facilement en milieux acides et alcalins, ou sous l'action d'enzymes telle que la tannase. [138] [139]

Ce type des tannins sont d'abord divisés en deux sous-catégories majeures : gallotannins et ellagitannins.

4.2.1.1 Gallotannins

Ce sont les tanins hydrolysables les plus simples chimiquement. Ces substances sont des unités d'esters galloyliques ou polygalloyliques. Ces dernières peuvent être à leur tour des glucoses, du gallotannin prototypes ou pentagalloylglucose liés de manière directe par des liaisons ester à un noyau de polyol et ont donc la capacité de produire l'acide gallique issu de la réaction d'hydrolyse. [140][141] [142] Les gallotannins simples sont relativement rares dans la nature.

4.2.1.2 Ellagitannins

Les ellagitannins forment le plus grand groupe de tanins hydrolysables connus et se caractérisent par la présence d'hexa groupe hydroxyle diphényléther et d'esters de polygalloyle. [143] La production de l'acide ellagique et d'autres composés phénoliques supplémentaires, tels que l'acide chébulique, acide chloro ellagique, est due à l'hydrolyse d'ellagitannin. [144] Les ellagitannins sont plus communs que les gallotannins.

4.2.2 Les tanins condensés

Les tanins condensés se différencient fondamentalement des tanins hydrolysables en raison de l'absence du sucre dans leur structure moléculaire. On peut définir les tanins condensés comme des composés formés à partir d'unités de dimères, oligomères ou polymères de flavanique de petite à moyenne taille, composé principalement à son tour d'unités de flavane-

3-ol (catéchine) [145], ou de flavan-3-4diol (leucoanthocyanidine), liée entre elles par des liaisons carbone-carbone, contrairement aux tanins hydrolyse. Ces liaisons sont résistantes à la réaction d'hydrolyse. [146]

On peut aussi les appeler des proanthocyanidines : cette nomenclature ordinairement basée sur le nom anthocyanidine, formé lorsque le polymère est traité à chaud en solution acide. Cette opération génère des tanins condensée. [147][148] Généralement, les produits sont prodelphinidines, et procyanidine. [149]

Les tanins condensés sont plus répandus chez les plantes que les tanins hydrolysables. [150]

4.3 Les vitamines

Les vitamines sont formées essentiellement par des atomes de carbone, d'oxygène et hydrogène, elles sont donc de nature organique et vitales. Elles sont indispensables au bon fonctionnement, étant des éléments nutritifs essentiels et naturels, mais malheureusement le corps humain ne peut pas les synthétiser en quantité suffisante. Par conséquent, elles doivent être consommées régulièrement avec de la nourriture. [151] [152] La plupart des vitamines sont sensible à conditions environnementales.

D'un point de vue général, les vitamines sont classées en fonction de leur solubilité en deux catégories :

- Les vitamines hydrosolubles qui sont donc soluble dans l'eau, ne sont pas stockables dans l'organisme, et comprennent la vitamine C et les vitamines du groupe B (B1 à B12).
- Les vitamines liposolubles qui sont donc soluble dans les graisse et sont stocké dans l'organisme comme : vitamine D, et E. [153]

4.3.1 Vitamine A

La vitamine A est une substance liposoluble qui s'appelle également rétinol parce qu'elle a été trouvée dans la rétine. Elle est issue des aliments d'origine animale, ou exceptionnellement des végétaux en les absorbant sous deux grandes formes : les divers caroténoïde (notamment bêta-carotène) précurseurs du rétinol et les provitamines. [154] [155] Cette vitamine est sensible à certaines conditions qui sont : la cuisson, la haute température, la présence d'oxygène, la lumière, et le pH. [156]

La vit A se trouvent surtout dans les végétaux colorés (rouge, orange, jaune, verte) cependant, un nombre restreint de cette substance possèdent une activité pro vitaminique A, par exemple : la carotte, les légumes aux feuilles vertes (betterave), l'huile de palme brute, les fruits, les céréales et chez certains aliments à base sucre (patate douce). [157]

La vitamine A joue un rôle important pour la vision, et pour la croissance puisqu'elle intervient dans la différenciation cellulaire, elle est importante pour la peau et l'ensemble des muqueuses. [158] Elle a aussi un effet antibactérien et antiviral de façon indirecte pour lutter contre les infections, elle diminue la teneur en cholestérol intracellulaire qui sert de la nourriture pour les bactéries. [159]

4.3.2 Vitamine B6

La vitamine B6 appartient à la famille des vitamines hydrosolubles, résistante à la chaleur et donc à la cuisson ainsi qu'aux acides capables de se produire par des végétaux essentiellement sous forme de pyridoxine. [160][161] Elle est indispensable au fonctionnement de l'organisme dont elle intervient dans le métabolisme des acides aminés, dans la production de l'énergie, et dans les divers neuromédiateurs ou hormones telles que sérotonine, aussi elle participe au renouvellement des globules rouges, et au fonctionnement du système immunitaire. [158] [162]

Les céréales pour le petit-déjeuner sont une bonne source de vitamines dont elles sont enrichies en vitamines du groupe B notamment la B6. Les légumes secs, la pomme de terre, les légumes verts frais, la banane, la levure de bière et le germe de blé peuvent également compléter les apports en vit B6. [163] [164]

Ce micronutriment est caractérisé par son rôle important, il lutte contre les produits toxiques, les virus et les bactéries grâce à la synthèse de taurine. [165]

4.3.3 Vitamine C

Attribuée à la famille des vitamines hydrosoluble, aussi appelé «acide ascorbique» et dérivé de «facteur antiscorbutique» à plus long terme. La vitamine C a été découverte à cause de l'apparition de la maladie scorbut, une maladie rencontrée avant chez les marins qui ont souffert d'une carence de cette vitamine, elle est donc nécessaire pour la bonne santé de l'être humaine. [153][166] Outre, cette substance est plus sensible à l'oxydation, à l'abri de l'air, à haute température donc elle peut disparaître à cause d'une cuisson de 60°, de la lumière ou des milieux alcalins. [151]

Elle n'est pas synthétisée par le corps humain, et elle existe dans le règne végétal dont les organes de réserve sont : les racines, les feuilles, les tubercules.

Les végétaux frais (légume et fruits) sont la source principale, particulièrement dans les parties externe. On trouve les vitamines notamment dans le poivron, le persil, l'épinard, le chou-fleur, la tomate, les agrumes (orange, citron), les fruits tels que les fraises. [167]

Ces antioxydants jouent un rôle sur le système immunitaire, et sont connue en particulier pour leur capacité de traiter et de prévenir les divers types d'infections. De plus, ils ont une activité contre les virus et les bactéries, notamment les infections des voies respiratoires supérieures, capables de soulager et protéger contre les symptômes de covid-19, rhume et la grippe. [168] [169] Ils peuvent traiter les infections de l'estomac par l'éradication des bactéries de 48 % à 78 %. [170]

Une autre caractéristique, la vitamine C possède une capacité antioxydante élevée, c'est-à-dire la propriété de bloquer l'action néfaste des radicaux libres. [171]

4.3.4 Vitamine D

Appartient au groupe des vitamines liposolubles, et provient de deux sources, animal (D) et végétale (D2). On précise la vitamine D2 : d'origine exclusivement végétale et synthétisée à partir de provitamine D (l'ergostérol), sous l'effet des rayons ultraviolets solaires, l'ergocalciférol est donc d'origine exogène uniquement. [172] [173]

Elles sont très peu nombreuses dans les aliments dans lequel ils contiennent naturellement des quantités significatives de vitamine D [168] telles que : le jus d'orange, la margarine, les huiles, les céréales, les champignons séchés au soleil, etc. [175]

Leur rôle est bien connu, elles participent à la croissance et la consolidation osseuse ainsi que la minéralisation des dents. Elle est indispensable au bon fonctionnement musculaire et neuronal, [176] et elles peuvent également interférer dans de nombreux processus pathologiques particulièrement infectieux. Lorsque les cellules sont exposées à la vitamine D, elles produisent des petites molécules qui aident à les protéger contre les infections bactériennes et virales. Exemple : l'élimination des bactéries par plusieurs peptides antimicrobiens tel que cathélicidine dépendant de la vitamine D. [177]

5. Les propriétés physico-chimiques des antioxydants

5.1 Phénols

Les phénols sont solubles dans les solvants organiques polaires, et aussi dans les solutions à forte base, prenant l'exemple de (NaOH, KOH), et du carbonate de sodium (NaCO₃). Les autres formes hétérosidiques sont aussi solubles dans l'eau.

Les phénols sont naturellement instables et très facile à être oxydés surtout dans les milieux alcalins, il s'isomérisent aussi dans les acides et dans les milieux alcalins ou sous les rayons UV. [92]

5.1.1 Les acides phénoliques

Ils peuvent être solubles par les hydrogénocarbonates.

5.1.2 Les flavonoïdes

Des composés solides cristallisés, dont la couleur change du blanc ivoire au jaune soie. Les flavonoïdes peuvent être facilement solubles dans l'eau en particulier l'eau chaude, dans l'alcool, dans les solvants organiques polaires et dans les solutions alcalines (ammoniacale ou potasse), en diffusant une couleur jaune, cette dernière ne peut plus être visible une fois dans un milieu acide. Les composés phénoliques sont incapables de se dissoudre dans les solvants organiques apolaires.

5.2 Les tanins

La couleur des tanins est brune verdâtre, odorante impossible d'être soluble dans les solvants organiques apolaires, prend une difficulté dans la résolubilisation dans l'eau froide contrairement dans l'eau chaude, les alcools et l'acétone.

Les tanins hydrolysables et les tanins condensés se caractérisent par leurs actions en milieu acide à chaud. [39]

5.3 Les vitamines

Chaque vitamine représente un groupe de composés organiques, de structure identique, et d'activités biologiques changeante, appelés vitamères. Les provitamines sont des précurseurs de vitamines, ce qui leur confère des propriétés physicochimiques différentes.

Selon la caractérisation de solubilité, il existe d'autres propriétés, on précise :

❖ **Vit A** : sont insolubles en milieu aqueux, mais solubles dans les solvants organiques, et extrêmement sensible à l'oxydation, cela est dû à la présence conjointe de la fonction alcool et de la double liaison. [178] Leur transport est réalisé par des protéines spécifiques

dans un milieu hydrophile. [179] Ils sont rapidement dégradés par la lumière, les rayonnements UV, et les acides, mais à l'abri de l'air, l'activité de la vitamine A est pratiquement conservée en dépit du chauffage. [180] Les provitamines A sont beaucoup moins fragiles.

- ❖ **Vit D** : La vitamine D2 ayant une masse molaire égale à 396.7, présente sous forme de poudre cristalline, de couleur blanche-jaunâtre, leur point de fusion est compris entre 82-88°C. Très soluble dans les solvants : l'éthanol, l'éther et le chloroforme, tandis que moins soluble dans les huiles et les graisses, et insoluble dans l'eau. Elle est stable à la chaleur et à une température de 38°C, mais sensible à la lumière, l'oxygène et l'acide. [181]
- ❖ **Vit C** : se présente sous forme de cristaux blancs, solubles dans l'eau et l'alcool ainsi dans les milieux aqueux, plus difficilement dans l'alcool et insolubles dans les solvants organiques, dans l'éther et le chloroforme. [182] [183] Elle est relativement altérée par l'oxygène et par les ions métalliques telles que : le cuivre, le fer, et très sensible à la chaleur. [184]
- ❖ **Vit B6** : présente sous forme de poudre cristalline blanche, résiste à la chaleur, à l'oxydation et aux acides. Elle est altérée de façon irréversible par les alcalins et la lumière, soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol, et insolubles dans diéthyléther et le chloroforme. [185]

6. L'intérêt antimicrobien des antioxydants

La plupart des plantes médicinales ont un spectre d'action très vaste contre une large gamme des microorganismes, dont les bactéries, les champignons, les levures, les virus et les protozoaires sont connue depuis l'antiquité. Cela est dû au fait que les plantes médicinales contiennent des agents thérapeutiques ayant une activité antimicrobienne telle que : les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, et les vitamines. [186] [187] Ces sources sont formées à la base d'inspiration de beaucoup d'applications, y compris pharmaceutiques, médicales et agro-alimentaires. [188] [189]

Au cours des dernières décennies, ce sujet a retenu l'attention des scientifiques, grâce à la possibilité d'acheter facilement des plantes médicinales et à leur sélection basée sur leurs utilisations en pratique traditionnelle. [190] Aussi, en raisons d'une augmentation remarquable du taux des infections causées par des microorganismes résistants aux antibiotiques, [191] les scientifiques ont entrepris plusieurs recherches qui ont confirmé que les extraits d'herbes ont

une activité contre les bactéries pathogènes d'origine alimentaire, [192] et donc sont considérés comme un remède alternatif des infections microbiennes. [193]

Toujours dans cet ordre d'idées, plusieurs travaux sont consacrés à étudier le pouvoir antifongique des plantes, en montrant que ces extraits participent à prévenir contre les champignons, sachant que les extraits méthanolique des fleurs et l'extrait chloroformique des fruits inhibent totalement la croissance mycélienne, [194] exemple d'un champignon phytopathogène : *Penicillium digitatum*. [195]

En effet et sans nul doute, les polyphénols et en particulier, les flavonoïdes sont indispensables, dont de nombreuses revues leur confèrent un rôle excellents dans la lutte contre les microorganismes et les champignons. En plus, des chercheurs scientifiques ont assuré que les flavanols issus de propolis ont également des impacts significatifs dans la lutte contre de nombreuses souches bactériennes, et de champignons phytopathogène [196] [197] [198] et surtout contre les dermatophytes et *Candida spp.* [199], *Aspergillus tamarii*, *A. flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*. [200] D'autres études ont marqué une inhibition de la croissance de *Pseudomonas carotovorum* par l'action d'extraits éthanoliques floraux de *Magnolia schiedam*, en présence du phénol. [201]

D'un autre côté, les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne [202], et logiquement qu'ils agissent comme des substances antimicrobiennes.

En ce sens, Les extraits phénoliques issus de *Ficus thonningii* Blum inhibent la croissance de *P. aeruginosa* et *Streptococcus spp*, et d'autres pathogènes. [203] Outre, *Ficus sansibarica* Warb. Subsp, du genre de *sansibarica*, riches en composants triterpènes et flavonoïdes, a montré une action antibactérienne contre *S. aureus* et une action antibiofilm, [204] et sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries gram positif ou négatif : *Escherichia coli* *Enterococcus faecalis*, *Entérobactérie cloacae*, *Heliotropium sinuatum*, *Proteus mirabilis* *Salmonella enterica*, etc. [205] [206] [207] [208]

Les virus capable de causer des pathologies très variées, dont certaines de ces maladies n'ont pas de solutions jusqu'à présent. Dans ce scénario, les chercheurs ont trouvé des médicaments à base des extraits de plantes utilisée pour traiter ces infections virales. Cependant, ces molécules bioactif doivent être en association avec des médicaments synthétiques pour fournir des effets antiviraux efficaces. Comme bon exemple, nous mentionnons coronavirus du SRAS (SARS-CoV) où la Chine a réussi à y remédier. [209] En effet, un chercheur a trouvé que les flavonoïdes inhibent l'activité d'ATP ase, [210] et

présente une activité inhibitrice contre virus de l'immunodéficience humaine (VIH), [211] dont ils inhibent la protéinase du VIH-1. [212] Plusieurs d'autres constituants naturels ayant des fonctions antivirales ont également été signalés par l'administration sanitaire : (des alcaloïdes, des terpènes, des polyphénols, et de saponines). [213][214]

7. Les effets des antioxydants sur la santé

7.1 Les effets bénéfiques

Comme toutes les recherches scientifiques le montrent, les antioxydants ont un impact bénéfique remarquable sur la santé. En plus de leurs rôles importants dans l'activité antimicrobienne, ils interviennent dans la protection du corps humain contre certaines maladies que soit banales ou mortelles.

Les polyphénols omniprésents en abondance dans les végétaux sont des antioxydants alimentaires avec de nombreuses vertus pour l'homme. Manger chaque jour des fruits et des légumes minimise le risque de l'exposition aux maladies chroniques et le cancer. [215]

Évidemment, pour le bien de notre santé il est nécessaire de consommer des vitamines. C'est une autre classe des antioxydants. Il est connu que les vitamines ne peuvent pas être synthétisées naturellement dans le corps humain, alors pour que l'homme puisse répondre à ses besoins vitaminiques, il doit chercher d'autres sources de ces micronutriments. Chacun d'eux joue un rôle précis et indispensable. Certaines vitamines retardent le vieillissement de la peau, d'autres stimulent et renforcent le système immunitaire, la vitamine A par exemple participe aux mécanismes de vision. [216] Ce n'est qu'une petite partie de l'ensemble des nombreuses fonctions dont jouissent les vitamines.

7.2 Les effets néfastes des antioxydants

Bien que les divers avantages des antioxydants, cela n'empêche pas qu'il existe des effets nocifs de ces substances sur la santé.

« *Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose fait le poison* » dit le médecin Paracelse. Ce qui explique que la mauvaise consommation des aliments ainsi que les compléments alimentaires riches en antioxydants peut entraîner des maladies graves (exemple : une forte dose en vitamine E augmente le risque du cancer de la prostate). [217]

8. Les solvants organiques

Un solvant est une substance qui possède la capacité de construire avec d'autres substances un mélange homogène. Anciennement, il était limité aux solvants organiques au point de vue industriel, c'est-à-dire qui porte en minimum une molécule organique dans la structure moléculaire. Cohr a défini le solvant organique par un composant chimique ou une solution liquide entre 0° c jusqu'à 200° C.

Approximativement, il est volatile avec une grande importance en chimie. La majorité des procédés réalisés par le solvant sont limités dans l'effectuation d'un processus, ou pour l'exécution d'une tâche, pour être ensuite évacué du procédé. Les solvants sont aussi appliqués pour extraire pour des fins industrielles chimiques, pétrochimiques, pharmaceutiques, et alimentaires. Il fait dissoudre par exemple le dégraissage et suspend la peinture, et les substances qui ne peuvent pas être solubilisée dans l'eau, il est impliqué aussi pour changer les propriétés physiques d'un matériau (par exemple : diluant).

8.1 Les propriétés physico-chimiques

Ces propriétés sont l'ensemble des caractères qui se lient à l'attitude environnementale de ces solvants, lié aussi aux dangers d'exploitation dans plusieurs domaines :

a. La densité

On peut définir la densité d'une substance par sa masse par l'unité de volume en système international, cette masse est déterminée par kg/m³, mais en pratique on utilise plutôt le g/cm³, (système CGS). Le poids spécifique d'un liquide est le rapport du poids d'un volume quelconque de liquide à 25° C au poids d'un volume égale d'eau à 4° C, les températures des références changent, et même le poids spécifique change sans unité. Toutes les substances qui portent un poids spécifique inférieur à l'unité sont plus légères que l'eau et flottent sur l'eau, en particulier les solvants halogénés. Par contre la majorité des solvants sont légers que l'eau donc les feux des solvants ne peuvent pas être éteints par l'eau. La densité des solvants détermine le mode de stockage et aussi le prix de vente des solvants.

b. Point d'ébullition

Le point d'ébullition est la température à laquelle la pression de vapeur du liquide devient égale à celle de la pression atmosphérique normale (101,3 KPa). On peut définir le point d'ébullition aussi par la température à laquelle le solvant passe de l'état liquide à l'état gazeux. Il permet également une première évaluation de la volatilité d'un solvant.

c. Paramètres de solubilité

Les deux chercheurs J.H Hildebrand, et C.M Hansen, ont mis en œuvre les paramètres de solubilité, le paramètre de solubilité est une mesure de force d'attraction entre les molécules d'une substance. Un solvant dissout d'une façon excellente le soluté lorsque son paramètre de solubilité est similaire ou proche à celui du solvant. Donc le paramètre de solubilité peut fractionner en trois parties : la composante de dispersion ou forces non polaires d'attraction intermoléculaire, la composante polaire, et la composante des ponts hydrogène.

d. Viscosité

La viscosité autorise l'estimation de la difficulté d'un fluide à s'écouler, le coefficient de viscosité dynamique est d'une façon simple défini par la force indispensable au mouvement d'une surface plane de liquide de 1 cm² avec une vitesse de 1cm/s, par comparaison à une autre dynamique, l'unité dans le SI pascale seconde (Pa-S). La viscosité est indispensable dans le choix du mode d'application, et le type de solvant.

8.2 Les principales familles des solvants

- Hydrocarbures
- Cétones
- Alcools
- Esters
- Glycols
- Ethers
- Hydrocarbures halogénés
- Éthers de [218]

8.3 La polarité des solvants

a. Solvants protiques et polaires

Les solvants protiques polaires possèdent la capacité de faire des liaisons H, avec un fort moment dipolaire et un fort pouvoir ionisant, miscibles à l'eau.

b. Solvants aprotiques et dipolaires

Ces solvants sont dépourvus de la capacité de faire des liaisons H, miscibles à l'eau avec une puissance et capacité d'ionisation, exemple : l'acétone

c. solvants aprotiques et apolaires

A l'instar des solvants aprotiques et dipolaires, ces solvants sont incapables de composer des liaisons H, et possèdent un peu moment dipolaire et presque sont non miscibles dans l'eau ex : hexane.

d. Solvants aprotiques et peu polaires

Les solvants aprotiques sont peu polaires, occupent également une classe médium, un peu moment dipolaire et incapable de faire une liaison H, exemple : l'éther. [219]

8.4 L'influence des solvants dans l'extraction des composés phénoliques

Les extractions font partie des méthodes les plus importantes et qui sont utilisées depuis la préhistoire par les égyptiens en appliquant la méthode d'enfleurage à froid ou à chaude. Cette dernière permet l'extraction du parfum des fleurs. [219] Actuellement l'extraction des principes actifs dépendamment des végétaux est une méthode efficace, parmi ces principes actifs : les composés phénoliques. La solubilité de ces composés est en fonction de leur nature chimique dans la plante elle-même, il y a des substances simples et il y a qui sont fortement polymérisés. La disparition des composés phénoliques donne naissance à la multitude de solvant utilisé ainsi les propriétés physico-chimiques d'extraction, on parle par exemple de de la solubilité des composés phénolique qui sont affectés par la polarité du solvant. [220] Donc, le solvant est le milieu où la réaction d'extraction s'effectue. L'efficacité des solvants dans l'extraction des substances est non circonscrite. Leur importance réside dans leur capacité d'extraire des substances sans faire des modifications chimiques dans leurs structures. Les propriétés physico-chimiques des solvants aident le pouvoir d'extraction entre autre :

8.4.1 La constante d'acidité

La constant d'acidité exprime la possibilité de solvant à établir des accouplements hydrogène, le solvant est appelé portique quand il est capable de produire une liaison hydrogène avec une molécule qui l'entoure. [219]

Chapitre 3 : l'activité antimicrobienne et les antibiotiques

1. Activité antibactérienne

1.1 Généralité sur les bactéries

Ce sont des micro-organismes procaryotes qui ne possèdent pas de vrai noyau mais un appareil nucléaire simplifié, d'une taille de l'ordre de un à quelque dizaines de microns, constituant d'un système nucléaire rudimentaire et d'une paroi contenant des mucopolysaccharide originaux, cette fonctionnalité les distingue des autres organismes supérieures tels que : champignons, algues, protozoaires. Elles ont été découvertes à la fin du XVII ème siècle par le naturaliste hollandais Anthony Van Leeuwenhoek, qui a inventé la microscopie. Certaines sont inoffensives, d'autres sont très pathogènes. Elles ont des propriétés antigéniques.

Les différentes espèces microbiennes croissent dans des conditions physico-chimiques et en fonction de la nourriture. Elles sont ubiquistes et peuvent-être mobiles ou immobiles (des sphères, des bâtonnets, des spirilles), vues seulement sous un microscope optique, à l'état frais ou après coloration tandis que les détails de leur structure ne sont visibles que sous un microscope électronique. Il existe deux type selon la structure biochimique qui sont établis par coloration de gram : les bactéries gram positif (+) et les bactéries gram négative (-), cette caractérisation conditionne fortement leur sensibilité aux antibiotique. [221] [222]

1.2 Activité antibactérienne

Autours des dernières années, l'augmentation des infections qui concerne un large éventail des microorganismes, constitue une sérieuse menace pour la santé publique et capable d'engendrer les différentes maladies les plus fatales et les épidémies les plus répandues et observées dans le milieu hospitalier qu'en milieu communautaire. Près d'un quart des morts dans le monde résultent de ces infections bactériennes, qui sont devenues le sujet du débat national et international. [223] [224] Cependant, le remède de ces infections se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui combattent d'une manière sélective, certaines voies métaboliques des bactéries. [225] Hélas, la prescription à grande échelle et la surconsommation de ces médicaments entraînent l'apparition des bactéries résistantes et multi résistantes, [226] [227] notamment les bactéries à Gram négatif, en raison de leur enveloppe cellulaire complexe et sophistiquée à deux membranes. [228] Cela indique l'importance du développement de nouvelles substances bioactives sûres, efficaces et plus fiables que les médicaments existants, des alternatives puissantes qui n'ont aucun effet secondaire. [229] [230] Compte tenu de ce qui précède, la MT a la possibilité de lutter contre

la résistance des médicaments, surtout à base des végétaux puisqu'ils constituent des substances qui à faible concentration inhibent et empêchent le développement des microorganismes ou les tue. Ils sont toujours constitués d'une source d'inspiration dans les recherches médicales. C'est l'un des défis les plus importants pour la santé populaire. [231] [232] [233]

1.3 Les critères de sélection des bactéries

L'OMS publie une liste de bactéries les plus dangereuses pour la santé humaine, ce qui pousse à orienter et promouvoir la recherche-développement des nouveaux antibiotiques pour lutter contre la résistance bactérienne. La sélection de ces derniers est basée sur certains critères, sont les suivants : le taux de mortalité en raison des infection bactériennes, dont le temps nécessaire pour combattre les bactéries à l'hôpital est assez long, combien de fois a-t-elle pu résister contre les antibiotiques lorsque la population locale en est atteinte, la facilité et la rapidité de sa propagation entre les animaux, de l'animale à l'être humain et d'une personne à l'autre, la possibilité de prévenir sa multiplication sans recourir aux antibiotique, uniquement par la vaccination et la bonne hygiène, combien d'options thérapeutique restent, de nouvelles découvertes thérapeutiques ont-elles été faites pour les attraper? Ou sont-elles incluses dans la recherche thérapeutique et médicinale? [234]

1.4 Mécanismes d'action antimicrobiens des composés phénoliques

De plusieurs étude ont démontré que les composé phénolique notamment les flavonoïdes et les tanins sont doué d'une activité forte contre les agents pathogènes (bactérie G +et G -), probablement et en fonction de leur structure chimique, qui reflète la disparité entre les différentes classe où les phénols simples (des acides phénoliques et des flavonoïdes), ont un mécanismes d'action relativement bien connus, contrairement aux autre molécules qui sont capable de provoquer des effets néfastes sur d'autres fonctions physiologiques. [235]

Chaque bactérie possède une réponse différente face à ces derniers composés, on peut donc sélectionner de multiples modes d'actions:

1.4.1 Intercalation dans la membrane bactérienne

Les composés phénolique notamment les flavonols ciblent les phospholipides de la membrane bactérien en raison de leur hydrophobie et pouvant donc exercer leur activité antibactérienne à l'intérieur de la cellule, dans laquelle certains ont la capacité de pénétrer, l'entré des molécules telle que le carvacrol, crée un grand espace entre les chaînes d'acides

gras des phospholipides. En même temps, il est suivi d'une augmentation de la fluidité de la membrane et des fuites de protons et d'ions potassium, une diminution du gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique, et blocage de la synthèse d'ATP, et donc entraînant des changements de conformation et éventuellement un manque de régulation de la membrane cellulaire, ce qui perturbe ainsi le transport membranaire des substances nutritives. Et enfin la mort des cellules bactériennes, [236] [237] il a été montré que les composés phénoliques peuvent agir en chélatant le fer, ce qui est important pour la survie de nombreuses bactéries, Ils travaillent également avec des non spécifiques forces, produisant un effet sur les membranes microbiennes, les adhésines, les enzymes et le transport de l'enveloppe cellulaire, les polyphénols peuvent également induire des changements irréversibles sur déférent bactéries telle que *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* ont provoquant la rupture et la formation de pores avec fuite de constituants intracellulaire. De plus, les polyphénols inhibent la motilité bactérienne par la perte de flagelles , et ils peuvent inhiber la formation de biofilms [238] ces événements s'appliquent également à d'autres composés : les phénols simples [239], les flavan-3-ols [240], les tannins (les proanthocyanidines, les gallotannins et les ellagitannins) par une actions directes sur le métabolisme microbien par le criblage des micronutriments minéraux essentiels en particulier de fer et de zinc, a ce sens les flavan-3-ols ,a inhibé la croissance in vitro de plusieurs espèces bactériennes, comme *Vibrio cholera*, *Streptococcus mutants*, *Campilobacter jejuni*, *Clostridium perfringes* et *Escherichia coli* car il a diminué certains facteurs de virulence tels que la formation de biofilms et les bactéries motilité de l'essaim. [237]

Lors de leur intercalation dans la membrane, les composés phénoliques peuvent aussi perturber fonctionnement des protéines membranaires en raison de leur interaction avec elles, qui est présente sur la paroi cellulaire bactérienne, sont connues pour se complexer de manière irréversible, conduit souvent à leur inactivation et à une perte de fonction, Protéines d'adhésines exposées en surface, polypeptides de la paroi cellulaire et les enzymes liées à la membrane telles que l'ATP ase, sont les principales cibles de ces composés, ce qui perturberait le métabolisme énergétique. et donc inhibition de la croissance microbienne. [241] [242]

1.4.2 Pénétration des composés phénoliques jusqu'au cytoplasme

Certains composés phénoliques, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, peuvent traverser les limites de la membrane jusqu'au cytoplasme.

1.4.3 Acidification du cytoplasme

Les acides phénoliques sont caractérisés par leur aptitude d'agir comme des acides faibles, et entraînent une altération des fonctions enzymatiques et/ou des molécules structurales ainsi qu'une perte d'énergie nécessaire à l'efflux des protons et donc inhibition de la croissance microbienne. [243]

1.4.4 Perturbation du métabolisme

Spécialement on parle des flavonoïdes, qui provoque la perte d'équilibre de la membrane à partir de l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques et du métabolisme énergétique, en raison de l'inactivation des enzymes clés pour la synthèse de l'ADN telles que la topo-isomérase et/ou de la dihydrofolate réductase. [244]

- **Autre propriété**

Les composés phénoliques sont impliqués dans la modulation immunitaire, où nous les trouvons dans l'immunité innée. Leur rôle est l'amélioration de l'activité phagocytaire des macrophages, et donc la capacité de tuer les agents pathogènes intracellulaires, aussi ils sont impliqués dans l'immunité acquise par la stimulation cellulaire qui entraîne la sécrétion d'IFN γ et améliore le fonctionnement des cellules présentant l'antigène (macrophage et cellule dendritique) conduisant à une stimulation supplémentaire de la réponse immunitaire et enfin la morts des cellules microbienne. [241]

2. Notion bactériostatique et bactéricide

2.1 Notion bactéricide

Le mot bactéricide se définit comme étant une substance chimique ayant un effet mortel sur les bactéries. Il appartient aux différents groupes tels les microbicides, les anti-infectieux et les désinfectants. Le lysozyme par exemple se classe parmi les agents bactéricides de la salive, des larmes et du mucus, et lutte contre la multiplication des bactéries au niveau de muqueuse du nasopharynx en menant à leur mort. Autrement dit, toute substance capable de tuer les bactéries pathogène est une substance bactéricide dont sa particularité est similaire de celle des antibiotiques. [245]

De nombreuses plantes comme l'ail, l'Aloe vera et la cannelle se caractérisent par leurs effets bactéricides qui limitent les dangers liés aux bactéries pathogènes. Prenant l'exemple de l'ail qui est non seulement un antibiotique naturel capable de tuer les bactéries, les virus et les champignons mais aussi il se considère comme un stimulant efficace du système immunitaire. Leur capacité de soigner les multiples maladies et infections telles que l'herpès, l'eczéma, le rhume et même l'ulcère de l'estomac le rend très puissant et encore mieux qu'un antibiotiques. Grâce à toutes ses vertus, l'ail reste toujours un aliment important dans la cuisine. [246]

2.2 Notion bactériostatique

Un agent bactériostatique contribue à une bactériostase, c'est-à-dire les bactéries pathogènes ne vont pas être tuées mais leur multiplication va être inhibée, donc elles n'auront plus la capacité de se croître même si elles restent en vie. Bien qu'un effet bactériostatique se diffère pratiquement d'un effet bactéricide, les concentrations très élevées des substances bactériostatiques permettent l'élimination définitive des bactéries pathogènes, et c'est le cas des agents bactéricides (à faibles doses, une substance bactéricide agit autant qu'une substance bactériostatiques.) [247]

Le curcuma, épice naturelle consiste à un large spectre de composants inhibiteurs de la croissance des microorganismes. Son action bactériostatique aide à abaisser le taux du cholestérol et celui du triglycéride et stimuler la formation d'enzymes qui luttent contre le cancer. La consommation d'une quantité précise du curcuma régulièrement peut traiter l'arthrose naturellement sans avoir recours aux antibiotiques synthétiques qui ont des effets secondaires. [248] [249]

3. L'activité antifongique

3.1 Généralité sur les champignons

Le nom champignon ou Fungi (nom latin) comprend une large gamme des organismes eucaryotes, hétérotrophes et ubiquitaires ayant une forme structurelle que soit unicellulaire, ou filamenteuse isolée ou agrégée. [250]

En revanche des anciennes études qui ont classé les champignons parmi les végétaux, ils appartiennent aujourd'hui au règne des Fungi. Ils sont caractérisés par leur résistance aux conditions défavorables, leur mode de vie se base sur la matière organique, ce qui leurs oblige de survivre comme étant des saprophytes, des parasites ou en symbiose. Les différents types

des champignons se résument selon la température en : champignons mésophiles qui poussent à 25°C et en thermophiles qui poussent à 37°C. [250] [251] [252]

Ils sont constitués d'une paroi cellulaire, d'un appareil végétatif nommé mycélium qui se diffère d'un champignon à l'autre, ils sont dépourvus de racines et de feuilles, leur mode de reproduction peut être sexué ou asexué. [253]

Les levures font partie des champignons microscopiques constitués d'un thalle unicellulaire. Ce sont parmi les composants de la flore digestive de l'être humain, certaines d'entre elles rassemblent des sources essentielles pour une vie saine telles que les protéines, les vitamines, et les oligo-éléments. Cependant, il existe des champignons pathogènes qui affectent la santé humaine en causant des infections et des maladies très graves. A titre exemple, la levure « *Candida albicans* » la cause majeur de l'infection candidose. [250] [254] [255]

3.2 Activité antifongique

L'émergence des champignons pathogènes augmente le risque des infections fongiques ou mycoses qui peuvent toucher l'être humain entraînant également de nombreux dégâts sur sa santé. Tout d'abord il est nécessaire de connaître les différents types des mycoses, elles sont classées selon le site d'infection en : infections superficielles, cutanées, sous-cutanées et systémiques. [256]

La similarité structurelle entre les cellules fongiques et les cellules mammifères a posé un sérieux problème lors de la découverte des agents antifongique, mais comme tout le monde le sait, il n'y a pas de maladies sans médicaments. La première découverte des antifongiques était au milieu du XX siècle, ils sont considérés comme des agents chimiques spécifiques, et responsables de traiter et d'éliminer les champignons pathogènes, leur diversité en fonction du mode d'action les divise en cinq types : les polyènes, les flucytosines, les azoles, les echinocandines, et les griséofulvines. [257] [258] [259]

Parmi les organismes vivants, les plantes sont les plus vulnérables aux attaques fongiques, ce qui les incite à produire un nombre assez important des fongicides. Les agents antifongiques d'origine végétale visent principalement les membranes cellulaires en perturbant leur intégrité. Les plus intéressants sont les terpènes et terpénoïdes, les saponines, les composés phénoliques et les alcaloïdes.

Commençant par les terpènes et terpénoïdes qui grâce à leur pouvoir d'empêcher la transmutation de certaines espèces du genre *Candida spp* d'une forme unicellulaire moins virulente à une forme filamenteuse plus virulente, se classent parmi les principaux antifongiques. [260]

La destruction de la membrane cellulaire des espèces du genre *Trichoderma* est due à la formation des complexes par l'interaction des fongicides appelés saponines avec le cholestérol et l'ergostérol. [261]

Les composés phénoliques semblent être des agents majeurs de protection contre les infections fongiques du fait de leur structure, provoquant ainsi la destruction membranaire de certains champignons pathogènes. [262]

Les alcaloïdes sont des composés chimiques issus d'une source naturelle qui ont une excellente activité antifongique comme les études l'ont montré vis-à-vis de certaines souches de *Candida*. [263]

En effet, Les composés d'origine végétale présentent le plus souvent un impact positif et bénéfique sur les organismes vivants.

4. Les antibiotiques naturels

La nature contribue à créer un environnement propice à la production des plantes médicinales. Ce genre de plantes constitue en abondance des substances ayant des activités biologiques y compris des activités antibiotiques.

« Antibiotique naturel », une phrase composée de deux mots dont le premier terme qui s'explique comme étant un agent capable d'éliminer les microorganismes pathogènes, ou de retarder leur croissance, est accompagné avec le mot « naturel » montrant la source d'où vient cet antibiotique, qui fait partie de la médecine traditionnelle. [264]

Du passé au présent, les traitements d'origine végétale représentent toujours une excellente source, 100% naturelle pour soigner avec moins d'effets secondaires. Selon le médecin généraliste Dr Jean-Claude Lapraz : « *La phytothérapie permet de traiter au moins 80 % des maladies du quotidien* ». [265]

Peu importe la qualité des médicaments synthétiques, ils doivent être pris avec parcimonie par crainte des effets indésirables et du risque de résistance. Ce qui fait, les remèdes naturels restent les meilleurs à appliquer.

5. La concentration minimale inhibitrice (CMI)

Il s'agit de la plus faible concentration des extraits pour laquelle la croissance bactérienne est inhibée de (99.9%) après 18 à 24 heures de contacts à 37 degrés, et permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'antibiotique ou l'extrait testé. [266]

Partie expérimentale

Chapitre 1 : matériels et méthodes

Lieu du travail

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Génie microbiologique et Applications de l'université 1 Les Frères Mentouri de Constantine.

Le but de ce travail est d'extraire et d'identifier la composition chimique des extraits obtenus via les feuilles de *beta vulgarise*, et de connaître leurs rôles antioxydants et antimicrobiens.

1. Le matériel végétal

La présente étude a été réalisée sur les feuilles de *beta vulgarise* qui est considéré comme un légume médicinal, les feuilles de cette espèce "la partie aérienne" sont récoltées dans la wilaya de Constantine sous la supervision d'un doctorant de notre laboratoire. Les échantillons des jeunes feuilles de cette espèce ont été nettoyés, lavées avec de l'eau distillée et séchées à l'ombre pendant deux semaines à température ambiante.

Nous avons choisi cette technique pour préserver les propriétés médicinales de ces produits, car les feuilles vertes subissent des transformations chimiques, sous l'influence des ultraviolets, où leur couleur vire vers le jaune, ainsi pour éviter les réactions enzymatiques et les contaminations par les microbes. Après cette opération, les feuilles sèches ont été pulvérisés et réduites en poudre fine à l'aide d'un mortier traditionnel, et sont conservées à l'abri de la lumière, air, dans un milieu étanche "flacon en verre", et enfin mises dans le frigo à température 4°C, parce qu'elles sont riches en produits volatiles qui s'oxydent rapidement. Cette poudre est ultérieurement utilisée pour la préparation des différents extraits.

2. Extraction

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Varié selon la méthode d'extraction choisie et en fonction des composés photochimiques à étudier. Cette méthode est influencée par des facteurs comme le pH, la température, le rapport quantité de matière au volume du solvant, les intervalles de temps. Le nombre et les étapes d'extractions individuelles jouent également un rôle important dans cette procédure. L'extraction liquide - liquide et/ou solide-liquide sont les procédures les plus couramment utilisées. En effet, ces techniques sont faciles à utiliser, très efficaces et se caractérisent par leur conservation de la masse, et la concentration partagée entre le soluté et le solvant. [167] [168] Outre, elles peuvent être largement appliquées. Les solvants d'extractions les plus communément utilisés sont les alcools, l'acétone, le méthanol.

Cependant, les composés très polaires tel que les acides phénoliques (benzoïque, cinnamique) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs. Les mélanges d'alcool eau ou acétone-eau sont recommandés. Les solvants moins polaires (dichlorométhane (DCM), chloroforme, hexane, benzène) sont utilisés pour extraire les composés apolaires (cires, huiles, stérols, chlorophylle...), l'acétate d'éthyle pour l'extraction des mono-glycosides, le n-butanol pour la solubilisation des di- et les tri-glycosides [269]. Les extractions se répéteront deux à trois fois et les extraits seront ensuite combinés.

Dans notre travail nous avons utilisé la méthode d'extraction par Soxhlet solide/liquide.

2.1 Extraction par Soxhlet :

Il s'agit d'une extraction solide liquide. L'extracteur de Soxhlet permet le traitement des solides de toutes tailles, avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps d'extracteur alimenté par réfrigérant (Soxhlet), contient un support de cartouche qui se remplit d'un solide, et se fixe sur un réservoir du solvant (ballon). Les solvants se vaporisent puis se condensent, et restent en contact avec le solide. La solution se soutire périodiquement par l'amorçage d'un siphon, et celle du ballon s'enrichit petit à petit en soluté et le solide se met donc en contact avec un solvant fraîchement distillé. (**Figure 15**) [270]

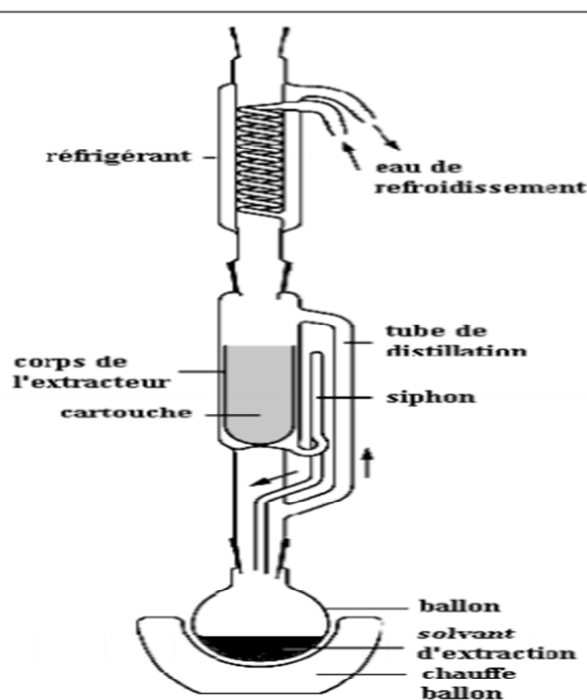


Figure 15 : dessin illustratif du Soxhlet [270]

2.2 Les avantages et les inconvénients du Soxhlet

Les avantages de ce type d'extraction résident au solvant condensé qui s'accumule dans un réservoir à siphon. Cette particularité améliore et amplifie la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Lorsque le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Cette méthode permet une meilleure extraction des composés polaires et apolaires. [271]

Les solvants utilisés dans le Soxhlet permettent de bien sélectionner les molécules avec une chaleur latente de vaporisation évaporation facile et un coût énergétique limité. [272]

Ce type d'extraction peut présenter aussi quelques inconvénients. Elle peut être indispensable de réaliser plusieurs extractions successives avec plusieurs cartouches, ce qui peut prendre un temps énorme, elle nécessite des particules de petite taille, elle provoque la toxicité des solvants en fonction des molécules à extraire, elle requiert un plus grands volume des solvants organique. Le principal inconvénient est la nécessité de chauffer les solvants jusqu'à leur point d'ébullition pendant l'extraction, ce qui peut entraîner la dégradation des molécules thermosensibles. Cette technique est limitée d'un point de vue de la sélectivité du solvant, en montrant les difficultés d'utilisation du mélange des solvants et d'être automatisables. [273]

3. Préparation de l'extrait brut

Dans notre laboratoire de Génie Microbiologique et Application, la méthode d'extraction des principes actifs que nous avons adoptés est l'extraction continue solide liquide à l'aide d'un extracteur Soxhlet, cette dernière est décrite par Kapseu et Parmentier [274].

Une fois les solvants choisis par rapport à leur polarité : n-hexane → chloroforme → acétate d'éthyle → n-butanol → aqueux, du solvant apolaire, moyennement polaire jusqu'au solvant très polaire, nous avons commencé la technique d'extraction par Soxhlet selon le protocole suivant :

Tout d'abord, nous avons pesé **40 g** de la matière végétale broyée à l'aide d'une balance de précision, puis la mise dans une cartouche en papier-filtre épais (Wattman N°4, qui contient une matière perméable aux solvants), et placée la cartouche dans le Soxhlet. Ensuite, nous avons rempli le ballon de cet extracteur avec **400 ml** du solvant commençant par n-Hexane, un solvant apolaire. Puis, nous avons attendu que le ballon soit bien chauffé jusqu'à

ébullition, pour que le solvant puisse bien extraire. Le transfert de vapeur de ce dernier à travers le tube adducteur, du chaud au froid a résulté un choc thermique, ce qui a permis la condensation des bulles du solvant utilisé au niveau de réfrigérant qui se sont écoulé par la suite dans la cartouche. Le solvant condensé s'est accumulé dans le haut du tube-siphon, provoquant également son retour dans le ballon, accompagné par des substances extraites de la matière végétale. Ce processus a été répété plusieurs fois pendant 4 heures afin de bien extraire, et le solvant contenu dans le ballon s'est enrichi donc progressivement en composés solubles. (**Figure 16**)



Figure 16 : extraction par Soxhlet (prise personnelle)

Une fois le temps précis achevé, nous avons pris la cartouche qui contient la matière végétale et la mise dans l'étuve pour se sécher, ensuite nous avons mis le solvant dans un autre appareil qui s'appelle rotavapor, (**Figure 17**) pour faire la séparation du solvant de l'extrait brut. Dans cet appareil, nous avons réalisé une évaporation sous vide, par une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation du solvant, le ballon est mis en mode de rotation dans un bain liquide chauffé. L'appareil contient un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat, la rotation du ballon a créé une surface d'échange renouvelée pour une évaporation rapide. L'évaporation du premier solvant est faite à une température

stable 40° c pendant 4h. Après évaporation, nous avons pris l'extrait et le mis dans l'étuve jusqu'à ce qu'il sèche. Nous avons appliqué les mêmes étapes précédentes sur les solvants restants dans les mêmes conditions.

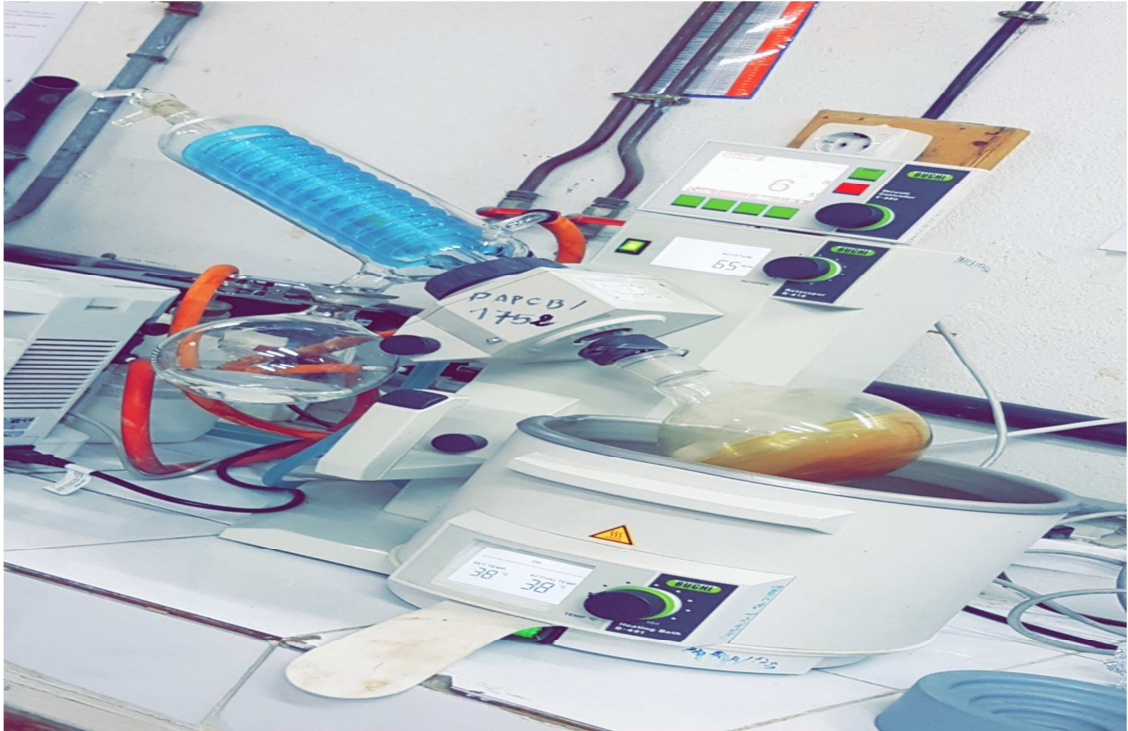


Figure 17 : rotavapor (prise personnelle)

4. Détermination de l'activité antimicrobienne

4.1 Stérilisation du matériel

Dans la partie microbiologique, nous avons besoin non seulement de la propreté, mais aussi de respecter les conditions d'asepsie et de stérilisation. C'est pour cette raison nous avons enrobé le matériel utilisé suivant, dans un papier aluminium, et le stérilisé dans un autoclave à 121 °C : l'eau distillé, les boite de pétri en verre, les anses des platines, les pince, les embouts pour micro pipette, pipette graduée, pipette pasteur, les tubes à essai utilisés pour la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman N°1 (6 mm de diamètre).

4.2 Préparation des solutions des extraits

Première étape : nous avons pesé **100 mg** de chaque extrait sec et mis chacun d'eux dans un eppendorf contenant **1 ml de DMSO** en utilisant le vortex, afin obtenir une solution mère homogène pour faire plusieurs dilutions.

- **50 mg** seulement pour l'acétate d'éthyle en raison de sa petite quantité.
- Pour l'extrait aqueux, il a été solubilisé dans **1 ml d'eau distillée**

Deuxième étape : nous avons préparé quatre eppendorfs pour chaque extrait dont tous les eppendorfs sont rempli par **1 ml de DMSO**. Le premier est pour la solution mère, le deuxième pour la première dilution et ainsi de suite. La concentration de la solution mère de chaque extrait est égale à 100 mg/ml sauf pour l'acétate d'éthyle (50 mg/ml). Pour faire diluer les extraits, nous avons pris 1ml de la solution mère du premier extrait et le mis dans le deuxième eppendorf en utilisant le vortex pour avoir une solution homogène, puis nous avons répété ce processus deux fois pour avoir au final une solution mère + trois dilutions.

- Trois eppendorf pour l'acétate d'éthyle (solution mère + deux dilutions)
- Nous avons appliqué les mêmes étapes sur les extraits restants.

Tableau 1 : les différentes concentrations des dilutions de chaque extrait

Extrait/ concentration (mg/ml)	n-Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-Butanol	Eau
Solution mère	[100]	[100]	-	[100]	[100]
Dilution 1	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
Dilution 2	[25]	[25]	[25]	[25]	[25]
Dilution 3	[12.5]	[12.5]	[12.5]	[12.5]	[12.5]

4.3 Les souches bactériennes testées

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée sur cinq bactéries et deux champignons (ATCC). Les souches bactériennes et fongiques proviennent du Laboratoire de Génie Microbiologie et Application, Université des Frères Mentouri Constantine.

- Les bactéries à gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC® 6538 (Tm), *Bacillus pumilus* ATCC® 14884).

- Les bactéries à gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 9027, *Escherichia coli* ATCC® 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC® 14028).
- Les champignons : *Candida albicans* ATCC® 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC® 16404.

4.3.1 Repiquage des souches testées

Dans des conditions stériles, à partir des boîtes de conservation, nous avons pris 2 à 5 colonies isolées et représentatives de la souche testée à l'aide d'un écouvillon stérile, et nous avons étalé par la méthode des stries serrés sur des boîtes de pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches microbiennes utilisées (le milieu **PDA** pour les champignons et **gélose nutritive** pour les bactérie), puis avons incubés à 37°C pendant 24 heures les bactéries et de 48h à 72h la levure, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées et représentatives. Il est possible de poursuivre la culture et le repiquage des souches à partir de ces boîtes fraîchement obtenues.

4.4 Préparation de l'inoculum bactérien

Après 24 heures d'incubation des souches testés, nous avons pris de 1 à 2 colonies en phase de croissance exponentielle de chaque souche, bien isolées et parfaitement identiques, à l'aide d'une anse de platine, puis cette dernière est mise dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile 0.9% Na Cl, et enfin nous avons homogénéisé les tubes avec un vortex de telle manière à obtenir une densité optique comprise entre 0.1 à 0.2 pour une longueur d'onde de 620 nm (approximativement 10^6 CFU/m).

4.5 Préparation des milieux de cultures

L'étape suivante réside dans la préparation des milieux de cultures pour tester l'activité antibactériennes des extraits utilisés sur les souches obtenues. Nous avons coulé le milieu Mueller Hinton dans des boîtes de pétri (4 mm d'épaisseur) pour les souches bactériennes et Sabouraud pour la levure étudiée, et les laissés sécher.

4.6 L'ensemencement

A l'aide des écouvillons stériles pénétrés chacun d'eux dans les différentes suspensions bactérienne/levure (l'inoculum), nous avons ensemencé des boîtes de Mueller Hinton et de Sabouraud par la méthode des quatre quadrants puis les incubés à 37°C.

5. Essais antibactériens

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits des feuilles de *beta vulgarise* : la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier whatman N°1 et la méthode des puits sur un milieu solide.

5.1 La méthode de diffusion des disques

5.1.1 Test de sensibilité "antibiogramme comparatif"

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos l'extrait obtenus "témoin positif".

Nous avons pris pour chaque souche, une boîte ensemencée et avons déposé sur sa surface les quatre antibiotiques à tester (Gentamicine 15µg, Céfotaxime 30µg, Acide nalidixique 30µg et Kanamycine 30µg).

Tableau 2 : tableau illustratif des diamètres critiques des disques antibiotiques testés.

[275]

Disque antibiotique	Gen	Ctx	NA	K
Diamètre critique	>16 <14	>21 <15	>20 <15	>18 <15

5.1.2 La méthode de diffusion des disques des extraits "antibioaromatogramme"

La technique de diffusion en milieu gélosé, est l'une des plus vieilles approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, connue sous le nom de "la méthode des disques". C'est une technique manuelle réalisée selon plusieurs chercheurs, parmi eux : Sourabi en 2010. [276] Un milieu de Mueller-Hinton et un inoculum standardisé sont nécessaires à la réalisation de cette technique.

Les disques des papiers Whatman N°1 ont été découpés avec diamètre égale à 6 mm, puis stérilisés dans une boîte en verre, ils ont été ensuite imprégnés par une micropipette

remplis par 25µl des différentes concentrations des cinq extraits. Nous avons également préparé un disque témoin négatif de DMSO.

Les disques préparés sont déposés à l'aide d'une pince stérile, sur la surface des milieux qui sont déjàensemencés. Chaque disque signifie une concentration de l'extrait utilisé. Le disque témoin est mis au centre de la boîte. Les boîtes sont ensuite conservées pendant 12h à 4° C, puis incubées à 37°C pendant 18h-24h pour les bactéries et à 28°C pendant 48h pour la levure.

- Trois disques de chaque extrait obtenu pour chaque souche étudiée

5.2 La méthode des puits

Cette technique a été effectuée pour déterminer la résistance des bactéries, selon la méthodologie de Sourabi en 2010. [276] La méthode des puits consiste à faire un trou circulaire de 7 mm de diamètre dans les milieux de Mueller Hinton et Sabouraudensemencés par des bactéries/levure utilisées à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Nous avons préparé 4 puits pour chaque souche dont 3 puits sont remplis par 25 µl des trois concentrations (50, 25, 12.5) de chaque extrait et le quatrième par 25 µl de DMSO comme un témoin, à l'aide d'une micropipette stérile, les boîtes ont été incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24 h.

Chapitre 2 : résultats et discussion

1. Résultats :

Après incubation des cultures microbiennes, les zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques et celles des extraits préparés ainsi des puits, ont été mesurées et mentionnées dans les tableaux suivants :

- Test de sensibilité par des disques antibiotiques :

Tableau 3 : tableau illustratif de résistance/sensibilité des souches aux disques antibiotiques.

Souches Disque antibiotique	Zone d'inhibition				
	Test positif				Test négatif
	Gentamycine	Céfotaxime	Acide nalidixique	Kanamycine	DMSO
<i>S. aureus</i> ATCC® 6538	17mm	20mm	10mm	17mm	-
<i>S. typhimurium</i> ATCC® 9027	21mm	34mm	25mm	18mm	-
<i>B. pumilus</i> ATCC® 14884	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC® 8739	17mm	26mm	21mm	17mm	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 9027	20mm	24mm	13mm	9mm	-

La bactérie *S. aureus* ATCC® 6538 présente une sensibilité remarquable vis-à-vis tous les antibiotiques testés, à l'exception de l'acide nalidixique, son efficacité est très faible, cela rend la souche résistante.

La souche *S. typhimurium* ATCC[®] 9027 est très sensible par rapport à tous les antibiotiques testée, les zones d'inhibition sont apparue très claire, notamment pour les deux antibiotiques NA et Ctx,

Le même cas pour *E. coli* ATCC[®] 8739, la sensibilité est remarquable par rapport à tous les antibiotiques.

La dernière souche *P. aeruginosa* ATCC[®] 9027 est sensible aux **Gen** et **Ctx**, et résistante devant l'antibiotique **NA** et **K**. (Figure 18)

Par rapport à la souche *B. pumilus* ATCC[®] 14884, aucune zone d'inhibition a été marquée.

Tous les résultats sont négatif vis-à-vis DMSO.

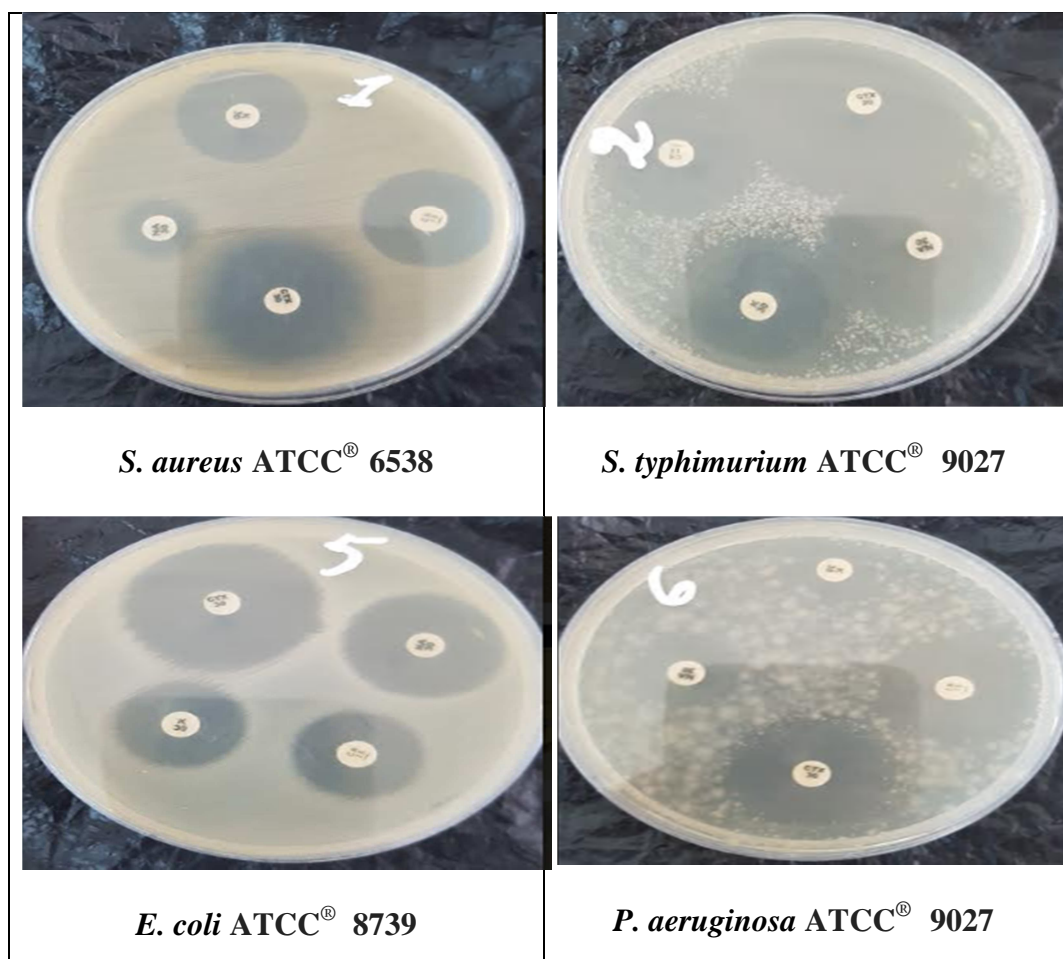
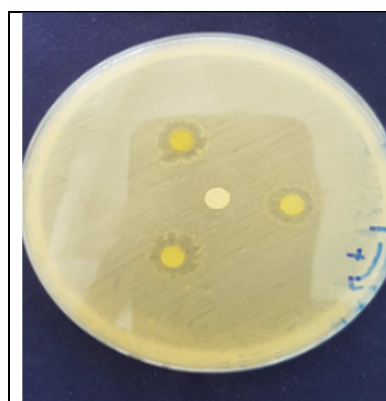


Figure 18 : photo réelle de sensibilité de deux souches aux disques antibiotiques testés

➤ Méthode de diffusion :

Tableau 4 : tableau illustratif de résistance/sensibilité des souches aux disques des extraits.

Souche	Zone d'inhibition								
	n-Hexane			Chloroforme			Acétate d'éthyle		
	[12.5]	[25]	[50]	[12.5]	[25]	[50]	[12.5]	[25]	[50]
<i>S. aureus</i> ATCC® 6538	12mm	14mm	14mm	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i> ATCC® 9027	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. pumilus</i> ATCC® 14884	-	-	-	9mm	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC® 8739	-	7mm	9mm	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 9027	11mm	11mm	-	-	-	-	-	-	-



S. aureus ATCC® 6538



E. coli ATCC® 8739



P. aeruginosa ATCC® 9027

Figure 19 : photo réelle de sensibilité des trois souches aux disques de n-hexane.

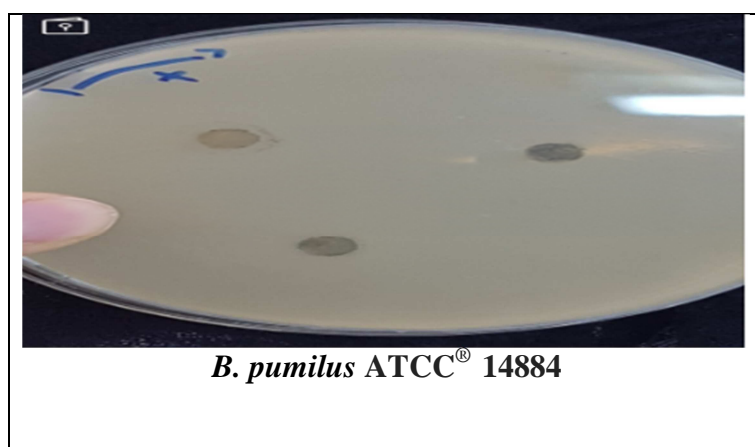


Figure 20 : photo réelle de sensibilité de *B. pumilus* ATCC® 14884 aux disques de chloroforme

➤ Méthode des puits :

Tableau 5 : tableau illustratif de sensibilité de *S. aureus* ATCC® 6538 à l'acétate d'éthyle par méthode des puits

Souche Extrait []		Zone d'inhibition		
		Acétate d'éthyle		
		[12.5]	[25]	[50]
<i>S. aureus</i> ATCC® 6538		16mm	12mm	10mm

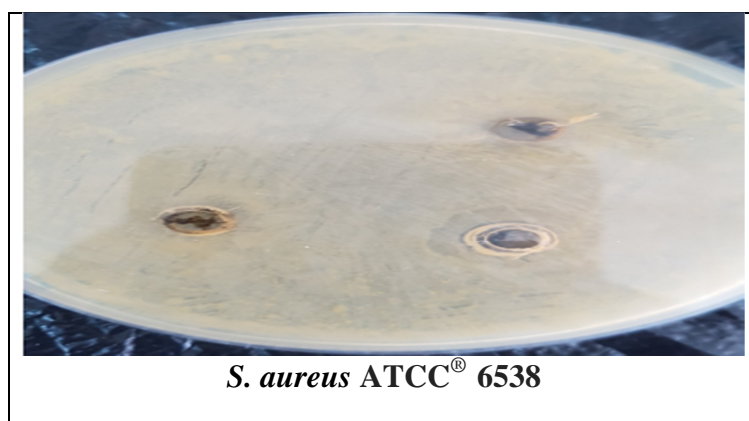


Figure 21 : photo réelle de sensibilité de *S. aureus* ATCC® 6538 à l'acétate d'éthyle par méthode des puits

La méthode de diffusion des disques des extraits nous a permis de déterminer l'action des extraits de la plante sur les différentes souches. Plusieurs zones d'inhibition sont apparues autour certains disques d'extraits.

Les diamètres des zones d'inhibition se diffèrent d'une bactérie à une autre et d'une concentration d'un extrait à autre.

Tous les extraits ont présenté une efficacité devant les bactéries, au moins une zone d'inhibition pour chaque bactérie, à l'exception de l'extrait d'Acétate d'éthyle qui n'a rien marqué.

Absence totale des zones d'inhibition chez la souche *S. typhimurium* ATCC® 9027. Donc, elle se révèle la plus résistante pour tous les extraits.

Pour la méthode des puits, apparition des zones d'inhibition chez la souche *S. aureus* ATCC® 6538 en présence de l'extrait acétate d'éthyle, et absence totale de ces dernières chez les autres souches testées vis-à-vis cet extrait.

La même observation pour les extraits restants, dont aucune zone d'inhibition n'a été marquée sur les autres souches utilisées.

La présence des zones d'inhibition peut prouver que *Beta vulgaris* possède des propriétés antibactériennes.

Les diamètres des disques des antibiotiques synthétiques dépassent ceux des disques des extraits utilisés.

Selon Toty en 2013, les extraits dont la zone d'inhibition a un diamètre supérieur ou égal à 10mm, sont sélectionnés pour déterminer la CMI et la CMB par la méthode de contact direct en milieu liquide. [277]

2. Discussion

L'absence des zones d'inhibition chez certaines souches peut signifier la variation de la composition chimique de chaque extrait ainsi celle de type des bactéries et leur sensibilité vis-à-vis l'extrait.

La résistance des souches aux extraits "substances naturelles" peut être due à la différence de structure de paroi cellulaire entre les bactéries G + et G -. En effet, les bactéries G - sont résistantes, dont elles possèdent une membrane externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, en la rendant imperméable aux substances de nos extraits. Par contre les bactéries G + sont les plus sensibles. [278] La bactérie *S. typhimurium*, une bactérie G- n'a marqué aucune sensibilité par rapport aux extraits utilisés, cela confirme cette théorie.

Les résultats comparatifs entre nos extraits et les disques des antibiotiques synthétiques confirment l'existence du pouvoir antibactérien des feuilles de *beta vulgaris*. Cependant, l'écart des diamètres des zones d'inhibition entre les deux peut être dû à la nature des substances des extraits qui sont pures et naturelles, ainsi à la quantité prise pour chacun d'eux.

Les méthodes de diffusion des disques des extraits ainsi celles des puits doivent être répétées deux à trois fois pour confirmer la présence ou l'absence de l'activité antibactérienne des extraits utilisés.

Le choix et le rendement des solvants peuvent être des critères importants. Les extraits qui ont donné des rendements bien évidents, comme n-hexane ont présenté un bon résultat comme premier test.

Beta vulgaris est un légume médicinal riche en nombreuses substances naturelles qui fournissent, non seulement des apports vitaminiques et des antioxydants essentiels pour la santé de l'homme, mais aussi elles menacent la survie des bactéries, donc notre légume est douée de propriétés antimicrobiennes. Ces constituants peuvent inclure les composés phénoliques, y compris les flavonoïdes.

Seuls la CMI, le dosage et le screening phytochimiques peuvent confirmer la présence ou l'absence de l'activité antibactérienne des extraits utilisés. Malheureusement à cause du virus Covid-19, nous n'avons pas pu achever notre travail.

Conclusion

Conclusion

Ce mémoire de fin d'étude a eu pour but de répondre aux questions soulevées plus hauts dans l'introduction où nous avons décrit le contexte dans lequel s'inscrit ce travail.

Nous avons eu l'occasion d'étudier dans notre mémoire, sur un légume qui se considère comme un aliment essentiel dans notre vie quotidienne, en montrant ses multiples vertus et son rôle en médecine traditionnelle y compris son impact sur la santé humaine.

Certains objectifs de cette étude ont été atteints à travers les résultats obtenus, dont l'activité antimicrobienne. A souligner également que des explications données viennent s'ajouter à des résultats, émanant des autres travaux réalisés sur le même sujet, mais dans un contexte géographique différent. En se référant aux résultats obtenus, nous avons confirmé clairement que l'espèce de beta vulgaris est une espèce riche en substances bioactives présentées, et décrites dessus notamment vitaminique, et comprend une activité antimicrobienne qui a résulté une sensibilité de certains types de bactéries aux extraits de ce légume médicinal, comme mentionné ci-dessus prouvant également la présence des composés antioxydants dans ces feuilles.

Pour achever, ce travail élaboré n'est qu'une étape primaire aussi bien pour une carrière professionnelle dans le futur.

Référence bibliographique

Référence bibliographique :

- [1] **MAÏS C. C. U. C. A., (2017).** L'étude phytothérapie des plantes médicinales dans la région Relizane.
- [2] **Lonela S., (2015).** Les plantes médicinales. Yiesvlip Rv04 Bd Sans Traits Coupe, 52P.
- [3] **Gruffat X.,** Définition de la phytothérapie. [Enligne], (page consultée le 27/12/2017). Disponible sur: <https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>
- [4] **Kamoun J., et al., (2019).** Identification of a new natural gastric lipase inhibitor from star anise. Food & function, 10(1), 469-478. Disponible en : DOI: 10.1039/C8FO02009D
- [5] **BASTOS, R. A. A., & Lopes, A. M. C., (2010).** A fitoterapia na rede básica de saúde: o olhar da enfermagem. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, volume 14 Numéro 2 .pp : 21-28. Disponible en : DOI:10.4034/RBCS.2010.14.02.03
- [6] **Mr.Rabahi W., Mr.Ould C., (2019).** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *Lepidium sativum* « Etude expérimentale chez les souris ». Spécialité: Pharmacotoxicologie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 14 P
- [7] **J-ean-François F., Arnaud F., Denis T., Nicolas., (2019).** Plante médicinale: définition, propriétés, liste guide, récolte, AquaPortail, [en ligne], consulté le 20 juillet 2020, <https://www.aquaportail.com/definition-42-plante-medicinale.html>
- [8] **ADOUANE S. (2016).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra) 12 (195) P
- [9] **Ilbert E., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A., Chailan C., (2016).** Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économique en Albanie et en Algérie. Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes. Options Méditerranéennes B 73. 104P
- [10] **Ould Mahammed D., & Si Bachir A. (2017).** Contribution à la valorisation et production des plantes médicinales et aromatiques en Kabylie (Communes de Bouira et Tizi Ouzou) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [11] **Hammoudi R., (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Université Kasdi Merbah-Ouargla. 1(154) P
- [12] **Slimani K., (2019).** Une étude en cours pour évaluer les ressources en plantes aromatiques en Algérie, [en ligne], consulté le 26 juillet 2020, <http://www.aps.dz/economie/98239-une-etude-en-cours-pour-evaluer-les-ressources-en-plantes-aromatiques-en-algerie>
- [13] **Ben Ziane A., Ismail Y., (2001).** Plantes médicinales en Algérie - AGRO-PASTORALISME, [en ligne], consulté le 20 juin 2020, <https://sites.google.com/site/pastoraldz/plantes-medicinales/plantes-medicinales/plantes-medicinales-en-algerie>
- [14] **Radio Algérienne, (2018).** Plantes médicinales et aromatiques : un potentiel d'exportation hors hydrocarbures. [En ligne], consulté le 26 juin 2020, /news/fr/article/20180321/137049.html
- [15] **Mm Beddou F., (2015).** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre.
- [16] **Royer, M., (2013).** Étude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs. Sciences agricoles. Université de Lorraine (Doctoral dissertation). 11P
- [17] **Elkollu M., (2017).** Cours : Structure et activités des substances naturelles : principes et applications. Université Ferhat Abbas de Sétif. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 2P
- [18] **Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS). 17P

- [19] **Sofowora, A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Paris: KARTHALA Editions. P15
- [20] **Africmemoire.** Chap I: Revue de la littérature. [Enligne], consulté le 13 juin 2020. URL: <https://www.africmemoire.com/part.3-chap-i-revue-de-la-litterature-1072.html>
- [21] **Le Houérou H. N. (2001)** .Biogeography of the arid steppeland north of the Sahara. Journal of Arid Environments, vol. 48, n° 2, pp. 103-128.
- [22] **Jacques E. POISSON.** « ALCALOÏDES », Encyclopædia Universalis [en ligne], (consulté le 28 mars 2020). <https://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes/>
- [23] **Kasmi, M., Aourach, M., El Boukari, M., Barrijal, S., & Essalmani, H. (2017).** Efficacité des extraits aqueux des plantes aromatiques et médicinales contre la pourriture grise de la tomate au Maroc. Comptes Rendus Biologies, 340(8), 386-393.
- [24] **Florant.** Plantes médicinales notion essentielles, (consulté le 23/09/2005) URL: <https://florant.pagesperso-orange.fr/gene/med/med2.htm>
- [25] **Beddou, F. (2015).** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. thèse : Biologie Cellulaire et biochimie. L'université Abou bekr belkaid. P144
- [26] **vBulletin, (2014).** Les avantages des plantes médicinales pour votre corp. Agriculture bio. Version 4.2.3Beta1, consulté le 16 mai 2020, <http://www.domainedelaferme.fr/agriculture-bio/les-avantages-des-plantes-medicinales-pour-votre-corps.html>
- [27] **Marie-Laurence. G. (2016).** Toux, rhume, gastro : se soigner avec les plantes. [en ligne]. <https://www.pleinevie.fr/sante/medecines-douces/toux-rhume-gastro-se-soigner-avec-les-plantes-16569>
- [28] **Mamadaliyeva, N. Z., Akramov, D. K., Ovidi, E., Tiezzi, A., Nahar, L., Azimova, S. S., & Sarker, S. D., (2017).** Aromatic medicinal plants of the Lamiaceae family from Uzbekistan: ethnopharmacology, essential oils composition, and biological activities. *Medicines*, 4(1), 8.
- [29] **BOŠNJAK-NEUMÜLLER, J. A. S. N. A., RANČIĆ, D., PEĆINAR, I., DJELIĆ, N., & STEVANOVIĆ, Z. D., (2018).** Micromorphology and histochemistry of trichomes of endemic *nepeta rtanjensis* (Lamiaceae). *Pak. J. Bot.*, 50(1), 259-269.
- [30] **Sagoo, P., Ali, N., Garg, G., Nestle, F. O., Lechler, R. I., & Lombardi, G., (2011).** Human regulatory T cells with alloantigen specificity are more potent inhibitors of alloimmune skin graft damage than polyclonal regulatory T cells. *Science translational medicine*, 3(83), 83ra42-83ra42.
- [31] **Hassan-Abdallah, A., Merito, A., Hassan, S., Aboubaker, D., Djama, M., Asfaw, Z., & Kelbessa, E., (2013).** Medicinal plants and their uses by the people in the Region of Randa, Djibouti. *Journal of ethnopharmacology*, 148(2), 701-713.
- [32] **Formisano, C., Rigano, D., & Senatore, F., (2011).** Chemical constituents and biological activities of *Nepeta* species. *Chemistry & biodiversity*, 8(10), 1783-1818.
- [33] **Asgarpanah, J., Sarabian, S., & Ziarati, P., (2014).** Essential oil of *Nepeta* genus (Lamiaceae) from Iran: a review. *Journal of essential oil research*, 26(1), 1-12.
- [34] **Sato, A., (2012).** Revealing the popularity of traditional medicine in light of multiple recourses and outcome measurements from a user's perspective in Ghana. *Health policy and planning*, 27(8), 625-637.
- [35] **Boissière, M. (2018).** Consommation des plantes médicinales par les patients suivis en cabinet de médecine générale à La Réunion - Expériences, représentations et ressentis des patients dans le cadre de la communication médecin-patient. thèse : médecine. université de la réunion et université de bordeaux .P84
- [36] **Lopez, J. G., Drouet, G., & de Haro, L. (2013).** Hypotension sévère au cours d'une intoxication par deux plantes médicinales à l'île de la Réunion: *Aphloia theiformis* et *Rubus alceifolius*. In *Annales de toxicologie analytique* (Vol. 25, No. 3, pp. 121-123). EDP Sciences.
- [37] **Ben moussa MT, (2007).** Phytothérapie, [pdf] université de batna. département de pharmacie. P (6). P8
- [38] **Chabrier, J. Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré)

- [39] **Sebih.F, (2019)**. Polycopie Cours. Master 1 : Génie Pharmaceutique. Pharmacognosie, [pdf] Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf. Chimie organique industrielle département de génie pharmaceutique. (14,46;47,53)P60
- [40] **Ninfali, P., & Angelino, D., (2013)**. Nutritional and functional potential of Beta vulgaris cicla and rubra. Fitoterapia, 89, 188–199. doi:10.1016/j.fitote.2013.06.004
- [41] **Peter H Raven, Kenneth A Mason, Georges B Johnson, Jonathan B Losos, Susan R Singer., (2017)**. La reproduction des plantes. (Chapitre 41). Dans : Biologie. 4^{ème} édition. Louvain la Neuve. Paris, (859-860) P.
- [42] **Guindo M., (2019)**. Contribution à la détermination des éléments de contrôle de qualité botanique et phytochimique de quatre plantes du Mali, sources de colorants utilisés dans les formulations médicamenteuses. Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako-Mali. Faculté de Pharmacie.
- [43] **Compagnon P.** La betterave [Internet]. La Gazette Bio. 2018 [cité 17 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.lagazettebio.fr/la-betterave/>
- [44] **Diego dos S. Baião, Davi V.T. da Silva, Eduardo M. Del Aguila and Vânia M. Flosi Paschoalin., (2017)**. Nutritional, Bioactive and Physicochemical Characteristics of Different Beetroot Formulations. Food Additives. Chapter. [en ligne] DOI: 10.5772/intechopen.69301 <https://www.intechopen.com/books/food-additives/nutritional-bioactive-and-physicochemical-characteristics-of-different-beetroot-formulations>
- [45] **Besma. A. G , Sehla.C, Hdjer.S., (2014)**. Contribution a l'étude de l'activité antioxydants et antibactérien de deux plantes médicinales (béta vulgaris) (var.cida) et (Ruta chalepensis). Mémoire : Biologie Moléculaire et Cellulaire. Mais 1954 Guelma, 13P.
- [46] **Binette & Jardin, (s. d.)** Betterave (Beta vulgaris), légume riche en sucre. Consulté le 11. 08. 2020. <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-100-betterave.html>
- [47] Dr Cardenas J, (2017). Bette : *beta vulgaris*. Directeur médical de Doctissimo.
- [48] **Nikan, M., & Manayi,A. (2019)**. Beta vulgaris L. Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements
- [49] **LANGE, W. (1999)**. Taxonomy and cultonomy of beet (Beta vulgaris L.). Botanical Journal of the Linnean Society
- [45] **Beta vulgaris L., (1753)** - Betterave commune, Bette-épinard, Inventaire National du Patrimoine Naturel, [en ligne] consulté le 26 juillet 2020, https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/85820
- [51] **El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Megahed, B. M., Gamal, M., & Safwat, G. (2018)**. Evaluation of some chemical constituents, antioxidant, antibacterial and anticancer activities of Beta vulgaris L. root. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(9), 6369-6378
- [52] **Germosen-Robineau, L. (1999)**. **Pharmacopée caribéenne**. IRD Éditions. P 66-67
- [53] **Pandey, G., Singh, J., & Thomas, G. (2017)**. Analysis of Beetroot (Beta vulgaris L.) Juice processing effect for maximum betalain extractability and optimum antioxidant activity. *Plant Archives*, 17(2), 798-802.
- [54] **Bosemark, N. O. 10.** La betterave à sucre, 133 P.
- [55] **Терехина Н.В.** Основные сельскохозяйственные культуры. «Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения» [Revue] // Agro Atlas. [2003-2009]. http://www.agroatlas.ru/ru/content/cultural/Beta_vulgaris_alba_K/
- [56] **HMIMINA, M. H., & BENDAHOU, S., (2015)**. La casside de la betterave (Cassida vittata Wild, Col., Chrysomelidae) au Gharb: cycle de développement et stratégie de lutte. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 3(3), 12-23.
- [57] **Dr. Y. P. S. Bajaj., (1986)**. Biotechnology in Agriculture and Forestry. *Plant Protoplasts and Genetic Engineering*. Ed by Y.P.S.Bajaj. V. vol 29, 16p.
- [58] **Farm E., (2018)**. Note Politique une filière betterave sucrière prête à relever ses défis . [En ligne] : <https://www.farm-europe.eu/fr/travaux/note-politique-une-filiere-betterave-sucriere-prete-a-relever-ses-defis-2/>
- [59] **Melard, F., (2011)**. La carrière de la betterave sucrière. *Humains, non humains. Comment repeupler les sciences sociales*.
- [60] **Nesrine.R., (2019)**. Balcon Potager en Algérie : Betterave Potagère. <https://numidyum.com/index.php/2019/02/03/betterave-potagere/>

- [61] **Kew Backbone Distributions**, The International Plant Names Index and World Checklist of Selected Plant Families 2020. Published on the Internet at <http://www.ipni.org> and <http://apps.kew.org/wcsp/>
- [62] **Grubben et Denton. (2019)**. Beta vulgaris L. [En ligne], PROTA4U. <https://prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Beta+vulgaris+L..>
- [63] **Betterave. (s. d.)**. Vulgaris Médical. [Enligne], consulté 26 juillet 2020, à l'adresse <https://www.vulgaris-medical.com/phytotherapie/betterave>
- [64] **Combo, A. M. M., Aguedo, M., & Paquot, M. (2011)**. Les oligosaccharides pectiques: production et applications possibles. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15(1), 153-164.
- [65] **Vong, M., Manny, A. R., Smith, K. L., Gao, W., & Nibert, M. L. (2019)**. Beta vulgaris mitovirus 1 in diverse cultivars of beet and chard. *Virus research*, 265, 80-87.
- [66] **Fahrasmane, L. (2006)**. Pour un développement des recherches sur les potentialités de la biodiversité végétale à protéger la santé du consommateur. *Fruits*, 61(3), 211-222.
- [67] **Howard, D. (2018)**. What Is A Free Radical?. Dostupno na adresi: http://www.dermalinstitute.com/us/library/22_article_What_Is_A_Free_Radical_.Html Datum pristupa, 3
- [68] **Aguilar-Paredes, O. A., Castillo-Guevara, C., Díaz-Godínez, R., Nieto-Camacho, A., Méndez-Iturbide, D., & Tlaxcala, I. (2018)**. Antioxidants and inhibition of free radicals: lipoperoxidation and carbonylation Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación. *Journal of Biotechnology*. 3(1):60-72. Pp 62.
- [69] **Reina M., & Martínez, A. 2017**. Free radicals interacting with Cu, Ag and Au clusters. *Computational And Theoretical Chemistry*. 1120:24-33.
- [70] **Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel, C., & Leverve, X. (2002)**. Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique. *Réanimation*, 11(6), 411-420.
- [71] **Amandine. G. (2016)**. Plantes médicinales et antioxydants. Thèse : pharmacie. Faculté des sciences pharmaceutique de l'université Paul Sabatier. Pp 14.
- [72] **Bagchi, D., Sen, C. K., Bagchi, M., & Atalay, M. (2004)**. Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry (Moscow)*, 69(1), 75-80.
- [73] **Bora, K. S., & Sharma, A. (2010)**. Neuroprotective effect of Artemisia absinthium L. on focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 129(3), 403-409. doi:10.1016/j.jep.2010.04.030
- [74] **Andrisica L, Dudzika D, Barbasa C, Milkovicb L, Grunec T, Zarkovicb N. Short** overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer. *Redox Biology*. 2018;14:47-58.
- [75] **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J., 2002**. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme* 16(4), 233-239.
- [76] **Favier, A. (2006, November)**. Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- [77] **Pavageau W, (2015)**. Stress oxydatif. [enligne], consulté 02/4/2020. <https://www.docteurcliv.com/encyclopedie/stress-oxydatif.aspx>
- [78] **Groussard, C. (2006)**. Stress oxydatif et exercice anaérobie, 62-67
- [79] **Longeons, M. (2013)**. Origine et conséquences du stress oxydant. thèse: vétérinaire. lieu de soutenance : école nationale vétérinaire d'Alfort Lyon, P 103
- [80] **Guerin, J. C., Leophonte, P., Lebas, F. X., Liard, F., Terrioux, P., & Boulanger, P. (2005)**. Le stress oxydatif en pathologie broncho-pulmonaire: apport de la N-acétyl-cystéine (NAC). *Revue de Pneumologie Clinique*, 61(1), 16-21.
- [81] **Guerby, P., Vidal, F., Garoby-Salom, S., Vayssiere, C., Salvayre, R., Parant, O., & Nègre-Salvayre, A. (2015)**. Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la pré-éclampsie: mise au point. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 43(11), 751-756.
- [82] **Leverve, X. (2009)**. Stress oxydant et antioxydants?. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224.

- [83] Hare, J. M., Mangal, B., Brown, J., Fisher, C., Freudenberger, R., Colucci, W. S., ... & OPT-CHF Investigators. (2008). Impact of oxypurinol in patients with symptomatic heart failure: results of the OPT-CHF study. *Journal of the American College of Cardiology*, 51(24), 2301-2309.
- [84] Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., ... & Diop, Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.
- [85] Avlessi, F., Dangou, J., Wotto, V. D., Alitonou, G. A., Sohounhloue, D. K., & Menut, C. (2004). Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10-11), 1057-1061.
- [86] Roussel, A. M. (2009). Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir?. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 230-236
- [87] Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Hudek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* (pp. 3-44). Woodhead Publishing.
- [88] Andlauer, w. (2014).le rôle des polyphénols dans le vin le thé le café et le chocolat, P1
- [89] Amiot, M. J., Riollet, C., & Landrier, J. F. (2009). Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(5), 476-482.
- [90] Bennetau-Pelissero, C. (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 151-159.
- [91] Touaibia, M., & Chaouch, F. Z. (2017). Propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Myrtus nivellei* Batt et Trab. Obtenus in situ et in vitro. *Phytothérapie*, 15(1), 16-22.
- [92] Hassaine, A. (2020). Les composés phénoliques, [pdf] P22
- [93] Vauzour, D. (2014). Polyphénols et neuroprotection: où en sommes-nous aujourd'hui? *Cahiers de nutrition et de diététique*, 49(4), 181-187.
- [94] Esprit santé. Acide phénolique : Principe actif et origine végétale. [enligne].URL: <https://www.espritsante.com/articles/acide-phenolique>
- [95] Crozier, A Clifford, M N and H.Ashihara, H (2006),plante secondary metabolites.edition blackwell publishing ltd.P11
- [96] Das A. B., Goud, V. V., & Das, C. (2019). Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages. Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages, 285–323.
- [97] Tsopmo, A., Awah, F. M., & Kuete, V. (2013). Lignans and stilbenes from African medicinal plants. In *Medicinal plant research in Africa* (pp. 435-478). Elsevier.
- [98] Richard, T., Tamsamani, 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.
- [99] Bagniewska-Zadworna, A., Barakat, A., Łakomy, P., Smoliński, D. J., & Zadworny, M. (2014). Lignin and lignans in plant defence: insight from expression profiling of cinnamyl alcohol dehydrogenase genes during development and following fungal infection in *Populus*. *Plant Science*, 229, 111-121.
- [100] Bruneton, J (2016). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales.farncce: tec & doc Lavoisier : .page 5 et 10 et 12 et 15
- [101] Vivas, N., Nonier, M. F., Pianet, I., de Gaulejac, N. V., & Fouquet, É. (2006). Proanthocyanidins from *Quercus petraea* and *Q. robur* heartwood: quantification and structures. *Comptes Rendus Chimie*, 9(1), 120-126.
- [102] Villain-Gambier, M., Courbalay, M., Klem, A., Dumarcay, S., & Trebouet, D. (2020). Recovery of lignin and lignans enriched fractions from thermomechanical pulp mill process water through membrane separation technology: Pilot-plant study and techno-economic assessment. *Journal of Cleaner Production*, 249, 119345.
- [103] Mpondo, E. M., Yin Yang, J., & Dibong, S. D. (2015). Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 85, 7804-7823.
- [104] Deluzarche, M (2009). Tp de chimie, P2.

- [105] **Freedman, D. A., Keresztes, I., & Asbury, A. L. (2002).** Metal–coumarin complexes: synthesis and characterization of 7-isocyanocoumarin ligands and Mo (CO)₄(7-isocyanocoumarin)₂ complexes. X-ray crystal structure of Mo (CO)₄(7-isociano-4-trifluoromethylcoumarin)₂. *Journal of organometallic chemistry*, 642(1-2), 97-106.
- [106] **Meriem K (2017).** structure et activité des substances naturelles. P70
- [107] **Jacquot Y., Refouvet B., Blacque O., Kubicki, M. M., & Xicluna A. (2001).** Structure elucidation of benzopyran-2-ol in solution and in solid state following the reduction of coumarin by DIBAL-H. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IIC-Chemistry*, 4(5), 375-380.
- [108] **Gondokesumo M. E. (2019).** Xanthenes analysis and antioxidant activity analysis (Applying ESR) of six different maturity levels of mangosteen rind extract (*Garcinia mangostana* Linn.). *Pharmacognosy Journal*, 11(2), 369-373.
- [109] **El-Seedi H.R Mohamed A. Salem., Omar M. Khattab.,Aida Abd El-Wahed., Dina M. El-Kersh., Shaden A. M. Khalifa.,Aamer Saeed., Mohamed M. Abdel-Daim., Nahid H. Hajrah.,Muaaz M. Al Ajlani., Mohammed F. Halabi., Amir R. Jassbi.,Syed G. Musharraf., Mohamed A. Farag., (2020).** Dietary xanthenes. [Enligne],consultée le:(February 2020).https://www.researchgate.net/publication/339209781_Dietary_Xanthenes
- [110] **Clementina M.M. Santos, Marisa Freitas c, Eduarda Fernandes., (2018).** A comprehensive review on xanthone derivatives as a-glucosidase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.073> 0223-5234/ © 2018 Elsevier Masson SAS, 1461.
- [111] **Nabavi S.M., Saeedi.M., Nabavi S.M., Silva A.S., (2020).** Recent advance in natural products. *elsevier*.P 176-177-180-181.
- [112] **Sukatta U., Takenaka, M., Ono, H., Okadome H., Sotome I., Nanayama K., & Isobe, S. (2013).** Distribution of major xanthenes in the pericarp, aril, and yellow gum of mangosteen (*Garcinia mangostana* linn.) fruit and their contribution to antioxidative activity. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 77(5), 984-987.
- [113] **Laroche P, (2005).** Le mangoustan : un fruit santé aux effets surprenants. Edition jalinis.P15-16
- [114] **Fankam A. G., Das, R., Mallick A., Kuate, J. R., Hazra, B., Mandal, C., & Kuete, V. (2017).** Cytotoxicity of the extracts and fractions from *Allanblackia gabonensis* (Clusiaceae) towards a panel of cancer cell lines. *South African Journal of Botany*, 111,29-36.
- [115] *Bactéricide : Définition et explications.* (s. d.). AquaPortail. Consulté 10 juillet 2020, à l'adresse <https://www.aquaportail.com/definition-2136-bactericide.html>
- Betterave (Beta vulgaris), légume riche en sucre : Semis, plantation, culture, récolte.* (s. d.). Binette & Jardin. Consulté 13 août 2020, à l'adresse <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-100-betterave.html>
- Découvrez ces antibiotiques naturels et puissants!* (2020, janvier 6). Vivacité. https://www.rtbf.be/vivacite/article/detail_decouvrez-ces-antibiotiques-naturels-et-puissants?id=10400774
- Plante médicinale : Définition, propriétés, liste guide, récolte.* (s. d.). AquaPortail. Consulté 20 juillet 2020, à l'adresse <https://www.aquaportail.com/definition-42-plante-medicinale.html>
- Roux, D. (2005). *Les nouvelles plantes qui soignent*. Alpen Editions s.a.m.
- [117] **Mellas, M. (2015).** *Etude structurale et conformationnelle de flavonoïdes aglycones* (Doctoral dissertation, UMMTO).
- [118] **Vera J, (2017).** Les flavonoïdes : À quoi servent-ils et où les retrouver? - Astuces de grand-mère. [Enligne], consulté le 20 juin 2020. <https://astucesdegrandmere.net/flavonoïdes-a-quoi-servent-retrouver/>
- [119] **Zuiter A. S. (2014).** Proanthocyanidin: Chemistry and Biology: From Phenolic Compounds to Proanthocyanidins. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, 1-25.
- [120] **Duodu K. G., & Awika, J. M. (2019).** Phytochemical-Related Health-Promoting Attributes of Sorghum and Millets. *Sorghum and Millets*, 225–258.
- [121] **Prasain J. K., Barnes S., & Michael Wyss J. (2018).** Analyzing Ingredients in Dietary Supplements and Their Metabolites. Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease, 337–346.
- [122] **Murkovic M, (2016).** Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. *Encyclopedia of Food and Health*, 346–351.

- [123] **Rucker R. B., Keen C. L., & Steinberg F. M. (2014).** Vitamins and Food-Derived Biofactors. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 356–377.
- [124] **Pastor-Villaescusa B., Sanchez Rodriguez E., & Rangel-Huerta O. D. (2018).** Polyphenols in Obesity and Metabolic Syndrome. *Obesity*, 213–239.
- [125] **Jean-François F., Arnaud F., Denis T., Nicolas., (2019).** Anthocyane : Définition et explications. (s. d.). AquaPortail. Consulté 26 juillet 2020, à l'adresse <https://www.aquaportail.com/definition-9474-anthocyane.html>
- [126] **Malacarne M., Antonioli G., Bertoldi D., Nardin T., & Larcher R. (2018).** Botanical origin characterisation of tannins using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 267, 204-209.
- [127] **Hoyos-Martinez P. L., Merle J., Labidi J., & Charrier-El Bouhtoury F. (2019).** Tannin extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*, 206, 1138-1155.
- [128] **Edmond Fremy, Paul louis Chastaing. (1885).** Encyclopédie chimique, paris. Volume 6, Volume 56. Pp 272.
- [129] **Mahmood, S., Khan, M. A., Sarwar, M., Nisa, M., Lee, W. S., Kim, S. B., ... & Kim, H. S. (2007).** Use of chemical treatments to reduce tannins and trypsin inhibitor contents in seed (Shorea robusta) meal. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 20(9), 1462-1467.
- [130] **Balakrishnan, A., Kanchinadham, S. B. kameswari, & Kalyanaraman, C., (2018).** Evaluation and kinetic study on enzyme supplementation to biological treatment of vegetable tanning process wastewater. *International Journal of Environmental Science and Technology*. doi: 10.1007/s13762 018-1985-3
- [131] **Haslam E. (1989).** Plant Polyphenols. Cambridge University
- [132] **Haslam E. (2007).** Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2713–2721. doi:10.1016/j.phytochem.2007.09.009
- [133] **Okuda T., Ito, H. 2011.** Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, 16, 2191-2217. DOI: 10.3390/molecules16032191
- [134] **Ramakrishnan K., & Krishnan M. R. V. (1994).** Tannin—classification, analysis and applications. *Ancient science of life*, 13(3-4), 232.
- [135] **Derbel S., & Ghedira K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 3(1), 28-34.
- [136] **Dr Sahraoui.** Les tanins. Laboratoire de pharmacognosie.
- [137] **Andréane Martin. (2015).** L'UTILISATION DE TANINS DANS L'ALIMENTATION OVINE POUR PRÉVENIR LE PARASITISME. REVUE DE LITTÉRATURE. PP 11. ISBN 978-2-550-74664-5 (PDF)
- [138] **Bravo L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- [139] **Khanbabaee K., & Van Ree, T. (2001).** Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.
- [140] **Sieniawska E., & Baj, T. (2017).** Tannins. In *Pharmacognosy* (pp. 199-232). Academic Press.
- [141] **Schmidt O. T. (1956).** Gallotannine und ellagen-gerbstoffe. In *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products/Progrès dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles* (pp. 70-136). Springer, Vienna.
- [142] **Quideau S, Jourdes M, Lefeuvre D, Pardon P, Saucier C, Teissedre P-L, Glories Y (2010).** Ellagitannins – an underestimated class of plant polyphenols: chemical reactivity of C-glucosidic ellagitannins in relation to wine chemistry and biological activity. In: Santos Buelga C, Escribano-Bailon MT, Lattanzio V (eds) *Recent advances in polyphenol research*. Wiley-Blackwell
- [143] **Schmidt OT., (1956).** Gallotannine und Ellagen-gerbstoffe. *Fort Chem Org Nat* 13:70–136
- [144] **Brillouet, J. M., Romieu, C., Schoefs, B., Solymosi, K., Cheynier, V., Fulcrand, H., ... & Conéjéro, G. (2013).** The tannosome is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllous organs of Tracheophyta. *Annals of Botany*, 112(6), 1003-1014.
- [145] **GRILLET (Colette), VILLENEUVE (F.). (1994).** Les tanins dans les fourrages ligneux. Chapitre VI In: GUERIN (H.) éd. *Valeur alimentaire des fourrages ligneux consommés par les ruminants en Afrique centrale*

et de 1 'ouest. Commission des Communautés Européennes DG XII. Programme ST2/89/215.Maisons-Alfort, CIRAD-EMVT.

- [146] **Jean B. (2009)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier. Pp 444.
- [147] **Waghorn G. (2008)**. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins forsustainable sheep and goat production—Progress and challenges. *Animal Feed Science andTechnology*, 147(1-3), 116-139.
- [148] **Banerjee D., Mondal, K. C., & Pati, B. R. (2001)**. Production and characterization ofextracellular and intracellular tannase from newly isolated *Aspergillus aculeatus* DBF 9. *Journal ofBasic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, andEcology of Microorganisms*, 41(6), 313-318.
- [149] **Vivas N., De Gaulejac N. V., & Nonier, M. F. (2002)**. Mise au point sur les tanins œnologiques et bases d'une nouvelle définition qualitative. *Bulletin de l'OIV*, 75(853-54), 174-185.
- [150] **Hoste H., Torres Acosta F., Sotiraki S., Houzangbe Adote S., Kabore A., Costa J. L., ... & Mueller Harvey I. (2018)**. Des plantes contenant des tannins condensés: un modèle d’alicament pourgérer les vers parasites en élevages des petits ruminants. *Innovations Agronomiques*, 66, 19-29.
- [151] **Ferland G. (2003)**. Alimentation et vieillissement. PUM. Les vitamines (3). canada. Pp 68
- [152] **Imoberdorf R., & Ballmer P. E. (2004, February)**. Vitamine für jedermann?. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 4, No. 08, pp. 192-195). EMH Media.
- [153] **Salle, B.-L., Delvin, E., & Claris, O. (2005)**. Vitamines liposolubles chez le nourrisson.*Archives de Pédiatrie*, 12(7), 1174–1179. doi:10.1016/j.arcped.2005.01.029
- [154] **Santé Canada, (2007)**. Monographie des suppléments de multivitaminées/minéraux,
- [155] **National Nutrition Monitoring Bureau. (1979)**.Mean intakes of vitamin A and iron by agegroup. National institute of Nutrition, Hayderabad, Inde.
- [156] **Kala A. and Prakash J. (2006)**, “The comparative evaluation of the nutrientcomposition andsensory attributes of four vegetables cooked by different methods”,*International Journalof Food Science Technology*, Vol. 41 No. 2, pp. 163-171
- [157] **Xavier. (01-02-2019)**.Liste et classement des aliments les plus riches en vitamines A et bêta-carotène (caroténoïdes).
- [158] **A. Martin et al.** Apports nutritionnels conseillés pour la population française. EdLavoisier, Tec & Doc. 2001.
- [159] **M. Wheelwright E. W., Kim M. S., Inkeles A., De Leon M., Pellegrini S. R., Krutzik P., T.Liu.**All. Trans Retinoic Acid-Triggered Antimicrobial Activity against *Mycobacteriumtuberculosis* Is Dependent on NPC2. *The Journal of Immunology*, 2014; 192 (5): 2280 DOI:10.4049/jimmunol.1301686
- [160] **Monsieur Jean LARRUE. (2012)**. Vitamine B6. CNIL : 1524196. <http://www.guidevitamines.org/mentions-legales.html>
- [161] **Dr Cardenas J, (2020)**. Vitamine B6 ou pyridoxine. Directeur médical de Doctissimo.
- [162] **Backer.,Guy De., (2016)**.Voedingsaanbevelingen voor België - Partim I: vitamine ensporenelementen.Hoge Gezondheidsraad. Brussel: HGR; Report No.: Advies nr. 9164 & 9174.
- [163] **De Ridder, K. B. S., Brocatus, L., Cuypers, K., Lebacq, T., Moyersoan, I., Ost, C., & Teppers, E. (2014)**. La consommation alimentaire. Dans: Bel S, Tafforeau J (éd.). *Enquête de ConsommationAlimentaire*, 2015.
- [164] **Marashi N, (2019)**. Tout savoir sur 3 vitamine du groupe B : B6, B9 ou acide folique et B12, roles, carences, aliment. Publié sur : <https://www.youtube.com/watch?v=WbJrUQfGGLA>
- [165] **Lanutrition.fr, (2009)**.L’essentiel sur les 13 vitamines. Guide des nutriments, page consultéen : 25/09/2018, Disponible sur : <https://www.lanutrition.fr/bien-dans-son-assiette/les-nutriments/vitamines/lessentiel-sur-les-13-vitamines>
- [166] **Florence Daine. (2016)**.Vitamine C ou acide ascorbique. Nutrition. disponible en :https://www.doctissimo.fr/html/nutrition/vitamines_mineraux/vitamine_c.htm

- [167] **Marc F. Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., & Fritsch P. (2004)** « Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments » Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food. *V 20, N 4, Avril* .458 – 463
- [168] **Michael A. Matthay et al., 2020 March 20.** Treatment of severe acute distress syndrome from COVID-19, *The Lancet Respiratory Medicine*, doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30127-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30127-2)
- [169] **Garaiova I., Muchová J., Nagyová Z., Wang D., Li, J. V., Országhová Z., ... & Ďuračková, Z. (2015).** Probiotics and vitamin C for the prevention of respiratory tract infections in children attending preschool: a randomised controlled pilot study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 373-379.
- [170] **Zojaji H., Talaie R., Mirsattari D., Haghazali M., Molaei M., Mohsenian N., ... & Zali M. R. (2009).** The efficacy of *Helicobacter pylori* eradication regimen with and without vitamin C supplementation. *Digestive and Liver Disease*, 41(9), 644-647.
- [171] **Fisher AEO, Naughton DP. (2003).** Vitamin C contributes to inflammation via radical generating mechanisms: A cautionary note. *Medical Hypotheses*;61(5-6):657-660.
- [172] **Vieth R. What is the optimal. (2006)** vitamin D status for health ? *Prog Biophys Mol Biol*;92:26-32.
- [173] **J.-C. Souberbielle., (2013)** Actualités sur la vitamine D. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. Volume 48, Issue 2, April, Pages 63-74.
- [174] **Holick MF. Vitamin D deficiency. N Engl J Med. (2007);**357:266-81.
- [175] **Vernay M., Sponga M., Salanave B., Oléko A., Deschamps V., Malon A., & Castetbon K. (2012).** Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'étude nationale nutrition santé (ENNS, 2006-2007). *BEH*, 16, 189-194.
- [176] **BEAUDEUX Jean-Louis, DURAND Geneviève. (2008).** Biochimie médicale - Marqueurs actuels et perspectives (2e ed.). cHantal Arpino. 11, rue Lavoisier. 82
- [177] **Thomason J., Rentsch C., Stenehjem E. A., Hidron A. I., & Rimland D. (2015).** Association between vitamin D deficiency and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Infection*, 43(6), 715-722.
- [178] **G. GOMEZ. (2019).** LES VITAMINES. Disponible en : <https://tice.acmontpellier.fr/ABCDORGA/Famille4/VITAMINES.htm>
- [179] **Adrien B. (2007).** Les vitamines. Cahier de formation. Biologie médicale. N° 38. Pp 14.
- [180] **Médart J. (2009).** Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative. De Boeck Supérieur. Pp 63.
- [181] **Guilland J. C. (2015).** La vitamine D (Coll. Professions santé). Lavoisier. Paris. Pp 15.
- [182] **VROCLANS B. (1963).** FICHES PARUES. *La Lancette française: Gazette des hôpitaux civils et militaires*, 31(17-36), 1176.
- [183] **SAADI- OUSLIM., (1962).** Les vitamines. Faculté de médecine. Oran. pp 1
- [184] **Cedric. M. (2018).** Recettes et menus pour l'hémochromatose. Edition: BoD- books on Demand. Paris. Pp 12.
- [185] **Moél G., Dauvergne A., Gousson T, Guéant J, Hervé C. (1998).** Vitamine B6 : Le statut vitaminique, physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique. *EM Inter, Cachan*, 259-273
- [186] **Salehi B., Zucca P., Sharifi Rad M., Pezzani R., Rajabi S., Setzer W. N., & Sharifi Rad, J. (2018).** Phytotherapeutics in cancer invasion and metastasis. *Phytotherapy Research*, 32(8), 1425-1449. Et Salehi, B., Valussi, M., Jugran, A. K., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Stojanović-Radić, Z. Z., Setzer, W. N. (2018). *Nepeta* species: From farm to food applications and phytotherapy. *Trends in food science & technology*, 80, 104-122.
- [187] **Degaulle K. K., Idrissa D., Dodehe Y., Rolland K. G., Diane K., Joseph D. A., & David N. G. J. (2018).** Toxicological and phytochemical studies of aqueous and ethanolic extracts of *Entandrophragma angolense* (Meliaceae), an antidiabetic plant of the Ivorian pharmacopoeia. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 2171-2174.

- [188] **J. Wittenauer S., Mackle D., Sussmann U., Schweiggert-Weisz, and R. Carle,** (2015). “Inhibitory effects of polyphenols from grape pomace extract on collagenase and elastase activity,” *Fitoterapia*, vol. 101, pp. 179–187,
- [189] **Zhang L., Tu, Z. C., Xie X., Lu, Y., Wang Z. X., Wang H., & Sha X. M.** (2016). Antihyperglycemic, antioxidant activities of two *Acer palmatum* cultivars, and identification of phenolics profile by UPLC-QTOF-MS/MS: new natural sources of functional constituents. *Industrial Crops and Products*, 89, 522-532.
- [190] **Moglad E.H., Alhassan M.S., Abdalkareem E.A., Abdalla A.N., Kuse M.,** (2019). Ethyl acetate fraction of *Solanum nigrum* L.: Cytotoxicity, induction of apoptosis, cell cycle in breast cancer cells, and gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Asian J. Pharm.* 13(3), 246-251
- [191] **Bendahou M., Muselli A., Grignon-Dubois M., Benyoucef M., Desjobert J. M., Bernardini A. F., & Costa, J.** (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106(1), 132-139.
- [192] **Shelef L.A., Naglik O.A., Bogen D.W.,** (1980). Sensitivity of some common foodborne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. *Journal of Food Science* 45, 1042–1044.
- [193] **Qureshi AI., Cohen RD,** (2005). Mesalamine delivery systems: do they really make much difference? *Adv Drug Deliv*; 57(2): 281-02.
- [194] **Dohou N., Yamni K., Badoc A., & Douira A.** (2004). Activité antifongique d'extraits de *Thymelaea lythroides* sur trois champignons pathogènes du riz. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 143(1-4), 31-38.
- [195] **Fadel F., Chebli B., Tahrouch S., Benddou A., & Hatimi A.** (2011). Activité antifongique d'extraits de *ceratonia siliqua* sur la croissance in vitro de *penicillium digitatum*. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 150, 19-30.
- [196] **Tsao TF, Newman MG, Kwok YY, Horikoshi AK.,** (1982). Effect of Chinese and western antimicrobial agents on selected oral bacteria. *J Dent Res*; 61:1103–6.
- [197] **Akhavan M., Jahangir S., & Shafaghat A.** (2015). Studies on the antioxidant and antimicrobial activity and flavonoid derivatives from the fruit of *Trigonostadium brachytaenium* (Boiss.) Alava. *Industrial Crops and Products*, 63, 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.023>
- [198] **Ojeda-Contreras A. J., Hernández-Martínez J., Domínguez Z., & Mercado J.** (2008). Utilization of caffeic acid phenethyl ester to control *Alternaria alternata* rot in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Fruit. *Journal of Phytopathology*, 156, 164–173. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01325>.
- [199] **Cafarchia C, De Laurentis N, Milillo MA, Losacco V, Puccini V.,** (1999). Antifungal activity of Apulia region propolis. *Parassitologia* 41:587–90.
- [200] **Afolayan AJ, Meyer JJ.** (1997). The antimicrobial activity of 3, 5, 7- trihydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*. *J Ethnopharmacol* ; 57:177–81.
- [201] **Ramírez-Reyes T., Flores-Estévez N., Luna-Rodríguez M., Noa-Carrazana J. C., Sánchez-Velásquez L. R., & Trigos-Landa A.** (2015). Extractos crudos de *Magnolia schiedeana* Schltdl. para el control de bacterias fitopatógenas. *Madera y Bosques*, 21, 159–164
- [202] **Dixon R.A., Dey P.M. & Lamb C.J.,** (1983). Phytoalexins: Enzymology and molecular biology. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 55: 1-136.
- [203] **Usman H., Abdulrahman F., Usman A.** (2009). Qualitative phytochemical screening and in vitro antimicrobial effects of methanol stem bark extract of *Ficus thonningii* (Moraceae) African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine, 6, 289–295 <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v6i3.57178>
- [204] **Awolola V., Chenia H., Koorbanaly N., & Baijnath H.** (2014). Antibacterial and anti-biofilm activity of flavonoids and triterpenes isolated from the extracts of *Ficus Sansibarica* Warb. Subsp. *Sansibarica* (Moraceae) Extracts. *African Journal of Traditional Complementary & Alternative Medicines*, 11(3), 124–131. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i3.19>
- [205] **Babayi H, Kolo I, Okogum JI.,** (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistri*, 16 (2): 102-

- [206] **Ulanowska K, Traczyk A, Konopa G, Wegrzym G.**, (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.* 184 (5): 271-8.
- [207] **Okigbo RN, Mbajinka CS, Njoku CO.** (2005). Antimicrobial potentials of (UDA) *Xylopiya aethopica* and *Ocimum gratissimum* L. some pathogenous of man. *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.* 1 (4): 392-7.
- [208] **Rao J., Chen B., & McClement D. J.** (2019). Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in food: Mechanism of action. *Annual Review Food*, 10, 3.1-3.23. <https://doi.org/10.1146/annur-ev-food-032818-121727>
- [209] **Lau T. F., Leung P. C., Wong E. L. Y., Fong C., Cheng K. F., Zhang S. C., Ko, W. M.** (2005). Using herbal medicine as a means of prevention experience during the SARS crisis. *The American Journal of Chinese Medicine*, 33(03), 345-356.
- [210] **Yu, M. S., Lee, J., Lee, J. M., Kim, Y., Chin, Y. W., Jee, J. G., Jeong, Y. J.** (2012). Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(12), 4049-4054
- [211]- **Li BQ Fu T, Dongyan Y, Mikovits JA, Ruscetti FW, Wang JM.** (2000). Flavonoid baicalin inhibits HIV-1 infection at the level of viral entry. *Biochem Biophys Res Commun*; 276:534–8.
- [212] **Brinkworth RI, Stoermer MJ, Fairlie DP.** (1992). Flavones are inhibitors of HIV-1 proteinase. *Biochem Biophys Res Commun*; 188:631–7.
- [213] **Song X, Xiao HT, Liao CH., Li, L., Kang Q., R., Jiang Y. C., He, Z. D.** (2017). Natural products: the master regulators of antiviral cytokines. *Curr. Org. Chem.* 21(18), 1–19
- [214] **Al-Snafi A. E.** (2014). The pharmacology of *Anchusa italica* and *Anchusa strigosa*. A Review. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 6, 7–10.
- [215] **Weichselbaum E., & Buttriss J. L.** (2010). Polyphenols in the diet. *Nutrition Bulletin*, 35(2), 157–164.
- [216] **Marie-claire**, (s. d.). Les vitamines indispensables à l'organisme. Consulté 26 juillet 2020, à l'adresse <https://www.marieclaire.fr/vitamine-indispensable-bonne-sante,796522.asp>
- [217] Antioxydants : Bienfaits et inconvénients pour la santé—Santé Doc. (2014). Consulté 26 juillet 2020, à l'adresse <http://santedoc.com/alimentation/additifs-alimentaires/antioxydants.html>
- [218] **Bégin D., & Gérin M.** (2002). Les grandes familles des solvants organiques-Utilisations et aspects physicochimiques. *Solvants industriels: Santé, Sécurité, Substitution. Masson, Paris.* p13-38.
- [219] **Abe E., Delye S. G., & Alvarez J. C.** (2010). Extraction liquide-liquide: théorie, applications, difficultés. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 22, No. 2, pp. 51-59). EDP Sciences.
- [220] **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.
- [221] **J.M.GOURREAU et F.BENDALI**, (2008). Maladies des Bovins. 4^{ème} édition, février, France Agricole. Pp (12-13).
- [222] **DELARRAS Camille.** (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche de bactéries et de levures-moisissures. 2^{ème} édition. Lavoisier. Paris page (1-2-3 -66).
- [232] **Chanda S., Rakholiya K,** (2011). Combination Therapy: Synergism between Natural Plant Extracts and Antibiotics Against Infectious Diseases. In: *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, Mendez-Vilas, A. (Ed.), Formatex Research Center, Badajoz, ISBN-10: 8493984329, pp: 520-529.
- [224] **World Health Organization (WHO)**, 2016. United Nations high-level meeting on antimicrobial resistance. <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/events/UNGA-meeting-amr-sept2016/en/>. Accessed September 21
- [225] **Anaïs Veysièrè.**, (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. *Sciences du Vivant [q-bio]*. [ffdumas02432394f](https://doi.org/10.1007/978-2-7598-0243-2_4). p 15-23
- [226] **OMS**, (1978). Série de Rapports techniques, N° 624, (La surveillance, moyen de prévenir et de réduire les risques pour la santé associés aux enterobactéries antibioresistantes: rapport d'une Réunion de l'OMS).

- [227] **BOURRILLON A., BINGEN E., GAUDELUS J., COHEN, R. (2004).** « Comment réduire la prescription des antibiotiques chez l'enfant? », Journées parisiennes de pédiatrie, Paris, Flammarion.
- [228] **Zgurskaya HI, Lopez CA, Gnanakaran S., (2015).** Permeability barrier of Gram-negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infect Dis.* 1:512-22.
- [229] **Rios J.L. and M.C. Recio, (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, 100: 80-84. DOI: 10.1016/j.jep.2005.04.025
- [230] **Boucher, H. W., Talbot, G. H., Benjamin Jr, D. K., Bradley, J., Guidos, R. J., Jones, R. N., ... & (2013).** Infectious Diseases Society of America.10×20 progress—development of new drugs active against gram-negative bacilli: an update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 56(12), 1685-1694.
- [231] **Theuretzbacher U, Outtersson K, Engel A, Karlén A., (2019).**The global preclinical antibacterial pipeline. *Nat Rev Microbiol.* <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-019-0288-0>
- [232] **Nicolas M., et Daniel C. (1998).** Activités technologique en microbiologie - Techniques de base et méthodologie .Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux, pp : 152.
- [233] **P.D. Gupta, T.J. Birdi. (2017).** Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine.* Volume (266-275).pp 268
- [234] **Lelièvre J. D. (2019).** Les vaccins de demain. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2019(512), 52-63.
- [235] **Aurélia P. (2018).** Action antioxydante et antimicrobienne de composés phénoliques dans des milieux modèles et des émulsions riches en lipides insaturés. Thèse : Génie des aliments. France. L'Université Paris-Saclay.pp 53.
- [236] **Ultee A., Bennik M. H. J., & Moezelaar R. J. A. E. M. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1561-1568.
- [237] **Daglia M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181. doi:10.1016/j.copbio.2011.08.007
- [238] **Ceruso M., Clement J. A., Todd M. J., Zhang F., Huang Z., Anastasio A., Liu, Y. (2020).** *The Inhibitory Effect of Plant Extracts on Growth of the Foodborne Pathogen, Listeria monocytogenes.* *Antibiotics*, 9(6), 319. Doi :10.3390/antibiotics9060319
- [239] **Burt, S. (2004).** *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review.* *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- [240] **Borges A., Saavedra M. J., & Simões M. (2012).** *The activity of ferulic and gallic acids in biofilm prevention and control of pathogenic bacteria.* *Biofouling*, 28(7), 755–767. doi:10.1080/08927014.2012.706751
- [241] **Pooja D. Gupta, Tannaz J. Birdi.(2017).** Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* 8. 266-275.
- [242] **De Lansing M Prescott et al. (2018).** *Microbiologie de Prescott.* 5ème édition. Rue de bosquet, 7, B-1348 Louvain-la Neuve. Chapitre 8 : le contrôle des microorganismes dans l'environnement. Pp 180.
- [243] **R.J. LAMBERT AND M. STRATFORD. (1999).** Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology* 1999, 86, 157–164.
- [244] **Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y. L., & Sun, X. (2009).** *Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C.* *Meat Science*, 81(4), 686–692. doi:10.1016/j.meatsci.2008.11.011
- [245] **Arnaud F., Denis T., (2019).** Bactéricide: définition et explications, AquaPortail, consulté le 10 juillet 2020, <https://www.aquaportail.com/definition-2136-bactericide.html>.
- [246] **Suren Bahidsky,** Plantes médicinales bactéricides : tuyaux délicieux pour la guérison, consultée le 11 juillet 2020, <https://www.magazine-mode-de-vie.com/plantes-medicinales/plantes-medicinales-bactericides>
- [247] **Denis ., Nicolas., (2019)** Bactériostatique: définition et explications, AquaPortail, consulté le 11 juillet 2020, <https://www.aquaportail.com/definition-2134-bacteriostatique.html>
- [248] (Roux, 2005) Page 42.

- [249] **Vivacite, (2020)**. Découvrez ces antibiotiques naturels et puissants! », Vivacité, 6 janvier 2020, https://www.rtbf.be/vivacite/article/detail_decouvrez-ces-antibiotiques-naturels-et-puissants?id=10400774
- [250] **Mme Panetier P., Melle Payen P., M. Poirier R., Mmes Moreau A et Paris M, M. Vinay T., (2009)**. Risques liés à la présence de moisissures et levures dans les eaux conditionnées. Afssa Agence Française De sécurité Sanitaire Des Aliments, 53, 10 P
- [251] **ESIAB., (s. d.)**. *Généralités*. (s,d.). Champignons. Consulté 11 juillet 2020, à l'adresse <http://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/G%C3%A9n%C3%A9ralit%C3%A9s>
<http://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/G%C3%A9n%C3%A9ralit%C3%A9s>
- [252] **MAKOTO I., CABRIT I., MACRELLE V., FETE F., TESTU C., DEBUISSON A., (2015)**. Généralités sur les champignons. auJardin.info, consulté le 12 juin 2020, <https://www.aujardin.info/fiches/champignons-generalites.php>
- [253] **Charlie Basset., (2011)**. Recherche de composés antifongiques issus de bois durables amazoniens. École doctorale pluridisciplinaire : Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques. Université des Antilles et de la Guyane Faculté de Sciences, Technologies et Santé, 217, 17 P
- [254] **Romain Berthommier., (2017)**. Les bienfaits des levures. A.Vogel (blog), 20 février 2017, consulté le 12 juillet 2002, <https://www.avogel.fr/blog/bienfaits-des-levures/>
- [255] **Leleu G., Aegerter P., & Guidet B. (2002)**. Systemic candidiasis in intensive care units: A multicenter, matched-cohort study. *Journal of Critical Care*, 17(3), 168–175.
- [256] **Levinson W., (2006)**. a. Cutaneous & subcutaneous mycoses. *Review of medical microbiology and immunology*, 659
- [257] **Georgopapadakou, N. H., Walsh, T. J., (1996)**. Antifungal agents: Chemotherapeutic targets and immunologic strategies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40, 279-291
- [258] **DAHODA G, (2001)**. Contribution à l'étude de l'activité antifongique de *Borassus aethiopicum* Mart. (Arecaceae). thèse N°7.
- [259] **Odds, FC, Brown, AJP et Gow, NAR, (2003)**. Agents antifongiques: mécanismes d'action. *Trends in Microbiology*, 11 (6), 272-279.
- [260] **McGeady P., Wansley D. L., Logan D. A., (2002)**. Carvone and perillaldehyde interfere with the serum-induced formation of filamentous structures in *Candida albicans* at substantially lower concentrations than those causing significant inhibition of growth. *Journal of Natural Products* 65, 953-955
- [261] **Gruiz K., Biacs P. A., (1989)**. Membrane lipid composition of *Trichoderma* strains and their sensitivity to saponin and polyene antibiotics. *Biological Role of Plant Lipids*
- [262] **Arreola-Cortés A., Soriano-Bello E. L., Lozoya-Gloria E., Barriga-Guzman A., GarciaPineda E., (2007)**. The effect of acetylation of capsidiol phytoalexin on fungitoxic activity. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 40, 69-73
- [263] **Mezouar D., Lahfa F. B., Abdelouahid D. E., Adida H., Rahmoun N. M., & Boucherit-Otmani Z. (2014)**. Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de racines de *Berberis vulgaris*. *Phytothérapie*, 12(6), 380–385.
- [264] **Christopher Vasey**, Alternatives naturelles aux antibiotiques. Lutter contre les infections en renforçant le terrain, consulté le 14 juillet 2020, http://www.christophervasey.ch/francais/articles/alternatives_naturelles_aux_antibiotiques.html
- [265] **Femme Actuelle., (2014)**. 10 “antibiotiques” naturels et efficaces - Des plantes pour se soigner, consulté le 14 juillet 2020, <https://www.femmeactuelle.fr/sante/medecine-douce/antibiotiques-naturels-03554>
- [266] **Rumi Michael Leigh**. Antibiotiques: Things You Should Know (Questions et Réponses). Chapitre 9.
- [267] **Brisset, J. L. (2011)**. Chimie analytique en solution: Principes et applications. Lavoisier.P 511-512-515-537-538-539
- [268] **Grzych, G., & Duployez, C. (2017)**. Exercices: méthodologie. De Boeck Supérieur.P1
- [269] **Wichtl, M., Anton, R., Bernard, M., & Czygan, F. C. (2003)**. *Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Tec & Doc; Ed. médicales internationales.

- [270] **Penchev, P. I.** (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions (Doctoral dissertation).
- [271] **Feknous, S., Saidi, F., & Said, R. M.** (2014). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Nature & Technology*, (11), 7.
- [272] **Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Detry, P., Ksouri, R., & Fauconnier, M. L.** (2018). Techniques conventionnelles et innovantes pour l'extraction de biomolécules à partir des plantes
- [273] **Grigonis, D., Venskutonis, P. R., Sivik, B., Sandahl, M., & Eskilsson, C. S.** (2005). Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloa odorata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 33(3), 223-233.
- [274] **Ouattara, K., Doumbia, I., Touré, A., Djaman, A. J., & Coulibaly, A.** (2013). Activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Morinda morindoides* (Morinda, Rubiaceae) sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. *Phytothérapie*, 11(3), 172-177.
- [275] **Choutet, P., Courvalin, P., Dabernat, H., Drugeon, H., Dubreuil, L., Goldstein, F., ... & QUENTIN, C.** (1997). COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE.
- [276] **Sourabie, T. S., Nikiema, J. B., Lega, I., Nacoulma, O. G., & Guissou, I. P.** (2010). Etude in vitro de l'activité antibactérienne d'extraits d'une plante de la pharmacopée burkinabé: cas d'*Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4
- [277] **Toty, A. A., Guessennd, N., Bahi, C., KRA, A. K. M., Tokore, D. A., & Dosso, M.** (2013). Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la société royale des sciences de Liège*.
- [278] **Cushnie TPT, Lamb AJ** (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoïds. *Internat J Antimicrob Agents* 1-9

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie microbienne

Titre : Evaluation de l'activité antimicrobienne et anti-oxydant de cinq extraits des feuilles de *beta vulgaris*

Résumé

L'objectif des travaux présentés dans cette étude est la valorisation et l'évaluation de l'activité antimicrobienne du légume *beta vulgaris*. Des extraits bruts des parties aériennes (feuilles) ont été préparés par la méthode d'extraction solide-liquide (Soxhlet), en utilisant des solvants de diverses polarités (N-hexane, Chloroforme, Acétate d'éthyle, N-butanol, Eau). Les extraits ont été soumis à un criblage pour leur activité antimicrobienne possible in vitro, contre cinq souches de bactéries pathogènes et une levure: *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538 , *Bacillus pumilus* ATCC® 14884, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 9027, *Escherichia coli* ATCC® 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC®14028, *Candida albicans* ATCC® 10231. Les méthodes employées sont : la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton à partir d'un disque solide et la méthode des puits. Les résultats ont révélé que ces extraits ont une activité antibactérienne, pouvant être due à leur richesse en molécules naturelles bioactives. Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées, l'extrait hexanique a marqué une forte activité avec un spectre antimicrobien important et même à des doses plus faibles vis à vis des bactéries résistantes aux antibiotiques, comparant aux autres extraits. Selon notre travail, nous recommandons la méthode de diffusion de disque parmi les meilleures méthodes appliquées. L'espèce de *beta vulgaris* est l'une des espèces riches en substances bioactives comprenant notamment des vitamines. L'expérience menée dans le présent travail servira de manière conséquente dans le futur parcours scientifique.

Mot clés : activité antimicrobienne, extraction, solvants, plante médicinale, *beta vulgaris*.

Membre du jury :

Président du jury : ABEDLAZIZ Wided

Maitre de conférences classe B UFM Constantine

Rapporteur : BOULAHROUF Khaled
Constantine

Maitre de conférences classe B UFM

Examineurs : MEZIANI Meriem

Maitre-assistant classe A- UFM Constantine

Présentée par : Boulmaali Rania Bousane Doua Sahraoui Roumaissa

Année universitaire : 2019 -2020

