

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Option : Ecotoxicologue animale

Intitulé

L'optimisation de l'éco-extraction des polyphénols de l'ail triquètre (*Allium triquetrum* L) et l'évaluation de leur activité antioxydante.

Présenter par :

BOUZNAD Cheima

DASSAMIOUR Sirine

BOUCHAREB Mohamed El Amine

Membre de jury :

ZAIDI N.	Professeur	Présidente	Université 20 Août 1955- SKIKDA
LAIB I.	MCA	Directrice de mémoire	Université 20 Août 1955- SKIKDA
BOUCETTA S.	MCA	Examinatrice	Université 20 Août 1955- SKIKDA

Année universitaire 2021/2022



Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier ALAHI tout puissant qui nous a guidés sur le droit chemin et nous a donné le courage et la volonté de continuer et de terminer nos études.

Nous tenons à remercier également les membres de jury professeur ZAIDI N. qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire, et aussi Dr. BOUCETTA S. qui a accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions notre promotrice Dr. LAIB I. à l'Université du 20 Aout 1955, Skikda de nous avoir proposé ce thème, et pour son aide précieuse et ses considérables conseils.

Enfin, nous remercions, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

En signe de respect et de reconnaissance, je remercie ALAH qui m'a aidé à réaliser ce mémoire.

Je dédie Ce modeste travail à ceux qui sont toujours dans Mon coeur:

Chère Professeure LAIB.I.

Mon très Cher père SAAD.

Ma très chère mère ZINEB.

A Ma chère grande mère.

*A ma seule soeur: Sara et à ses enfants : Tesnime , Ilaf , chiraz ,
Sajed et son mari : Ameer*

et a mes frères: Yehyia, Zakaria, Haroun, Abd rahim .

A toute ma grande famille bouznad, bouchoukh

Dédicace à mes partenaires : sirine et mohamed el amine.

À mes très chères Amies : Abir, Imen, widad, chehinez, Rima.Manel, Ghada.

*Et toute la promotion de master Écotoxicologie animal 2021 /2022, et nous
Souhaiterons bonne chance dans leur vie.*

CHEIMA





Dédicace

On remercie dieu le tout puissant de m'avoir donné la volonté d'entamer et de terminer mon cycle universitaire et mes études supérieures.

*Je tiens à remercier tout d'abord mon oncle **Aboud** qui m'a toujours appris que le savoir est la chose la plus importante dans la vie, de chez qui j'ai appris aussi la persévérance et la ponctualité, ma tante **Meriem** qui m'a toujours encouragé, m'a donné l'espoir avec son esprit d'humour et son optimisme.*

*Mes chers parents **Abdesselem** et **Samia** auxquels je ne trouve pas les mots et les expressions qui valorisent leur amour éternel, soutien et vos sacrifices.*

*Mes chères sœurs **Roumaissa** et **Hind** qui m'ont beaucoup aidé dans mon parcours sans oublier l'adorable **Hidaya** (fille de **Roumaissa**)*

*A la mémoire de ma tante **Razika** que dieu lui fasse miséricorde.*

*Chère Professeure **LAIB.I.***

*Dédicace à mes partenaires : **Cheima** et **Mohamed el Amine***

*Merçi .. **Sirine** ..*

Dédicaces

En signe de respect et de reconnaissance, je remercie ALAH qui m'a aidé à réaliser ce mémoire.

Je dédie ce travail :

A la lumière de mes yeux et le bonheur de ma Vie : ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice et ses encouragements.

Mes chères sœurs

*A toute ma grande famille **BOUCHAREB.***

A toutes mes amies

Dédicace à mes partenaires :sirine et cheima.

A toutes mes amies

MOHAMED EL AMMINE

SOMMAIRE

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Ail triquètre (*Allium triquetrum*)

1. Description morphologique	3
2. Origine et habitat	3
3. Classification	3
3.1. Appellations	3
3.2. Taxonomie (position systématique)	4
3.3. Description botanique	4
3.3.1. Feuilles et tige florifère	4
3.3.2. Les bulbes.....	5
3.3.3. Inflorescences et fleurs.....	6
3.3.4. Fruit et graines.....	6
4. Bienfait d'ail triquètre	7
5. Utilisation d'ail triquètre en Algérie	7

CHAPITRE II : les composés phénoliques

1. Généralité sur les polyphénols	8
2. structure et Classification des composés polyphénoliques	8
2.1. Les phénols simples et les acides phénoliques.....	9
2.1.1. Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque	9
2.1.2. Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique	9
2.2. Les Flavonoïdes.....	10
2.3. Les tanins	12
2.3.1. Les tannins hydrolysables	13
2.3.2. Les tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols	13

2.4. Coumarines.....	13
2.5. Quinones.....	13
2.6. Stilbénes	14
2.7. Lignanes	14
3. Biosynthèse des composés phénoliques	14
4. localisation des polyphénols.....	14
5. propriétés et activités biologiques des polyphénols	
5.1. Activité antioxydant	15
5.1.1. Piégeage des radicaux libres	16
5.1.2. Chélation des ions métalliques	17
5.1.3. Inhibition enzymatique.....	18
5.2. Activité antibactérienne.....	18
5.3. Activité anti-inflammatoire	19
5.4. Activité anti-tumorale	19
5.5. Activité anti cardiovasculaire.....	19
5.6. Activité anti diabétique	20
➤ Polyphénols et autres pathologies	21

CHAPITRE III : Méthodes D'éco-extraction

1. Généralité sur les méthodes d'éco-extraction.....	23
2. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques	24
2.1 Extraction conventionnelle par solvant (ECS)	25
2.2 Méthodes d'intensification de l'extraction conventionnelle par solvant.....	25
2.2.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU).....	25
2.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (EAM)	26
2.2.3. Extraction par fluide pressurisé (EFP)	26
2.2.4. L'extraction par eau sous-critique (EESC)	27
2.2.5. Extraction par CO ₂ supercritique (SC-CO ₂).....	27
➤ Approches combinées pour l'intensification de l'extraction	28

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétale	29
2. Extraction de composés phénoliques	29
3. Dosage des composés phénoliques	
3.1. Dosage des polyphénols totaux	30
3.2. Dosage de flavonoïdes totaux	31
3.3. Dosage de tanins	32
4. Détermination de l'activité antioxydante d'ail triquètre	32
4.1. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode DPPH	33
➤ Analyses statistiques	36

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Teneurs en composés phénoliques d'ail triquètre.	37
1.1. Courbes d'étalonnage	38
1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux d'ail triquètre	38
1.3. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des flavonoïdes d'ail triquètre	41
1.4. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des tanins de l'ail triquètre	44
1.5. Discussion	46
2. L'évaluation de l'activité antioxydante.....	49
2.1. Détermination IC50.....	51
2.2. Discussion	51

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

L'objectif de cette étude est d'optimiser l'ecoextraction des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) de l'ail triquètre (*Allium triquetrum* L.). ainsi que leur activité antioxydante. L'optimisation des teneurs des composés phénoliques a été réalisée par un plan d'expérience composite centré à deux facteurs (concentration de solvant et temps de macération). Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins d'ail triquètre ont été déterminés par dosage spectrophotométrique. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par le méthode DPPH. Les résultats obtenus montrent que les teneurs optimales des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins sont de (11,54 mg EAG/g ,14,03mg EQ/g ,9,35mg EAT/g, respectivement. Une forte capacité antioxydante a été observée pour les extraits d'ail triquètre avec un IC50 de 0,15 mg/ml.

Mots clés : polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins, *Allium triquetrum* L., éco-extraction, plan composite centré.

Abstract

The objective of this study is to optimize the eco-extraction of phenolic compounds (total polyphenols, flavonoids and tannins) from triquetrum garlic (*Allium triquetrum* L.) and their antioxidant activity. The optimization of phenolic compounds contents was determined by a central composite experimental design focused on two factors (solvent concentration and maceration time). The contents of total polyphenols, flavonoids and tannins of triquetrum garlic were carried out by the DPPH method. The results obtained show the optimal contents of total polyphenols, flavonoids and tannins are (11.54 mgEAG/g, 14.03 mgEAG/g, 9.35 mgEAG/g), respectively a high antioxidant capacity was observed for the triquetrum garlic extracts with an IC₅₀ of 0.15 mg/ml.

Key words: Total polyphenols, flavonoids, tannins, *Allium triquetrum* L., eco-extraction, Central composite design

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحسين الاستخراج الصديق للبيئة لمركبات البوليفينول (البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص) من الثوم ثلاثي النواة (*Allium triquetrum* L) بالاضافة الى نشاطها المضاد للأكسدة. تم تحسين مستويات المركبات الفينولية من خلال اثنين : الخطة التجريبية المركبة لمركز العوامل (تركيز المذيب ووقت النقع). تم تحديد محتويات البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص في الثوم الثلاثي بواسطة الفحص الطيف الضوئي. تم إجراء تقييم الفعالية المضاد للأكسدة بواسطة طريقة DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستويات المتلى لمجموع البوليفينول والفلافونويد والعفص هو (11.54 مجم / EAG جم ، 14.03 مجم / EQ جم ، 9.35 مجم / EAT جم ، على التوالي). وقد لوحظت قدرة قوية مضادة للاكسدة في مستخلصات الثوم الثلاثي مع IC50 0.415 مجم / مل.

الكلمات المفتاحية : البوليفينول الكلي. الفلافونويد. العفص الثوم البري. الاستخلاص البيئي. الخطة المركبة المركزة.

EHS : Environnement, Health, Safety .

COV: Composés Organiques Volatils.

COVNM : Composés Organiques Volatils Non Méthanique.

DPPH : 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle

EAG : équivalent acide gallique

EAT : équivalent acide tannique

EQ : équivalent quecétine

FT : teneur en flavonoïdes

MDA : Malondialdéhyde

PPT : Polyphénols totaux

SAPG.III : Système de classification phylogénique des Angiospermes Groupe III

TCA : Trichloracétique

LDL : Low density lipoprotein

SOD : Super Oxyde Dismutases

LC-MS/MS : Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

CEP : Champs électriques pulsés

EC : Equivalent catéchine

ARN :Acide ribonucléique

ADN : Acide désoxyribo nucléique

DIC : la Détente instantanée contrôlée

UV : Ultra-violet

FC : Folin-Ciocalteu

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane

R² : coefficient de détermination

COX : cyclooxygénase

ANOVA : analyse de variance

T : Teneur

t : Temps

% : Pourcentage

V : Volume

A : concentration du solvant

B : temps de macération

LISTE DES ABREVIATIONS

AB : interaction des deux facteurs

AA : terme quadratique du concentration du solvant

BB : terme quadratique du temps de macération

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : les feuilles et la tige florifère d' <i>Allium triquetrum</i>	5
Figure 2 : Les bulbes d' <i>Allium triquetrum L</i>	5
Figure 3 : Ombelle d' <i>Allium triquetrum L</i> . et les parties de sa fleur.....	6
Figure 4 : Structure du 2-phényle chromane.....	10
Figure 5 : Structure générale des flavonoïdes.....	10
Figure 6 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes.....	12
Figure 7 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).....	13
Figure 8 : Localisation des polyphénols dans la cellule végétale.	15
Figure 9 : Les 12 principes de la chimie verte.	16
Figure 10 : Les 6 principes de l'éco-extraction.	17
Figure 11 : Ail triquètre <i>Allium triquetrum L</i>	29
Figure 12 : Protocole d'extraction des polyphénols.....	30
Figure 13 : Mécanisme d'action du DPPH.	33
Figure 14 : Représentation graphique d'un plan d'expérience central composite à deux facteurs (X1 et X2) et trois niveaux (-1, 0 et +1) avec les valeurs extrêmes $\pm \alpha$	35
Figure 15 : Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) : 1 : Acide gallique ; 2 : Quercétine ; 3 : Acide tannique.....	38
Figure 16 : Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux.....	40
Figure 17 : Surface de réponse du taux des polyphénols totaux de l'ail triquètre en fonction des du concentration de solvant et temps de macération.	41
Figure 18 : Optimisation de concentration du solvant et de temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'ail triquètre en fonction de la désirabilité.	41

LISTE DES FIGURES

Figure19 : Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des flavonoïdes de l'ail triquètre.....	43
Figure20 : Surface de réponse du taux des flavonoïdes de l'ail triquètre en fonction des temps de macération et concentration du solvant.....	43
Figure 21 : Optimisation des temps de macération et concentration du solvant pour l'extraction des flavonoides de l'ail triquètre en fonction de la désirabilité.	44
Figure 22 : Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des tanins de l'ail triquètre.....	45
Figure23 : Surface de réponse du taux des tanins de l'ail triquètre en fonction de la concentration du solvant et le temps de macération	46
Figure 24 : Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des tanins de l'ail triquètre en fonction de la désirabilité ¹	46
Figure 25 : Teneurs optimales en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins d'ail triquètre.	47
Figure26 : Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) de l'activité antioxydante.....	50
Figure 27 : Surface de réponse de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'ail triquètre en fonction du temps de macération et concentration du solvant.....	50
Figure 28 : Prédiction d'IC50 en fonction de la désirabilité ¹	51

51 Liste des tableaux

Tableau 1 : Noms vernaculaire de l'ail triquètre.....	3
Tableau 2 : classification d' <i>Allium triquetrum</i> L.	4
Tableau 3 : Classification des polyphénols.....	9
Tableau 4 : Matrice d'essai du plan de composite centré pour l'évaluation des polyphénols totaux de l'ail triquètre.	39
Tableau 5 : Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en flavonoïdes de l'ail triquètre.	42
Tableau 6 : Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en tanins de l'ail triquètre.....	44
Tableau 7 : Matrice d'essai du plan de composite centré pour l'évaluation de l'activité antioxydante	49
Tableau 8 : Valeurs d'IC50 (mg/ml).....	51



INTRODUCTION

Allium triquetrum L. (Alliaceae) également connu sous le nom de poireau à trois angles, oignon triangle ou ail à tige triangulaire ; est une plante à fleur, vivace, bulbeuse, originaire, de la région méditerranéenne occidentale et centrale (PARSON et CUTHEBERSTON, 2001) étant couramment trouvée dans les écosystème des zones humides. plante annuelle, a tige molle triquète (triangulaire, à angle aigus) de 10 à 40 cm épaisse, ce rétrécit progressivement de la base jusqu'à l'inflorescence. Les fleurs sont glabres, planes dessus et aigues dessous. Les fleurs sont blanches en clochettes pendantes, elle comporte 6 à 12 fleurs pédicellées (généralement penchée du même côté). Le bulbe est capsulaire, blanc, petit, tendre et à odeur de poireau. L'identification d'ail triquète n'est pas difficile. L'ail triquète se distingue des autres espèces du genre *Allium* par la forme à trois angles de la tige florifère, les fleurs aux tépales blancs et aux bandes vertes centrales, et son odeur distinctive d'oignon (PARSON et CUTHEBERSTON, 1992 ; WALSH et ENTWISLE, 1994).

Les bienfaits pour la santé d'*A. Triquetrum* L. sont liés à la présence de métabolites secondaires spécifiques, en particulier les composés phénoliques. En fait, les bulbes et les fleurs d'oignon triangulaire sont riches en flavonoïdes, comme les glycosides de kaempférol, et les saponines. Les propriétés antioxydantes puissantes d'ail triquète sont étroitement liées à ces composés phénoliques (COREA *et al.*, 2003 ; MACCELLI *et al.*, 2020).

Prenant conscience du potentiel nutritionnel et thérapeutique des composés bioactifs naturels d'ail triquète ont acquis une importance significative dans la préparation de nombreux produits en particulier dans les domaines nutraceutiques, pharmaceutique et cosmétique (HERZI, 2013 ; ZHANG *et al.*, 2020).

De ce constat, L'extraction de ces composés constitue une étape technologiquement importante mais les procédés classiques qui sont habituellement utilisés requièrent généralement l'utilisation de solvants toxiques, des températures élevées pendant des temps de traitement longs entraînant ainsi des consommations importantes d'énergie (PRADAL, 2016), il paraît donc indispensable d'agir et améliorer ces techniques conventionnelles en vue d'aboutir à des produits sûrs, de meilleure qualité, issus de technologies alternatives efficaces, rentables et plus protectrices de l'environnement.

C'est dans ce cadre que les principes de l'approche d'extraction verte ont été définis. Parmi ces techniques, les traitements électriques (Champs électriques pulsés (CEP), Décharges électriques de haute tension), électrothermiques (Chauffage ohmique), la Détente instantanée contrôlée (DIC), les hautes pressions, les micro-ondes ou les ultrasons se sont développés ces dernières années pour l'extraction de composés fonctionnels à partir des

végétaux. Ces procédés favorisent la dénaturation des membranes cellulaires et par conséquent améliorent le potentiel d'extraction à partir de la matrice végétale et présentent l'avantage d'être des méthodes sélectives, de courte durée de traitement et de faible consommation énergétique. Elles permettent la création des pores dans les membranes cellulaires et une réduction voire même élimination totale de l'utilisation de solvants organiques (CHEMAT *et al.*, 2019 ; WANG *et al.*, 2019 ; ZHANG *et al.*, 2020).

Ces procédés verts représentent des approches prometteuses car elles permettent de surmonter les limites actuelles de l'exploitation et l'application des extraits végétaux à l'échelle industrielle (STAROWICZ *et al.*, 2019) et elles aboutissent à un produit de haute qualité avec une absence de résidus de solvant organique et de dégradation thermique.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'optimiser l'ecoextraction des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) de l'ail triquètre et ainsi que leur activité antioxydante.

Ce travail est organisé en deux parties : La première partie "*Revue bibliographique*" est une étude bibliographique ayant pour objectif de dresser un bilan de connaissances sur les Polyphénols, les méthodes d'ecoextraction ainsi que la plante étudiée *Allium triquetrum* L. La deuxième partie comporte sur le matériel et les méthodes utilisés pour effectuer l'optimisation des teneurs des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins), et l'activité antioxydante (activité antiradicalaire DPPH). Ainsi que les résultats obtenus et la discussion de ces derniers. Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et les perspectives envisagées.



Synthèse Bibliographique



Chapitre I: L'ail tréquète (*Allium triquetrum* L.)

1. Description morphologique

Ail à trois angles : plante vivace, bulbeuse, de 10 à 25 cm de haut, la tige est épaisse à section triangulaire et à angles aigus. Les feuilles sont basales, vertes et étroites, à la surface supérieure plane. L’inflorescence est en ombelle comprenant 6 à 12 fleurs pédicellées (généralement penchées du même côté), de couleur blanche veinée de vert, à division lancéolées. Les fruits sont capsulaires (**DUPONT, F et GUIGNARARD, J-l., 2012**) (**ANGIOSPEM PHYLOGENY GROUP ,2012**)

2. Origine et habitat

La plante de l’ail triquètre a été décrite et dénommée par CARL LINNAEUS en 1750. Selon **PELLOTE (2008)**, elle est originaire des pays africains et européens situés dans la région méditerranéenne (Afrique du nord, Ethiopie, France, Péninsule Ibérique et Péninsule Apennine) et elle est naturalisée sur les Iles Britannique , la Normandie, en 1909 , au sud d’Australie (**CUTHERSTON,1992**) . En Algérie , elle est surtout commune au tell et assez rare à l’ouest (**QUEZELET SANTA, 1963 ; BABA AISSA 1999**).

L’ail triquètre s’installe dans des friches sèches à fraîches et préfère une exposition ensoleillée à semi-ombragée. Le substrat doit être limono-graveleux ou argilo-sableux. Cette espèce est indicatrice des zones humides et elle supporte des températures jusqu’à à 12°C (**QUEZEL et SANTA ,1963 ; BABA AISSA 1999 ; PELLOTÈ, 2008**)

3. Classification:

3.1 .Appellations :

Dans le tableau ci-dessous sont donnés les noms vernaculaires de la plante étudiée

Tableau 1 : Noms vernaculaire de l’ail triquètre (**BABA AISSA, 1999 ; COREA et al. 2003, DEROEK, 2014**).

Langues	Appellations
Anglais	Angled onion, Triangle onion, triangular-stalked garlic, three-comered leek, triquetrous garlic or leek , onion weed.
Français	Ail triquètre, ail à tige triquètre, ail à trois anges, ail companulé, ail sauvage.
Arabe	Thoum elghaba(ail forestier),bassal edzib(oignon de chacal).
Kabye	Bibras ou vivras.

3. 2.Taxonomie (position systématique) :

Le nom botanique de l'ail triquètre est *Allium triquetrum* L. est une plante à fleur monocotylédones (angiospermes). Selon la flore d'Australie (1985), elle appartient à la classe des Liliopsida, famille des Liliacées et sous-famille des Alliacées . Toutefois selon le système de classification phylogénique des Angiospermes Groupe III (APGIII), *Allium triquetrum* L. appartient à l'ordre des Asparagales, famille des Amaryllidacées est sous-famille des Allioidées (QUEZEL et SANTA, 1963).

Tableau 2 : classification d'*Allium triquetrum* L. de la flore d'Australie et l'APG III.

Flore d'Australie	APG.III
Règne : Plantes	Règne : Plantes
Sous-règne : Plantes vasculaires	Sous-embranchement : Angiospermes
Embranchement : Spermaphytes	Classe : Monocotylédones
Classe : Liliopsida-Monocotylédones	Ordre : Asparagales
Sous-classe : Liliidées	Famille : Amaryllidacées
Ordre : Liliales	Sous-famille : Allioidées
Famille : Liliacées	Genre : <i>Allium</i>
Sous-famille : Alliacées	Espèce : <i>Allium triquetrum</i> L.
Genre : <i>Allium</i>	
Espèce : <i>Allium triquetrum</i> L.	

3.3. Description botanique :

La description de l'ail triquètre a été faite à partir de notre observation personnelle et à partir de celle rapportée dans la littérature (QUZELE et SANTA ,1963 ; BABA AISSA ,1999 ; BLOOD, 2001 , BOCK, 2013 , DEROOCK ,2014).

3.3.1. Feuilles et tige florifère :

Allium triquetrum L. est une plante vivace, herbacée d'une hauteur de 15 à 50 cm qui varie en fonction de la provenance et des conditions environnementales.

Le nombre de feuilles diffère et chaque plante se compose généralement de 2-5 feuilles et de 1-2 tige florifère par bulbe (**FIGURE1**). Les feuilles sont larges de 5-15 millimètres, vertes, planes, glabres, lancéolées, caduc ayant une odeur d'ail forte lorsqu'elles sont coupées ou écrasées.

Le pédoncule est un peu épais, triangulaire, dressé découlant directement du bulbe et le plus souvent plus long que les feuilles. Il se termine par une ombelle contenant chacune 6-10 fleurs (**PARSONS, 2001**).



Figure 1 : les feuilles et la tige florifère d'*Allium triquetrum*

3.3.2. Les bulbes

Les bulbes et les bulbilles sont généralement ovoïdes, blanc –crèmes, avec une odeur forte d'ail. Le bulbe est un organe de stockage souterrain lorsque le feuillage meurt. Ils forment la jeune plante de la plante prochaine saison de croissance. Avant la croissance, l'ail triquetre est sous forme d'un petit bulbe tunique ou d'un groupe de bulbilles avec une grappe de racines blanches charnues. La longueur des racines varie selon la saison et le type du sol (**TEHRANCHIAN, 2011**).



Figure 2 : Les bulbes d'*Allium triquetrum* L .

3.3.3. Inflorescences et fleurs :

Les fleurs d'*Allium triquetrum* sont campanulées (en clochette) et pendulaire. L'ombelle est sous-tendue par une spathe (bractées unies), les fleurs sont hermaphrodites et sont de 5-10 par ombelle. Leur pétale est blanc avec une raie centrale verte. Le pédicelle est plus long que la fleur, les fleurs sont actinomorpes et le gynécée (pestil) comprend un ovaire supère à trois loges, un style court et un stigmate divisé en trois. L'ovaire à trois carpelles unis, chacun avec 1 à 2 ovules par loge ; les fleurs sont chasmogames. **GARCIA et al, (2006)** signalent que les fleurs s'ouvrent même lorsque les anthères ont encore fermées. L'androcée est composé de six étamines, soudée à la base des tépales, dont trois internes (longues) et trois sont externes (petites). Cette différence diminue, après la floraison, de 1,2 mm environ à 0,5 mm. Les étamines longues sont presque à la verticale lors de la l'anthèse puis pliées vers le bas, les étamines sont plus longues que le style.

L'ail triquetre a plusieurs stades de croissance : les graines germent dans la première année et les bulbes seront formés à partir de la seconde année ; cependant, les graines sont produites si les fleurs sont fécondées chaque année. Généralement, la période de floraison a lieu entre les mois de Mars et Mai, mais elle peut être significativement modifiée par les conditions saisonnières et de la température après la maturation des bourgeons. Selon **EICHII et al. (2000)**. Les bulbes stockés à 5 -10°C s'épanouissent plutôt que ceux stockés à 15°C.



Figure 3 : Ombelle d'*Allium triquetrum* L. et les parties de sa fleur.

3.3.4. Fruits et graines

Après fécondation, une capsule globulaire verte par fleur se formera. La taille des capsules diffère en fonction du nombre de graines ; celles –ci sont également généralement en nombre de six par capsules, noires et ovoïdes. Les graines ont une courte durée de vie (1an) et chaque plante peut produire jusqu'au 50 graines par saison (**BLOOD ,2001**).

La propagation d'*Allium triquetrum* L. se fait par voie végétative des bulbes et semences ; la dissertions est barochore. Les graines germent à l'automne. Les feuilles (2 à 4)

se forment en hiver et les bulbes à la fin de l'hiver et au début du printemps. La plante meurt en début d'été et subsiste par les bulbes et bulbilles qui poussent de nouvelles feuilles dans la prochaine saison de croissance (Automne) (BLOOD ,2001).

Les graines peuvent être disséminées par le vent, le labourage, les insectes (les fourmis en particulier), les animaux et les mouvements du sol et de l'eau (BLOOD ,2001).

4. Bienfaits d'ail triquètre

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* et un certain nombre d'essais cliniques se sont concentrés sur les effets bénéfiques de la supplémentation alimentaire d'extraits des plantes de genre *Allium* (ROSE *et al.*,2005 ; SINGH et SINGH, 2008) contre les infections (SHARIFI-RAD *et al.*, 2016), l'hypertension (KHATUA *et al.*, 2013) le cancer (HERMAN-ANTOSIEWIC *et al.*, 2007) l'hypercholestérolémie (Liu et Yeh, 2002) , l'inflammation (BORLINGHAUS *et al.*, 2014) et le stress oxydatif (MENACER *et al.*, 2017). Ces effets précieux sont attribués. à la présence de plusieurs composants bioactifs (LANZOTTI, 2012 ; ZENG *et al.*, 2017) dont les composés phénoliques (COREAL *et al.*, 2003), les composés soufrés(LAMZOTTI, 2006) tels que l'alliine et ses dérivés formés par une cascade enzymatique, c'est-à-dire l'allicine et l'ajoène, le diallyl di- et le trisulfure, qui sont responsables de l'ail typique arôme (YANG *et al.*, 2019). Les extraits méthanolique des bulbes et de fleurs d'*A. Triquetrum* L. se sont révélés efficaces contre les bactéries à Gram positif (*Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp et *Staphylococcus aureus*), et encore plus efficaces contre les bactéries à Gram négatif (*Proteus mirabilis*, *Acinetobacter* spp. , *Klebsiella pneumonia* et *Escherichia coli*). Ces extraits ont également montré une activité antifongique contre *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* (MENACER *et al.*, 2017). RABAH *et al.* (2020) ont rapporté que les extraits des bulbes, des fleurs et de feuilles d'*A. triquetrum* ont montré une inhibition significative de la croissance de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) a été évaluée *in vitro*.

5. Utilisation d'ail triquètre en Algérie

L'ail triquètre est utilisé comme ingrédient principal dans les salades, les soupes et les tourtes. Ses fleurs sont employées pour cicatriser les plaies et ses feuilles sont utilisées pour aromatiser les galettes de pain ou assaisonner les salades. Les jeunes feuilles et le cœur des racines se mangent crus ou cuits à la vapeur et ils peuvent accompagner d'autres légumes dans le couscous .Le jus de l'ail triquètre est utilisé comme insectifuge et il possède des propriétés antiseptiques propres à toutes les espèces du genre *Allium* (BABA AISSA, 2011 ; HIMED, 2015).



Chapitre II: Composés phénoliques

1. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (WAKSMUNDZKA-HAJNOS ET SHERMA, 2011).

Les poly phénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production (WAKSMUNDZKA-HAJNOS ET SHERMA, 2011).

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (PARR et BOLWELL, 2000).

Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyranne. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'atome central et la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de liaison hétéro osidique (PARR et BOLWELL, 2000).

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécule d'acétyl coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (PARR et BOLWELL, 2000).

Les plantes consommées par l'homme fournissent plus de 8000 composés phénoliques classés en différentes familles selon la nature de leur squelette carboné (BRUNETON, 2009).

1. Structure et classification des composés polyphénoliques

La structure chimique des polyphénols est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes et les phénols complexes (Tanins et lignines) (BOROS *et al.*, 2010).



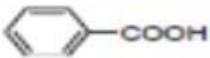
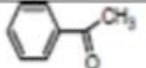
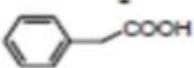
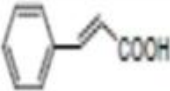
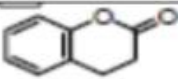
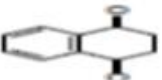
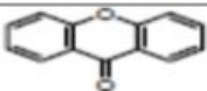
Nombre de carbone	Classe	Structure chimique	Sources
C6	Phénols simples		Céréales, abricot, banane, chou-fleur
	Benzoquinones		
C6-C1	Acide benzoïque		
C6-C2	Acétophénonnes		
	Acide phénylacétique		
C6-C3	Acide cinnamique		Carotte, tomate, céréales, aubergine
	Coumarines		Carotte, céleri, citron, persil
C6-C4	Naphthoquinones		Abricot
C6-C1-C6	Xanthones		Mangue

Tableau 3 : Classification des polyphénols (GARCIA-SALAS *et al.*, 2010).

1.1. Phénols simples et les acides phénoliques :

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique.

1.1.1. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque

Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables.

D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique (BRUNETON, 1993).

1.1.2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique

La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides *p*-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides *o*-coumarique, *o*-férulique) sont peu fréquents (BRUNETON, 1993). Les acides cinnamiques et caféique sont des

représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation (COWAN, 1999).

1.2.Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante (TSIMOGIANNINS et OREOPOULOU, 2006).

Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux (MUKOHATA *et al.*, 1978), dans la régulation de gène et dans le métabolisme de croissance (HAVSTEEN, 2002). Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (EDENBARDER et GRÜNHAGE, 2003) et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane (YAO *et al.*, 2004) (Figures 4 et 5).

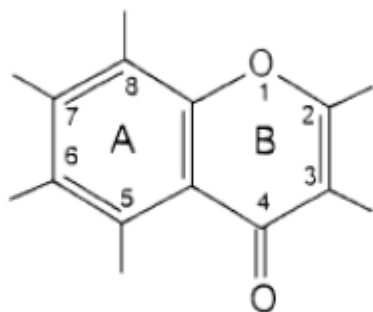


Figure 4 : Structure du 2-phényle chromane flavonoïdes.

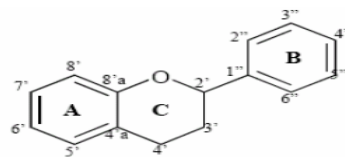
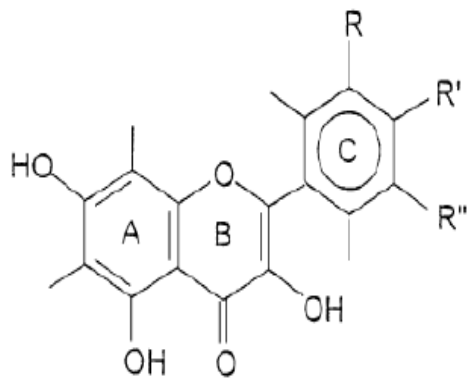
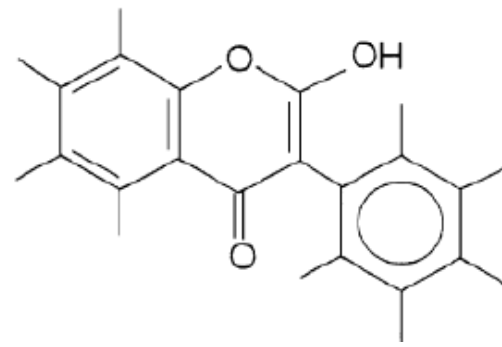


Figure 5 : Structure générale des flavonoïdes.

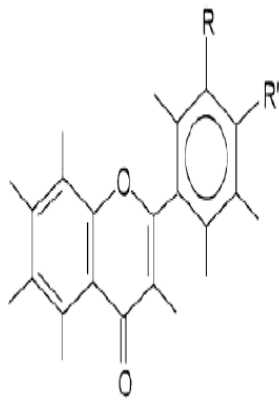
La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des Conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3Oet la fonction 4-oxo (YAO *et al.*, 2004 ; TSIMOGIANNINS et OREOPOULOU, 2006). En basant sur Leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes (HAVSTEEN, 2002 ; EDENHARDER et GRÜNHAGE, 2003) (Figure 6).



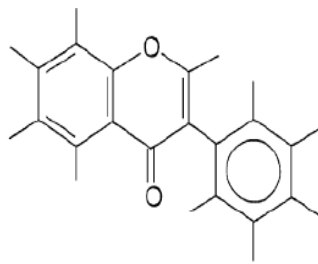
Flavonoles



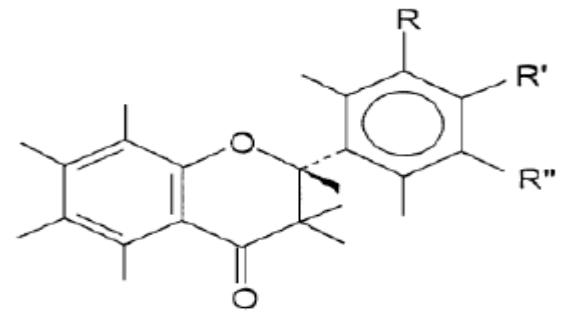
Isoflavonoles



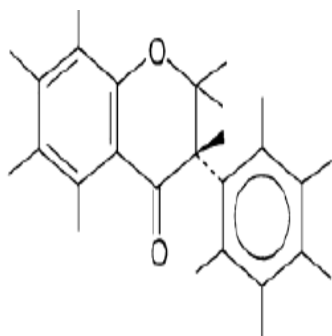
Flavones



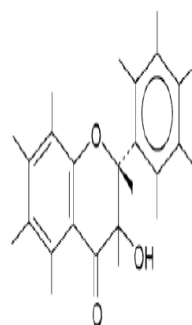
Isoflavones



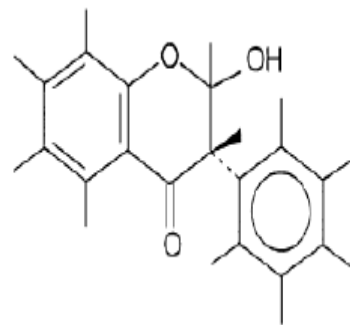
flavanones



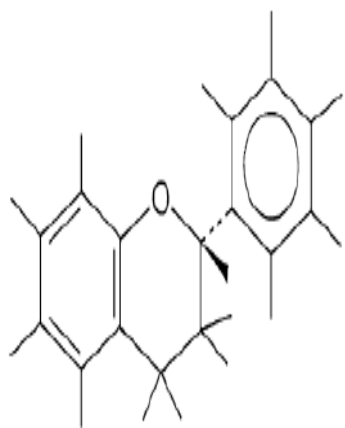
Isoflavanones



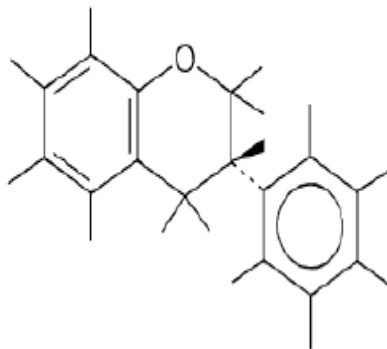
flavanols



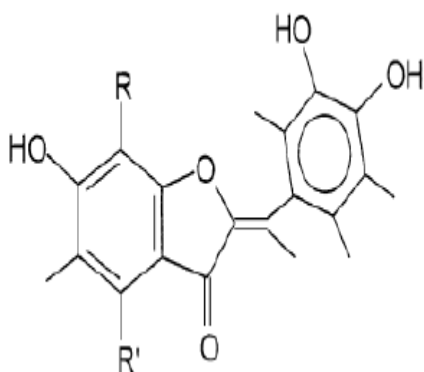
isoflavanols



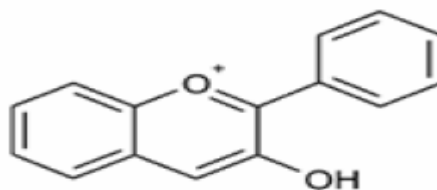
Flavanes



Isoflavanes



aurones



anthocyanidines

Figure 6 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes (HAVSTEEN, 2002).

1.3.Tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000g/mol qui présente, à côté des

réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (HASLAM, 1996 ; COWAN, 1999). Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (SCALBERT, 1991). On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

1.3.1. Tannins hydrolysables

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (**Figure 7**) (**BRUNETON, 1993 ; COWAN, 1999**).

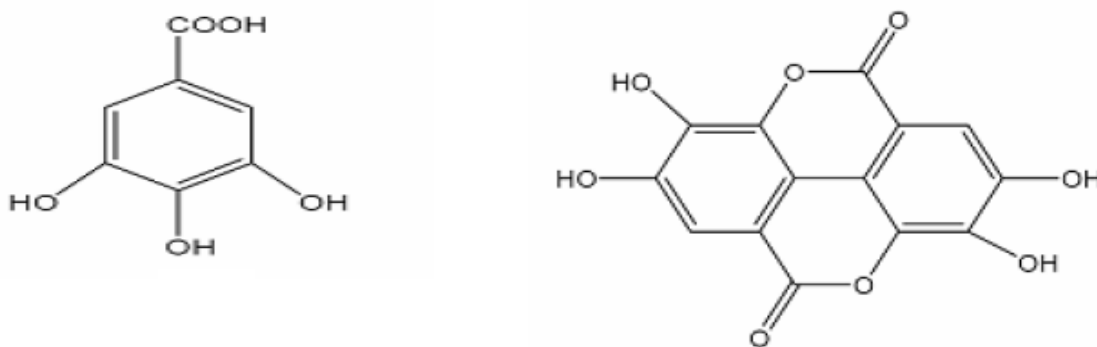


Figure 7 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)

1.3.1. Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols

Qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit de polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (**BRUNETON, 1999**).

1.4. Coumarines

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C₆-C₃, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone (**O'KENNEDY et THORNES, 1997**) et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combinées avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**COWAN, 1999**).

2.5. Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto-cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto-cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) (**BRUNETON, 1993**). Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (**COWAN, 1999**).

2.6. Stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**CROZIER *et al.*, 2006**).

2.7. Lignanes :

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante dix familles.

2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.
- celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les 1,8-dihydroxyanthraquinones ou les naphthoquinones (**BRUNETON, 1999 ; KAN *et al.*, 2007**).

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, tels que les flavonoïdes (**MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002**).

3. Localisation des polyphénols

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales. Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons (**BENARD, C. (2009)**).

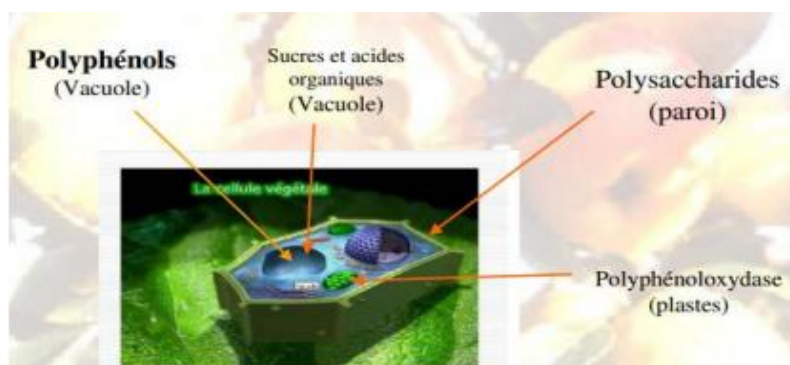


Figure 8 : Localisation des polyphénols dans la cellule végétale

Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme.

Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis. Chez la pomme par exemple, les composés phénoliques interviennent au niveau de la coloration de la peau via les anthocyanes, et dans la qualité organoleptique de la chair, notamment pour l'amertume ou l'astringence. **BENARD (2009)**.

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistanceaux UV).

Toutes les catégories de composés phénoliques sont impliquées dans les mécanismes de résistance. **DICKO *et al.*, (2006)**. Ils assurent la communication entre cellules, entre végétaux, entre végétaux et animaux **ROBERT, D. et CATESSON, A. M. (2000)**.

5. Propriétés et activités biologiques des polyphénols

5.1. Activité antioxydante

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés. Les polyphénols, naturellement présents dans les aliments ou formés au cours des procédés de transformation sont considérés comme éliminateurs des radicaux libres (**TLILI, 2015**).

5.1.1. Piégeage des radicaux libres

Les composés phénoliques ont des propriétés antioxydantes en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres (**Figure 9**) et les espèces réactives de l'oxygène, le processus est radicalaire (**SÖKMEN *et al.*, 2012**).

Ils interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules par la donation rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux libres selon un mécanisme proposé dès 1976 par **SHERWIN** : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un radical intermédiaire. Il est stabilisé par ses structures mésomères conjuguées (**SÖKMEN *et al.*, 2012**)

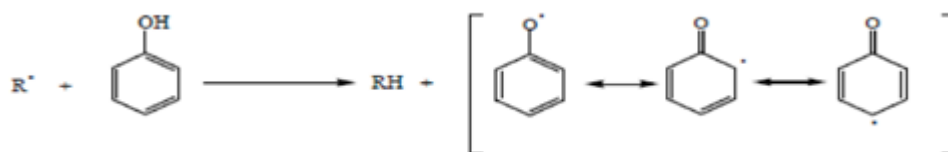


Figure 9: Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.

Les radicaux intermédiaires phénoxy (PO^\bullet) sont relativement stables en raison de la résonance et donc une nouvelle réaction en chaîne n'est pas facile à initier (**DAI et MUMPER, 2010**). Par ailleurs, ils peuvent agir avec d'autres radicaux libres selon la réaction :



Les composés phénoliques possèdent une structure chimique idéale pour le piégeage des radicaux libres, parce qu'ils possèdent :

- Des groupes phénoliques hydroxyles qui sont susceptibles de donner un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre.
- Un système aromatique stabilisé par la résonance (**DAI et MUMPER, 2010**).

Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier sont de bons piégeurs des radicaux libres (**FRAGA, 2007**).

A cause la présence de 3',4'-dihydroxy et la présence du groupe O-dihydroxy (structure des catéchol) sur le noyau aromatique B; ils possèdent la propriété de donneur d'électrons. En outre, la présence du 3-OH du cycle C est également bénéfique pour L'activité antioxydant des flavonoïdes. La présence de la double liaison $\text{C}_2\text{-C}_3$ conjuguée avec le groupe

4-céto est responsable de la délocalisation des électrons du noyau B, ce qui améliore encore l'activité anti radicalaire (Figure10) (AMIC *et al.*,2003).

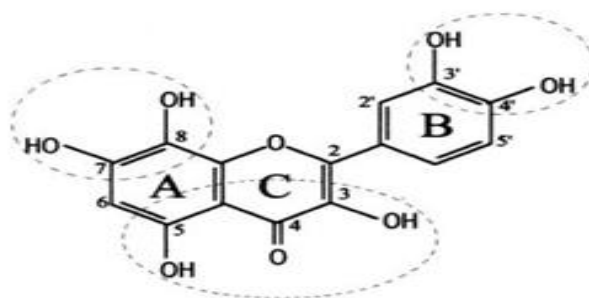


Figure 10 : Caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée (AMIC *et al.*, 2003).

5.1.2. Chélation des ions métalliques

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physiologiques cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus, à titre d'exemple Cu^{2+} est un stimulateur de la peroxydation des LDL (TIWARI, 2001).

Les Composés phénoliques avec catécholate et groupes gallate peut inhiber le métal-induit la formation du radical oxygène soit par coordination avec le Fe^{2+} et le renforcement de l'auto-oxydation de Fe^{2+} soit par la formation de complexe inactif avec le Cu^{2+} , Fe^{2+} ou le Cu^+ relativement avec faible interaction(PERRON *et al.*, 2009).



La chélation des ions métalliques par les flavonoïdes nécessite trois sites principaux :

- Noyau catéchol sur le cycle B.
- Les groupe 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C.
- Le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycle A et C (PIETTA, 2000 ; HEIM *et al.*, 2002).

A titre d'exemple ; la quercétine et la myricétine répondent à tous ces critères nécessaires pour avoir une activité anti radicalaire efficace et importante (MIDDLETON *et al.*, 2000).

5.1.3. Inhibition enzymatique

En raison de la présence de multiples fonctionnalités phénol, ils interagissent avec les protéines si fortement, que la précipitation des complexes protéines-polyphénols se produit fréquemment, ce qui est la base de leur utilisation dans le processus de tannage du cuir (**HANDIQUE et BARUAH, 2002**).

Les phénomènes d'interaction polyphénols-protéines ont été largement étudiés *in vitro*, particulièrement dans le cas des flavonoïdes (**ROLO et al., 2009**). Afin de préciser le mécanisme d'action de l'activité inhibitrice des flavonoïdes, des études ont été réalisées sur l'effet de la quercétine sur l'oxydation de l'acide linoléique par une lipoxigénase.

Ces auteurs ont constaté que le mécanisme d'inhibition des lipoxigénases par la quercétine ne serait pas dû à une complexation ou à une oxydation du Fe^{2+} , mais plutôt à une inhibition irréversible résultant de liaisons covalentes entre l'enzyme et les dérivés oxydés de la quercétine (quinone ou radical phénoxy) (**CHEBIL, 2006**).

5.2. Activité anti bactérienne

Les polyphénols sont doués d'activité antibactériennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**HANTO et al , 2005, SHAN, et al ., 2007**).

Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**SCALBERT, 1991**).

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols. (**DAGLIA, 2011**).

Ces composés jouent un rôle inhibiteur, ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur un mécanisme interne. Ces composés sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique (**ULANOWSKA et al., 2008**).

Ils possèdent une capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**DAGLIA, 2011**).

4.4. Activité anti inflammatoire

De nombreuses études indiquent que les polyphénols notamment les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (GONZALEZ *et al.*, 2007).

D'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (KIM *et al.*, 2004). Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de la cyclooxygénase COX (TAPAS *et al.*, 2008).

4.5. Activité anti tumorale

Parmi les propriétés biologiques intéressantes des polyphénols, la prévention du cancer. En effet, un certain nombre de recherches menées *in vitro* et *in vivo* ont montré que les polyphénols pourraient être utilisés comme des agents de prévention des différentes maladies cancéreuses (STAGOS *et al.*, 2012 ;). De nombreuses études ont montré que trois types de cancers (sein, prostate et digestif) peuvent être fortement influencés par l'alimentation notamment l'apport en lipides et en antioxydants et que l'huile d'olive pourrait grâce à sa teneur en polyphénols contribuer à la prévention de certains cancers tels que le cancer de la prostate (BENNANI *et al.*, 2009). Des recherches plus récentes ont décrit les activités anticancérogènes de la curcumine, le resvératrol et l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG) pour le traitement du cancer du (DI DOMENICO *et al.*, 2012). Les effets inhibiteurs du thé vert et noir dans le traitement du cancer ont largement été étudiés. Les polyphénols du thé de type flavan-3-ol sont des composés bioactifs puissants qui interfèrent avec l'initiation, le développement et la progression du cancer par des processus critiques (LAMBERT et ELIAS, 2010 ; YANG, 2013). Ils ont la capacité d'interrompre ou inverser le processus de cancérogenèse en agissant sur les molécules de réseau de signalisation intracellulaires impliquées dans l'initiation et / ou la promotion d'un cancer pour arrêter ou inverser la phase de progression du cancer. Les polyphénols peuvent également déclencher l'apoptose dans les cellules cancéreuses à travers la modulation d'un certain nombre d'éléments principaux en signal cellulaire (BALAGUER et GOEL, 2010)

4.6. Activité anti cardiovasculaire

Diverses études épidémiologiques ont montré qu'il existe une corrélation inverse entre

la consommation d'aliments riches en polyphénols et le risque de développement des maladies cardiovasculaires (**VISIOLI *et al.*, 2000; ARTS et HOLLMAN, 2005**).

Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) évitant ainsi l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguins et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués) (**YAMANAKA, 1996**).

Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, qui induit l'occlusion des artères. Ainsi en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde (**REIN *et al.*, 2000**).

D'après de récentes données probantes, certains polyphénols sous forme purifiée, y compris le resvératrol, et la naringénine, ont des effets bénéfiques sur la dyslipidémie chez les modèles humains ou animaux. Un traitement à la naringénine atténuait l'athérosclérose en corrigeant la dyslipidémie (**MULVIHILL et HUFF, 2010**).

4.7. Activité antidiabétique

Des travaux multiples ont démontré les bienfaits des polyphénols sur les troubles et les complications métaboliques induites par le diabète. Les produits riches en polyphénols peuvent moduler le métabolisme des glucides et des lipides, atténuer l'hyperglycémie, la dyslipidémie et la résistance à l'insuline, améliorer le métabolisme du tissu adipeux, et atténuer le stress oxydatif et les voies de signalisation sensibles au stress et les processus inflammatoires (**BAHADRAN *et al.*, 2013**).

Les effets antidiabéto-gènes et cytoprotecteurs des extraits de flavonoïdes notamment la quercétine se traduit par un effet significativement positif sur l'insulinosécrétion des cellules β et la glycémie. Cet effet est dû au pouvoir antioxydant et cytoprotecteur des composés phénoliques et à la réduction de la production du MDA en empêchant donc la lipoperoxydation et la normalisation du niveau cytosolique des systèmes antioxydants (SOD, CAT et GSH) (**KEBIECHE *et al.*, 2011**).

Les composés polyphénoliques peuvent également prévenir la santé avec d'autres activités : activité sur les maladies neurodégénératives, activité insecticide, activité anti virale, anti parasitaires...etc.

4.8. Polyphénols et autres pathologies

Les polyphénols ont montré des effets protecteurs dans d'autres pathologies, telle que la sclérose en plaque (**GONZALEZ., 2010**) l'ostéoporose (**SCALBERT *et al.*, 2005**) et les pathologies liées au vieillissement cérébral (maladie d'Alzheimer, autres types de démences, maladie de Parkinson...) (**SPENCER, 2010**). Les composés phénoliques peuvent aussi atténuer les infections d'origine virale ou bactérienne (**GHEDIRA, 2005**).



Chapitre III: Les méthodes d'éco-extraction

1. Généralité sur l'éco-extraction

Ces dernières années, la sensibilisation à la protection de l'environnement et les contraintes techniques et réglementaires ont incité les industries chimiques à changer leur mode de développement et d'opter vers une démarche de chimie verte et durable. Cette mutation, amène vers une réforme de la chimie pour réduire l'impact des activités humaines sur l'environnement.

Ainsi, le concept de la chimie verte a été développé aux Etats-Unis à partir de 1990 à l'issue du Pollution Prevention Act afin de réduire la production de déchets et la pollution. Ensuite, en 1998, Anastas et Warner ont définis les 12 principes de la chimie verte qui a pour but de concevoir des produits et des procédés chimiques permettant de réduire ou d'éliminer l'utilisation et la synthèse de substances (matière première, produits, sous-produits, solvants, réactifs, etc) dangereuses pour l'homme et l'environnement. Ces principes sont résumés dans la **Figure 9**



Figure 9 : Les 12 principes de la chimie verte (ANASTAS et WARNER, 1998).

Selon les douze principes de la chimie verte, la substitution des solvants toxiques par des solvants moins nocifs pour l'homme et l'environnement est primordiale grâce au cinquième principe qui incite de rendre inutile ou inoffensifs les auxiliaires de synthèses (solvants, agents de séparation, etc. (ANASTAS et WARNER, 1998).

En effet, les solvants sont des substances chimiques largement utilisés dans de nombreuses industries chimiques comme la pharmacie, cosmétique, agro-alimentaire, matériaux, parfumerie, nutraceutique ou les bioénergies et le moyen le plus efficace pour réduire l'impact liés à leur utilisation est de trouver des solvants alternatifs plus respectueux de l'environnement.

Ainsi, le problème des solvants conventionnels est du à leur EHS négatif, car ils sont issus de ressources pétrochimiques non-renouvelables et la plupart d'entre eux sont considérés en Europe comme COVs puisque leur pression de vapeur saturante est supérieure à 10 Pa à 20°C et à la pression atmosphérique (**LE CLOIREC, 1998**). En Europe, 29% des COVs émis dans l'atmosphère proviennent des solvants. En France, 53,1% des émissions de COVs non méthaniques sont issues également des solvants (COVNM).

Donc, afin de réduire les émissions de COVs trois réglementations, sont rentrés en vigueur :

- La directive 1999/13/CE : visant la réduction de l'émission de COV dues à l'utilisation **de solvants organiques** dans certaines activités et installations;
- La directive 67/548/EEC : concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage **des substances dangereuses** et visant la réduction de l'émission de COV provenant de l'utilisation de substances dangereuses;
- La directive 1999/45/EC : concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage **des préparations dangereuses** et visant la réduction de l'émission de COV provenant des produits dangereux.

Cette nouvelle réglementation encourage ainsi la recherche de solvants alternatifs pour remplacer les solvants conventionnels à risques. Par conséquent, plusieurs équipes se sont lancées dans la recherche de solvants « verts » et se sont orientées vers l'éco-extraction qui est basée sur la découverte et la conception de procédés d'extraction permettant de réduire la consommation énergétique, mais aussi l'utilisation de solvants alternatifs et des ressources végétales renouvelables, tout en garantissant un produit/extrait sur de qualité. La **Figure 10** représente les 6 principes de l'éco-extraction.

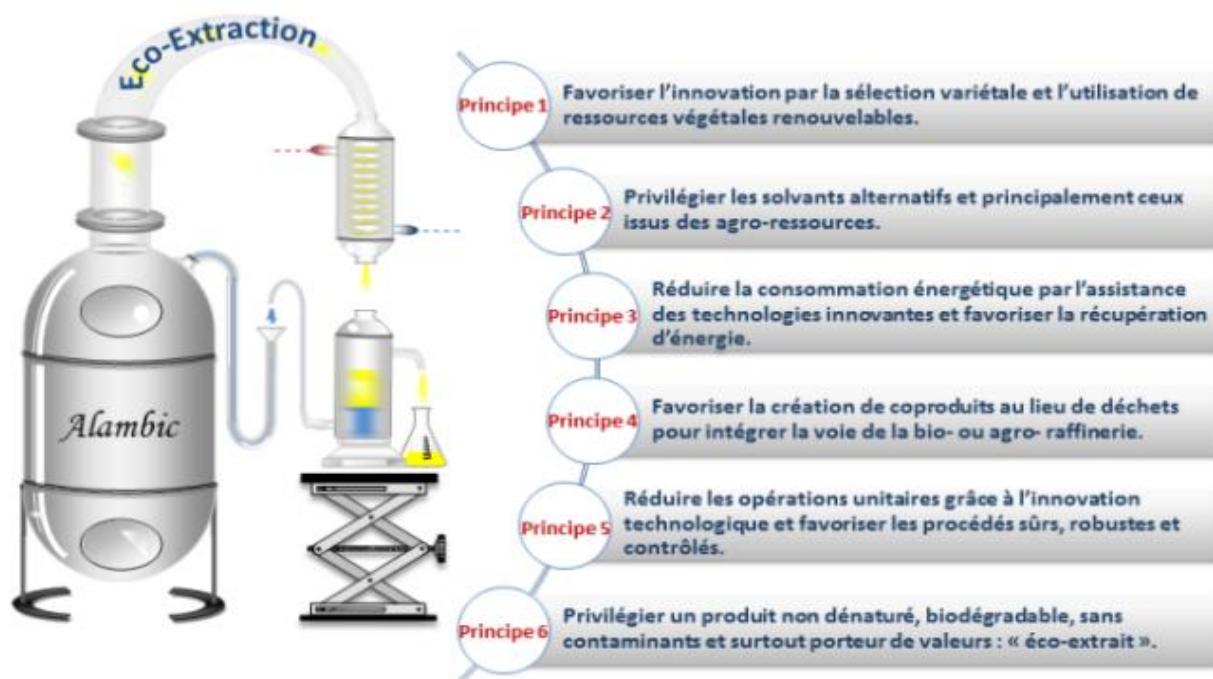


Figure 10 : Les 6 principes de l'éco-extraction (CHEMAT, 2015).

2. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés phénoliques

L'extraction des composés bioactifs peut être décrite comme étant un phénomène de transfert de masse où les solides solubles, contenus dans les structures végétales, migrent dans le solvant jusqu'à l'équilibre. Il existe plusieurs méthodes d'extraction des composés phénoliques comme l'extraction conventionnelle par solvant (MANTHEY et GROHMANN, 1996 ; JEONG *et al.*, 2004; ANAGNOSTOPOULOU *et al.*, 2006 ; LI *et al.*, 2006A; ZIAUR-REHMAN, 2006 ; XU *et al.*, 2007), l'extraction par eau chaude (XU *et al.*, 2008), l'extraction assistée par enzymes (LI *et al.*, 2006B) et l'extraction par fluide supercritique (GIANNUZZO *et al.*, 2003). La méthode d'extraction conventionnelle par solvant peut causer la dégradation des composés phénoliques à cause des températures élevées et de la durée d'extraction.

De nouvelles techniques combinant l'extraction conventionnelle avec d'autres facteurs accélérant l'extraction (extraction par micro-ondes, extraction par ultrasons, extraction sous haute pression hydrostatique, extraction par fluide supercritique ou par eau sous critique) (CHEMAT *et al.*, 2009 ; RAWSON *et al.*, 2011) sont utilisées pour pallier cette dégradation.

Certains auteurs suggèrent l'utilisation d'approches combinées appliquées de manière séquentielle telles que la technologie de détente de pression instantanée contrôlée et

l'extraction assistée par ultrasons (DIC-UAE) ou de manière simultanée (extraction enzymatique assistée par ultrasons, extraction par fluide supercritique assistée par ultrasons, extraction assistée par micro-ondes et ultrasons) pour intensifier l'opération d'extraction et améliorer le rendement d'extraction.

2.1. Extraction conventionnelle par solvant (ECS)

L'extraction conventionnelle par solvant est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des composés phénoliques. De nombreux paramètres d'extraction doivent être pris en compte pour l'optimisation de cette méthode: le type et la concentration du solvant organique, la température, le temps d'extraction et le nombre de cycles d'extraction.

Les paramètres d'extraction conventionnelle par solvant utilisés dans la littérature sont différents (rapport masse/volume, le temps et la température d'extraction et le nombre d'extraction). Par conséquent, il est difficile de déterminer le solvant permettant l'obtention du rendement le plus élevé en composés phénoliques.

La plupart des auteurs ont constaté que le méthanol donne le rendement le plus élevé. Cependant, dans des applications industrielles, le méthanol n'est pas utilisé du fait de sa toxicité. Il est souvent remplacé par d'autres solvants organiques non toxiques et ayant des rendements d'extraction satisfaisants, tels que l'éthanol, le n-butanol, l'isopropanol ou l'éther de pétrole (**BARTNICK, 2006**). En raison de son efficacité et de sa sûreté, l'éthanol est le solvant le plus recommandé pour l'extraction des composés phénoliques pour des applications alimentaires et cosmétiques (**BARTNICK, 2006**).

2.2. Méthodes d'intensification de l'extraction conventionnelle par solvant

Diverses nouvelles techniques d'extraction ont été développées afin de disposer de méthodes d'extraction qui sont plus respectueuses de l'environnement, utilisant moins d'énergie et moins de solvant tout en produisant des rendements plus élevés.

Certaines de ces méthodes utilisent des accélérateurs de l'extraction par solvant tels que les micro-ondes ou les ultrasons, le fluide supercritique/sous-critique et aussi les hautes pressions.

Certains auteurs ont suggéré (i) une utilisation séquentielle de deux processus tels que la technologie de chute de pression instantanée contrôlée et l'extraction assistée par ultrasons ou (ii) une approche combinée (méthodes simultanées) comme l'extraction assistée par l'emploi d'enzyme afin d'intensifier l'opération d'extraction.

2.2.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente utilisée pour l'extraction des composés naturels. Ces composés sont souvent extraits par la méthode conventionnelle qui

de nombreuses heures. L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en quelques minutes avec une reproductibilité élevée, ce qui simplifie l'opération et donne une plus grande pureté au produit final (CHEMAT *et al.*, 2011). Les ultrasons interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Un effet de cavitation est créé, ce qui facilite la libération des composés extractibles et améliore le transfert de matière en perturbant les parois cellulaires des plantes (CHEMAT *et al.*, 2011). Le choix approprié du solvant et de la température permet une meilleure extractibilité des composés phénoliques. De plus, l'optimisation des paramètres d'extraction assistée par ultrasons tels que la fréquence, la puissance des ultrasons, le temps d'extraction ainsi que la distribution d'ondes ultrasonores permet aussi d'augmenter le rendement d'extraction (WANG et WELLER, 2006).

2.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (EAM)

L'extraction assistée par micro-ondes est un processus par lequel l'énergie micro-onde accélère l'extraction. Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules végétales (INOUE *et al.*, 2010; JAWAD et LANGRISH, 2012).

Au cours du traitement par micro-ondes, le chauffage provoque la rupture des liaisons hydrogène faibles par la rotation dipolaire des molécules.

Une quantité considérable de pression s'accumule à l'intérieur du biomatériau, qui modifie les propriétés physiques des tissus biologiques et améliore la porosité de la matrice biologique. Ceci permet une meilleure pénétration du solvant d'extraction à travers la matrice (KRATCHANOVA *et al.*, 2004 ; YEOH *et al.*, 2008) et facilite l'extraction des composés entre autre les composés phénoliques (MANDAL *et al.*, 2007). Les principaux paramètres de l'extraction assistée par micro-ondes sont : le type de solvant, la puissance micro-ondes et le temps d'extraction.

2.2.3. Extraction par fluide pressurisé (EFP)

L'extraction par fluide pressurisé (EFP) a été largement appliquée pour l'extraction des flavonoïdes. En général, l'application de hautes températures et pressions entraîne une augmentation de la vitesse d'extraction et de la diffusivité du solvant dans la matrice biologique (ROUTRAY et ORSAT, 2012). Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que lors de l'extraction EFP, les poches d'air présentes dans les tissus des fruits sont partiellement remplies de liquide. Lorsque la pression est évacuée, l'air occlus dans les pores sort, ce qui provoque des dommages de la membrane cellulaire des plantes (IGNAT *et al.*, 2011).

L'EFP peut également provoquer une déprotonation des groupes chargés et la rupture des ponts salins et des liaisons hydrophobes, ce qui entraîne des changements de conformation et la dénaturation des protéines. Cela rend les membranes cellulaires de moins en moins sélectives, ce qui rend les composés plus accessibles à une extraction jusqu'à l'équilibre (CORRALES *et al.*, 2009; PRASAD *et al.*, 2010).

L'extraction par fluide pressurisé implique une moindre utilisation du solvant par rapport à l'extraction conventionnelle par solvant et il en résulte une faible dégradation oxydative des flavonoïdes car le processus se déroule en absence d'oxygène et à l'abri de la lumière (WANG et WELLER, 2006). Par contre, l'utilisation de températures d'extraction élevées peut entraîner la dégradation des composés thermolabiles (CHEMAT *et al.*, 2011).

2.2.4. L'extraction par eau sous-critique (EESC)

L'extraction par eau sous-critique est une technique réalisée en utilisant de l'eau chaude à une température comprise entre 100 et 374°C sous haute pression pour maintenir l'état liquide

(Point critique de l'eau : 22,4 MPa et 374°C). A de telles températures, l'eau perd sa polarité, ce qui lui permet d'agir comme solvant pour les composés à la fois polaires et non polaires (PRASAD *et al.*, 2010).

L'eau sous-critique pourrait être une excellente alternative pour extraire tous les flavonoïdes, même les flavanones non polaires (CHEIGH *et al.*, 2012). Une augmentation de la température d'extraction de 100 à 160°C sous 10 MPa pendant 10 min entraîne une augmentation de la teneur en hespéridine et en narirutine des extraits (CHEIGH *et al.*, 2012), tandis que au-dessus de 160°C, une diminution de la teneur en hespéridine et en narirutine a été observée. Ce phénomène peut être expliqué par la dégradation des flavanones dans les raison de la température élevée appliquée. KIM *et al.* (2009) ont extrait les composés phénoliques à 200°C, 1,4 MPa pendant 60 min. Une augmentation des rendements en hespéridine et narirutine a été observée en augmentant le temps d'extraction jusque 10 min. Lorsque le temps d'extraction dépasse 10 min, les rendements diminuent progressivement. CHEIGH *et al.* (2012) ont rapporté qu'un temps d'extraction de moins de 10 min peut diminuer l'efficacité d'EESC en raison de la solubilisation insuffisante des flavanones. D'autre part, un temps d'extraction supérieur à 10 minutes peut provoquer la dégradation des flavanones induite par leur instabilité thermique.

2.2.5. Extraction par CO₂ supercritique (SC-CO₂)

L'utilisation de l'extraction par CO₂ supercritique permet d'éviter la dégradation thermique et la décomposition des composés labiles du fait que l'opération est effectuée à une

basse température, tandis que l'absence de la lumière et de l'oxygène empêche les réactions d'oxydation (DIAAZ-REINOSO *et al.*, 2006). L'efficacité de la technique d'extraction SC-CO₂ est associée à plusieurs paramètres, notamment la température, la pression, le flux de CO₂ supercritique, la présence de co-solvant et le temps d'extraction (DIAAZ-REINOSO *et al.*, 2006).

➤ **Approches combinées pour l'intensification de l'extraction**

L'extraction des composés phénoliques peut être effectuée en combinant deux ou plusieurs techniques. Cette combinaison permet de tirer des avantages des différentes méthodes d'extraction pour augmenter l'efficacité de l'opération d'extraction (SHIRSATHA *et al.*, 2012). Les approches combinées pourraient être appliquées de manière séquentielle (technologie de chute de pression instantanée contrôlée et l'extraction assistée par ultrasons (DIC-UAE) ou simultanément (extraction enzymatique assistée par ultrasons, extraction par fluide supercritique assistée par ultrasons, extraction assistée par micro-ondes et ultrasons) (PICO, 2013).

ALLAF *et al.* (2013) ont rapporté que l'utilisation séquentielle de DIC et UAE (éthanol 80%, m/v: 20:1, 40°C, 60 min, 150W) pour l'extraction des composés phénoliques des écorces d'orang améliore les rendements en naringine et en hespéridine. En effet, les teneurs des écorces d'orange traitées par DIC-UAE sont de $0,825 \pm 1,6 \times 10^{-2}$ g/g bs pour l'hespéridine et $6,45 \times 10^{-2} \pm 2,3 \times 10^{-4}$ g/g bs pour la naringine par rapport à $0,64 \pm 2,7 \times 10^{-2}$ g/g bs et $5,7 \times 10^{-2} \pm 1,6 \times 10^{-3}$ g/g bs, respectivement dans les échantillons extraits par solvant. Les auteurs expliquent ce phénomène par le fait que le traitement DIC conduit à une expansion de la structure cellulaire. Quel que soit le type du solvant, l'expansion de la structure peut être considérablement intensifiée par l'amélioration de la diffusivité du solvant à l'intérieur du solide (ALLAF *et al.*, 2012).

LUENGO *et al.* (2013) ont utilisé séquentiellement le champ électrique pulsé (60 ps, 20 impulsions, 5 kV/cm) pour améliorer l'extraction des composés phénoliques (eau, m/v: 40g: 4 ml, 30 min, 5 bars). Les résultats ont montré que le traitement par champ électrique pulsé (PEF) à 5 kV/cm augmente la quantité de naringine et d'hespéridine dans l'extrait de 1 à 3,1 mg/100 g base humide et de 1,3 à 4,6 mg/100 g base humide, respectivement. Les auteurs ont rapporté que PEF induit une perméabilisation des membranes cytoplasmiques, facilitant la libération des composés intracellulaires des cellules, donnant ainsi une augmentation des rendements d'extraction des différents composés (LUENGO *et al.*, 2013).



Matériel et méthodes

Ce travail a été effectué au laboratoire de Biochimie, Faculté des Sciences, Université 20 Août 1955 Skikda, Algérie. L'objectif de cette étude est d'optimiser l'ecoextraction des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) de l'ail triquètre et ainsi que leur activité antioxydante.

1. Matériel végétal

La plante utilisée dans cette étude est l'ail triquètre *Allium triquetrum* L. Le choix de cette espèce comme sujet d'étude dans le présent travail a été guidé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et relativement peu étudiée en Algérie.

L'échantillonnage a été réalisé manuellement le 14 Février 2022 de la région de Djenan el Anab, Commune : Beni bechir située à 13 Km de la ville de SKIKDA, et ils ont été placés dans des sacs en plastique stériles et amenés au laboratoire pour analyse.

Avant l'utilisation, les échantillons (**figure 11**) ont été débarrassés des débris (partie mortes, organes altérés), soigneusement lavés, ensuite les organes de la plante sont séparés et découpés en petits morceaux. Les parties comestibles de la plante (feuilles et les bulbes fraîches) ont fait l'objet de notre investigation.



Figure 11 : Ail triquètre *Allium triquetrum* L.

2. Extraction de composés phénoliques

La concentration du solvant d'extraction et le temps de macération, ont été optimisés en se référant à des analyses préliminaires et à la bibliographie (SPIGNO *et al*, 2007 ; GALAU *et al.*, 2017 ; JOVANOVIC *et al.*, 2017). L'extraction des polyphénols a été réalisée selon la méthode D'ERTAS *et al.* (2016) (Figure 12).

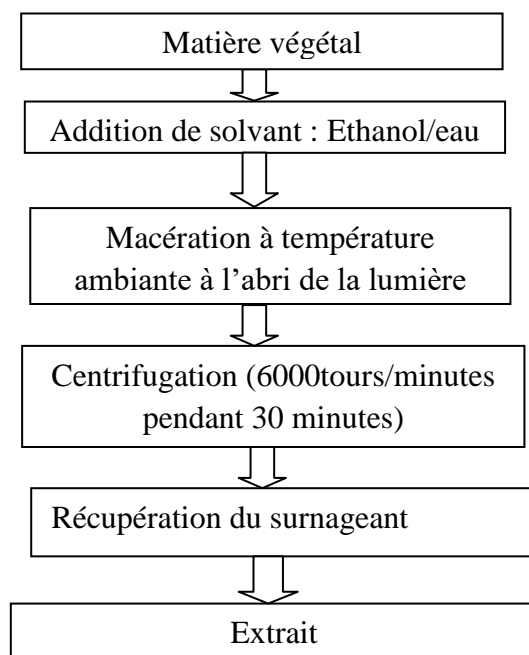


Figure 12 : Protocole d'extraction des polyphénols (ERTAS *et al.*, 2016).

3. Dosage des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénoles totaux

➤ Principe :

Le réactif de FolinCiocalteu voit ces propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction $-OH$ des phénols. Cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée, qui passe une absorption maximale aux environs des 725 à 760 nm permettant de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage à partir des concentrations connues. (RIBÉREAU-GAYON, 1968).

➤ Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) décrite par ERTAS *et al.* (2014) avec quelques modifications. 5ml de chaque extrait (extrait de la plante non digérée et les trois extraits des phases) ont été mélangés avec 0,4ml du réactif Follin-Ciocalteu et 1,2 ml de Na_2CO_3 à 2%. Après agitation et incubation du mélange réactionnel à l'obscurité et à température ambiante pendant deux heures, la lecture des absorbances est mesurée à 760 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière fraîche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique réalisée avec 6 valeurs de concentrations (variant de 0 à 1 mg/ml). Le contenu phénolique total d'extrait est calculé par la formule suivante:

$$QP = \frac{C0 \ V0 \ F}{m}$$

Où :

QP : la teneur en polyphénols en mg EAG/ g de matière fraîche

m: la masse de la plante utilisée pour l'extraction

C0 : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EAG/ml

V0 : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml

F : le facteur de dilution= V_m / V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml (**HEBI et EDDOUKS, 2015**)

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 415 nm **DEHPEUR et al. (2009)**

➤ Mode opératoire

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée selon la méthode décrite par **ALYAFI (2007)**. 5 ml de chaque extrait (extrait de la plante non digérée et des trois des phases de digestion : salivaire, gastrique et intestinale) sont ajoutés à 1,5 ml d'éthanol 80 % et 0,1 ml d' $AlCl_3$ à 10 % avec 0,1 ml d'acétate de sodium 1 M. Après incubation du mélange à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 415 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercetine/ g de matière fraîche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercetine (de 0 à 1 mg /ml). La concentration des composés flavonoïdes est calculée selon l'équation suivante :

$$QP = \frac{C0 \ V0 \ F}{m}$$

Où :

QF : la teneur en tanins en mg EQ/ g de matière fraîche

m: la masse de la plante utilisée pour l'extraction

C0 : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EQ/ml

V0 : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml

F : le facteur de dilution= V_m / V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

3.3. Dosage des tanins

➤ Principe

La méthode de dosage des tanins est celle rapporté par **SKERGET *et al.*, (2005)**. Elle utilise la propriété des tanins à se transformer en anthocyanes par chauffage en milieu acide.

➤ Méthode

2ml d'extrait d'ail sauvage ,liquide salivaire ,liquide gastrique et liquide intestinale sont additionnés à un volume de 2 ml du réactif butanol-HCL (77mg FeSO₄ dissouts dans 500ml butanol-HCL(2 ;3)) . Le mélange est ensuite incubé à 95°C pendant 15 minutes .Les tanins se dissocient sous l'effet de la chaleur en milieu acide donnant une coloration spécifique ,l'absorbance est mesuré à 530 nm .La concentration des tanins est calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide tannique .La teneur en tanins est exprimée en mg EAT/ g de matière fraîche. La concentration des tanins est mesurée selon l'équation suivant :

$$QT = \frac{C0 \cdot V0 \cdot F}{m}$$

Où :

QT : la teneur en tanins en mg EAT/ g de matière fraîche

m: la masse de la plante utilisée pour l'extraction

C0 : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EAT/ml

V0 : le volume finale de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml

F : le facteur de dilution= V_m / V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

4. Détermination de l'activité antioxydante

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, on effectue différents tests de mesure de pouvoir antioxydant. Les antioxydants peuvent réduire

les radicaux primaires par deux mécanismes : par transfert d'électron ou par transfert d'atome d'hydrogène. Les méthodes DPPH• et ABTS•⁺) jouent sur le transfert d'un atome d'hydrogène.

Le DPPH• est un radical commercial directement utilisable, alors que l'ABTS•⁺ doit être généré par une réaction enzymatique ou chimique. Une autre différence importante concerne la solubilité de ces deux radicaux : ABTS•⁺ est soluble en milieux organique et aqueux alors que DPPH• est soluble uniquement en milieu organique et plus particulièrement alcoolique. Le test à l'ABTS•⁺ permet donc l'étude de tous les agents hydrophiles et lipophiles. Le test au DPPH• est plus restrictif.

4.1. Détermination de l'activité anti oxydante par la méthode DPPH

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante) (BLOIS, 1958). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle. La réduction du DPPH° est contrôlée en mesurant l'absorbance de la solution à une longueur d'onde caractéristique (517 nm) (figure 13). A cette longueur d'onde le radical absorbe, mais après sa réduction par l'antioxydant (AH) ou un autre radical, l'absorption diminue (AMRUN HIDAYAT *et al.*, 2017).

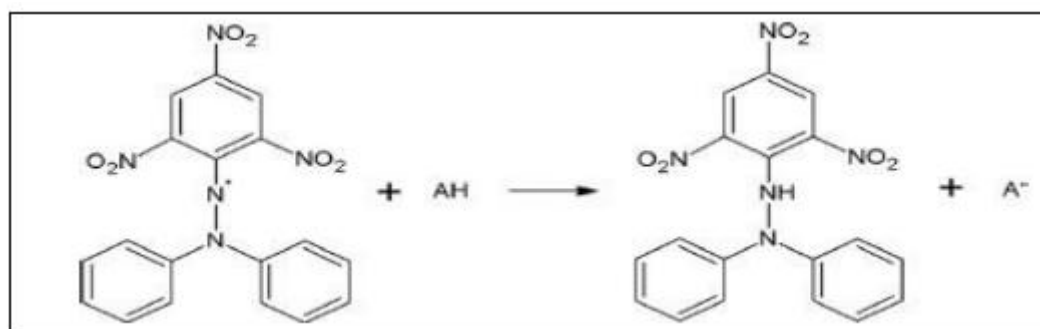


Figure 13: Mécanisme d'action du DPPH (AMRUN HIDAYAT *et al.*, 2017).

➤ Mode opératoire :

Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 6mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 160 µl de DPPH sont ajoutés à 1 ml des différentes concentrations de solutions d'extrait de la plante digérée et non digérée (0-1 mg/ml) . L'incubation est à l'obscurité pendant 2 heures et la lecture se fait à 517nm. Les résultats ont été exprimés par la moyenne

de trois mesures séparées \pm écart type. Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I\% = \frac{A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}}{A \text{ blanc}} \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans l'éthanol).

A échantillon : Absorbance du composé d'essai. Les concentrations d'extrait en fonction des pourcentages du DPPH inhibé, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50% (SHARIFIFAR *et al.*, 2007).

➤ Optimisation

Un plan d'expérience central composite a été utilisé pour vérifier l'effet des facteurs sélectionnés (concentration du solvant et le temps de macération) sur les réponses notées : teneur en polyphénols, flavonoïdes, tanins et activité antioxydante. Ce plan est basé sur la méthode des surfaces de réponse qui est la plus couramment utilisée dans ce type d'expériences. Elle consiste à modéliser les résultats sous la forme de fonctions polynomiales du second degré qui est un modèle quadratique (REDDY *et al.*, 2008).

➤ Modèle mathématique

Les plans du second degré ou plans pour surfaces de réponse permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ils sont utilisés pour les variables continues.

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ii} X_i^2 + \sum a_{ij} X_i X_j$$

Avec :

a_i : coefficients de régression des effets linéaires ;

a_{ii} : coefficients de régression des effets quadratiques ;

X_i et X_j : variables expérimentales codées (REDDY *et al.*, 2008)

➤ Niveaux des variables

Nous avons attribué pour chaque variable codée (X_i) trois niveaux : -1, 0 et +1. Les $\pm\alpha$ représentent les valeurs extrêmes (max, min). Pour que le plan soit orthogonal et rotatable, la valeur de α a été fixée par le logiciel à 1,414 (figure 14).

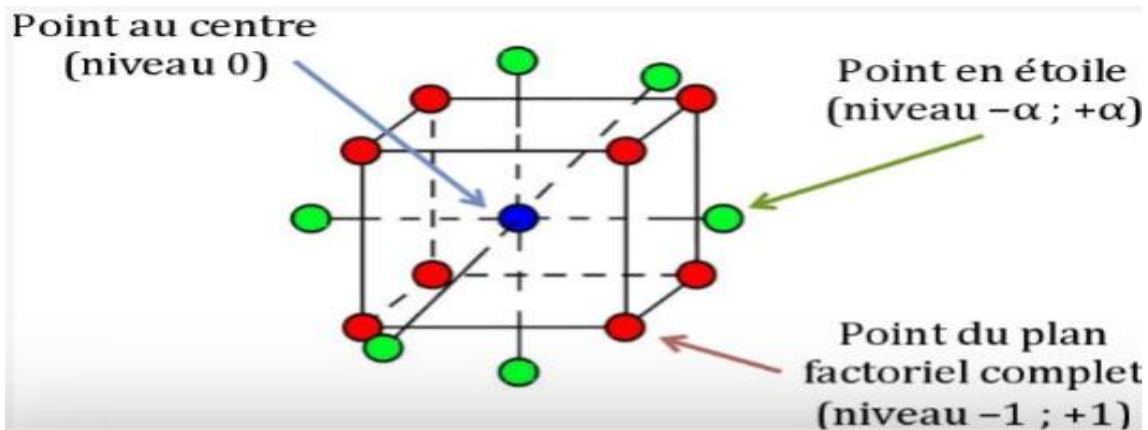


Figure 14 : Représentation graphique d'un plan d'expérience central composite à deux facteurs (X1 et X2) et trois niveaux (-1, 0 et +1) avec les valeurs extrêmes $\pm\alpha$

Ce plan d'expérience central composite à deux variables est composé de :

- *Points factoriels* : également appelés points du cube, ils sont codés -1 et +1;
- *Points axiaux* : également appelés étoiles, sont à : $+\alpha, 0$; $-\alpha, 0$.
- *Points centraux* : le central du plan est à : 0,0

Le nombre total d'essais n à réaliser est la somme des essais de ces trois parties, du plan factoriel (nf), du plan en étoile ($né$) et les essais au centre ($n0$). Donc : $n = nf + né + n0$ (SADHUKHAN *et al.*, 2016).

La relation entre les valeurs codées (X_i) des variables entrées et ses valeurs réelles (A_i) est décrite par l'équation suivante :

$$X_i = (A_i - A_0) / \Delta A$$

Avec :

X_i : valeur codée du facteur ;

A_i : valeur réelle de ce facteur ;

A_0 : valeur réelle du même facteur au niveau central ;

ΔA : pas entre le niveau central et les niveaux ± 1 (GOUPY, 2006).

➤ Analyse du plan

Dans cette étude, l'analyse des résultats obtenus est réalisée par la méthodologie de réponse en surface avec le logiciel Minitab 2019 (**minitab statistical software for windows released 2019, version 19.1.1.0 minitab,LLC sis 1829 pine Hall Road ,state colleg , PA ,USA**). Cette méthode d'optimisation génère des profils en deux dimensions et des surfaces tridimensionnelles à partir des effets linéaires, quadratiques et interactifs de deux ou plusieurs variables indépendantes sur une variable dépendante. Elle y intègre ensuite les

données expérimentales pour calculer la réponse optimale du système (DEY *et al.*, 2001 ;SHIH *et al.*, 2002).

L'identification des valeurs optimales se déroule en plusieurs étapes (STATSOFT, 2004).

En premier lieu, le logiciel transpose les effets des variables indépendantes et de leurs interactions sur la réponse de la variable dépendante dans un modèle polynomial de second ordre. Le modèle contient les composantes linéaires des variables indépendantes sur une variable dépendante ainsi que les effets interactifs entre chaque variable indépendante (deux à la fois). De plus, des composants quadratiques y sont intégrés afin d'explorer de façon plus approfondie la sous-région de la réponse en surface. Le degré d'importance de chaque variable indépendante sur la réponse de la variable dépendante est évalué par une estimation des effets. Une analyse de régression est également appliquée pour déterminer les coefficients de régression de chaque composante. Les coefficients de régression indiquent si les composantes ont une influence positive ou négative sur la réponse de la variable dépendante. Ils sont alors fixés dans une équation de régression permettant de prédire la réponse de la variable dépendante. La signifiante statistique des effets et des coefficients de régression est évaluée par un test de Student (t) et les valeurs de probabilité (P) associées.

La seconde étape consiste à identifier le point de la réponse en surface qui définit la courbure de la surface. Ce point correspond aux valeurs optimales locales recherchées.

Finalement, l'ANOVA détermine la signifiante du modèle mathématique. Le meilleur modèle est celui qui présente une valeur de sa probabilité de nullité α est inférieure ou égale 0,05% avec des bons coefficients de détermination.

➤ Analyse statistique

Les moyennes plus ou moins l'écart type des trois répétitions ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées par le logiciel Excel 2010.

Les moyennes ont été comparées par analyse de variance ANOVA à un seul facteur suivi par test *Post hoc*-Tukey à l'aide de logiciel STATISTICA 07.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, U.S.A). Les lettres en exposant : a, b, c, d, e, indiquent une différence significative au seuil de signification 0,05.

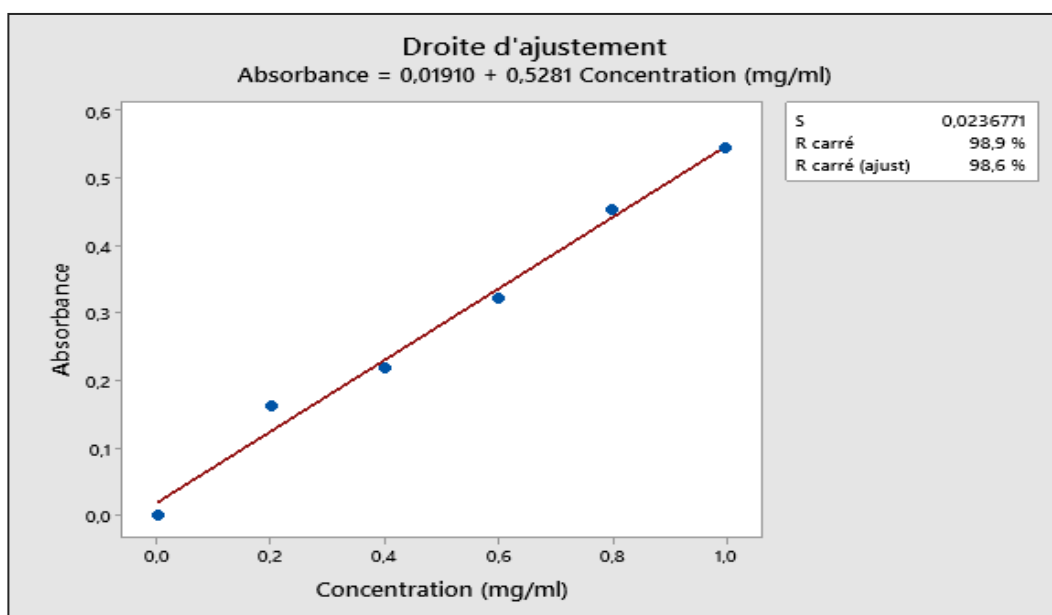
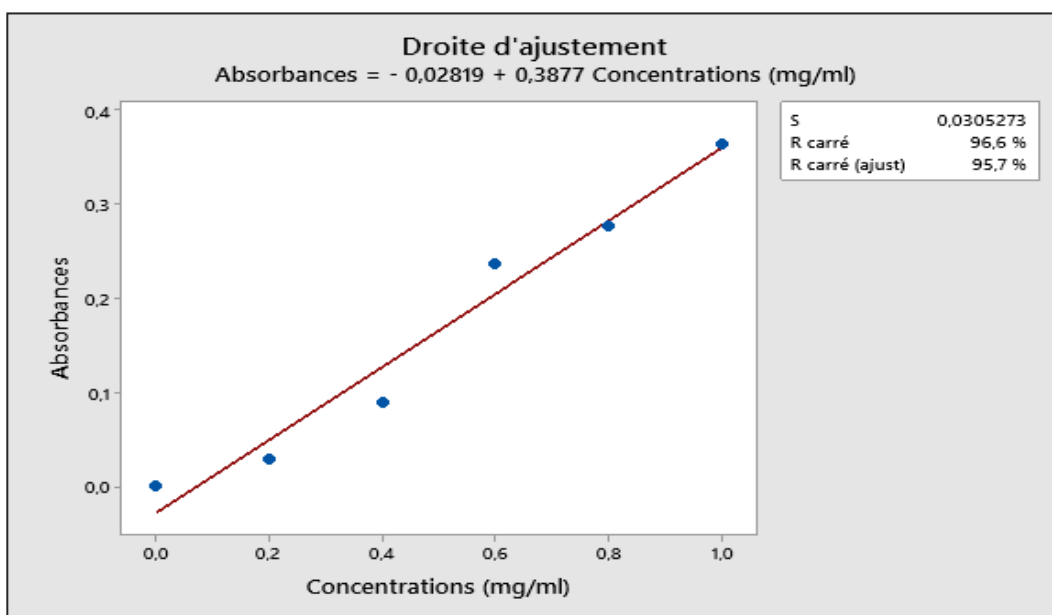


Résultat et discussion

1. Teneurs en composés phénoliques d'ail triquètre non digéré

1.1. Courbes d'étalonnage

La spectrophotométrie a permis de quantifier les taux des polyphénols totaux , flavonoïdes et tanins des extraits de l'ail triquètre digéré et non digéré. Les courbes d'étalonnage sont effectuées par l'acide gallique (pour le dosage des polyphénols totaux), la quercétine (dosage des flavonoïdes) et l'acide tannique (dosage des tanins) à différentes concentrations, les courbes montrent une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations (**figure 15**).



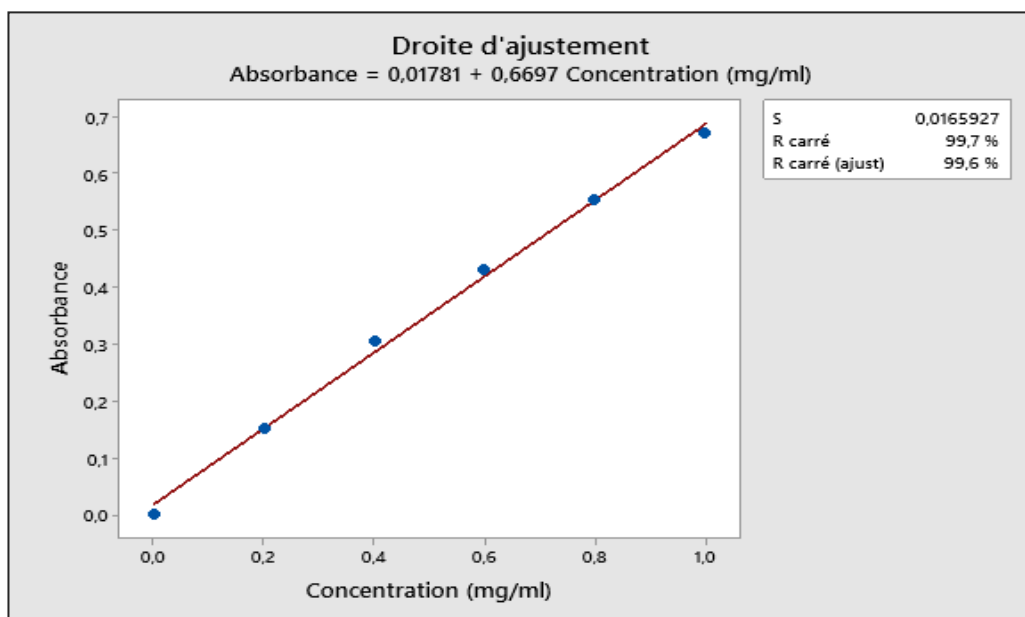


Figure15 : Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) : 1 : Acide gallique ; 2 : Quercétine ; 3 : Acide tannique.

1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux d'ail triquètre

Après avoir cherché l'effet de chaque paramètre, les conditions d'extraction des polyphénols ont été optimisées. Le taux de polyphénols dépend de deux facteurs ($m = 2$ facteurs). Il est alors possible d'utiliser un plan composite centré (**tableau4**).

Tableau 4 :Matrice d'essai du plan de composite centré pour l'évaluation des polyphénols totaux de l'ail tiguère.

N° d'essai	Niveaux du facteur Concentration du solvant (A)	Niveaux du facteur temps de macération (B)	Taux des polyphénols (mg EAG/ g d'extrait sec)
1	0	0	11.37
2	-1	1	8.85
3	-1	-1	8.18
4	0	0	11.91
5	1	-1	9.01
6	1	1	11.37
7	0	0	11.37
8	-1,414	0	11.37
9	0	0	9.11
10	1,414	0	10.35
11	0	-1,414	8.97
12	0	0	9.75
13	0	1,414	6.57

Les deux coefficients (coefficient de détermination et coefficient ajusté) sont équivalents à 94,62% et 90.77% respectivement ($p = 0,000$), ce qui indique que le modèle est extrêmement significatif et pourrait être utilisé pour l'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols L'équation polynomiale quadratique pour la réponse taux des polyphénols est:

$$\text{Polyphénols totaux} = -22,94 + 0,675 C + 0,5132 t - 0,004048 C * C - 0,005823 t * t - 0,001610 C * t$$

C : concentration du solvant

T : temps de macération

Les facteurs (A, B, les termes quadratiques AA et BB ainsi que l'interaction à deux facteurs AB) sont très significatifs (Figure).

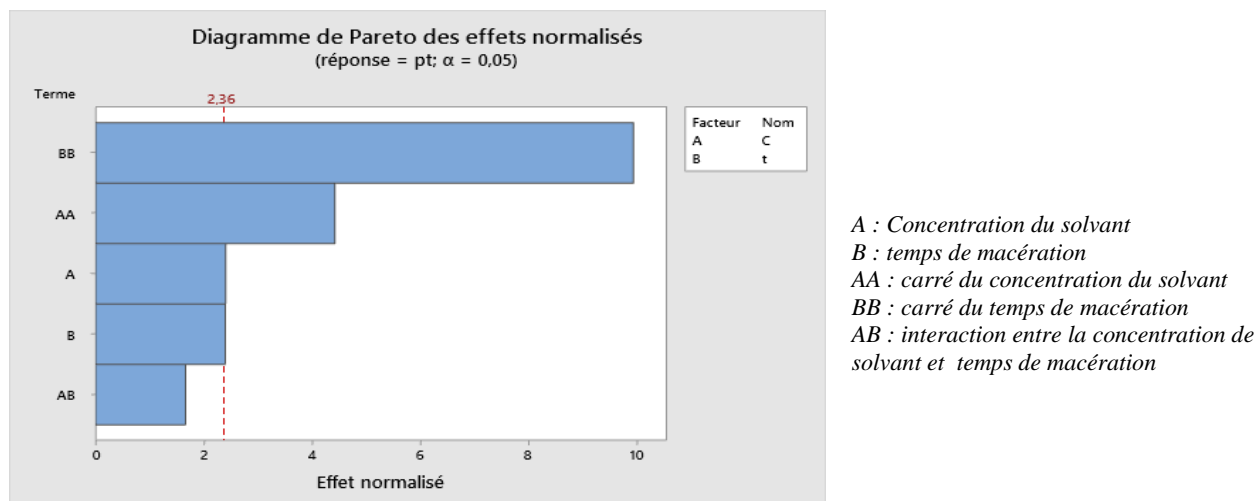


Figure 16 : Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux .

Le diagramme de *Pareto* (Figure) est utilisé pour identifier les facteurs importants. Les effets des facteurs sont ici représentés en les classant des plus vers les moins importants. La droite verticale ayant pour abscisse 2.36 correspond à la valeur que doit dépasser $|\beta_i|$ pour que l'effet linéaire soit jugé significatif avec un niveau égal au moins à 5%.

Les effets associés aux et aux termes quadratiques (*AA et BB*) sont significatifs. L'interaction entre les deux facteurs (*AB*) et les effets linéaires (*A, B*) n'est pas significative pour ce modèle.

Après la validation du modèle établi, l'optimum a été déterminé. Plusieurs outils mathématiques peuvent être utilisés, parmi lesquels figurent la représentation graphique des courbes d'iso-réponse, la surface de réponses et l'étude de la fonction de désirabilité dans le cas de réponses multiples.

La surface de réponse illustrant l'évolution de la réponse en fonction des niveaux des deux variables choisies est représentée dans la figure 18. Les diagrammes de surface sont des modèles quadratiques obtenus en faisant varier les variables à étudier dans les limites expérimentales qui sont : concentration de solvant (60 à 100 %) et temps de macération (10 à 60min) et Ils permettent d'illustrer les effets linéaires, quadratiques et interactifs sur chaque variable de sortie.

Selon la (**figure 17**), les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se situent dans la zone verte limitée par les points : concentration de solvant (65-88 %) temps de macération (24-43min).

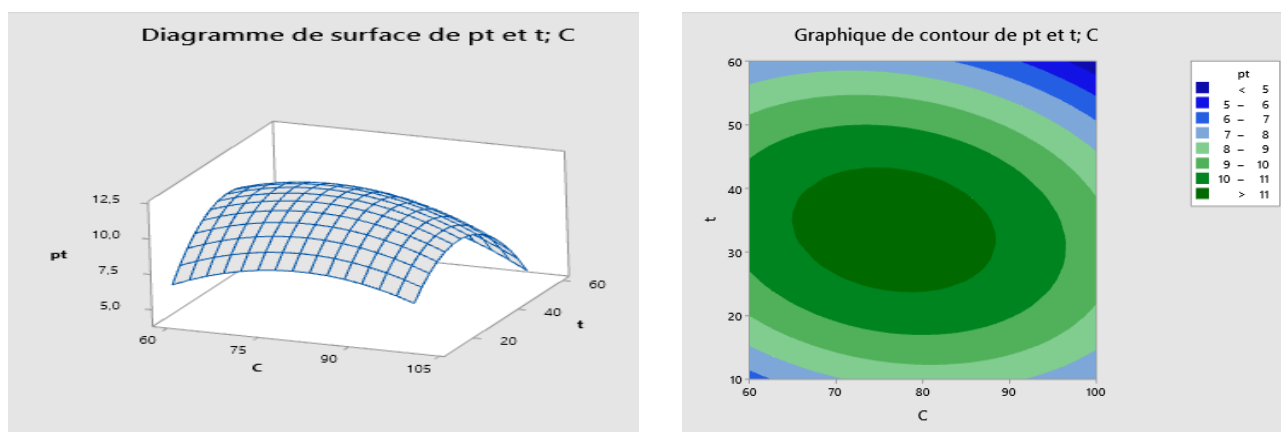


Figure 17 : Surface de réponse du taux des polyphénols totaux de l'ail triquètre en fonction des du concentration de solvant et temps de macération .

La courbe de désirabilité permet de réaliser des simulations des conditions opératoires à fin de maximiser le rendement des extraits. Le facteur de désirabilité (D) varie de 0 à 1, où 1 présente la satisfaction maximale et 0 le refus complet (GOUPY et CREIGHTON, 2006). Le maximum de précision est obtenu pour une désirabilité proche de 1 (figure 18)

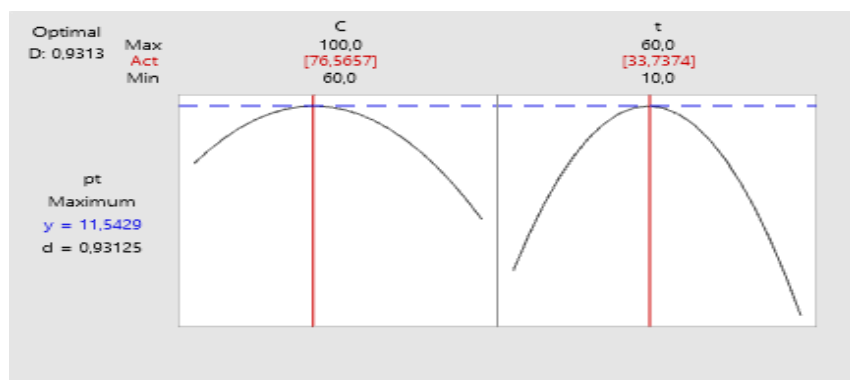


Figure 18 : Optimisation de concentration du solvant et de temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'ail triquètre en fonction de la désirabilité .

La prédiction des conditions optimales est : concentration du solvant (76,56%) et temps de macération (33,73 min) et une teneur optimale de polyphénols de 11.54mg EAG/g.

1.3. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des flavonoïdes d'ail triquètre

Les réponses obtenues sont mentionnées dans le tableau

Tableau 5 : Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en flavonoïdes de l'ail triquètre .

N° d'essai	Niveaux du facteur Concentration solvant (A)	Niveaux du facteur Temps de macération (B)	Taux des flavonoïdes (mg EQ/ g d'extrait sec)
1	0	0	4.89
2	-1	1	9.00
3	-1	-1	8.14
4	0	0	4.88
5	1	-1	4.88
6	1	1	8.91
7	0	0	4.88
8	-1,414	0	4.05
9	0	0	4.88
10	1,414	0	9.06
11	0	-1,414	7.95
12	0	0	7.08
13	0	1,414	4.88

Le R^2 ajusté indique le modèle explique 91,91% de la variabilité de la réponse.

L'équation polynomiale quadratique pour la réponse taux des flavonoïdes est:

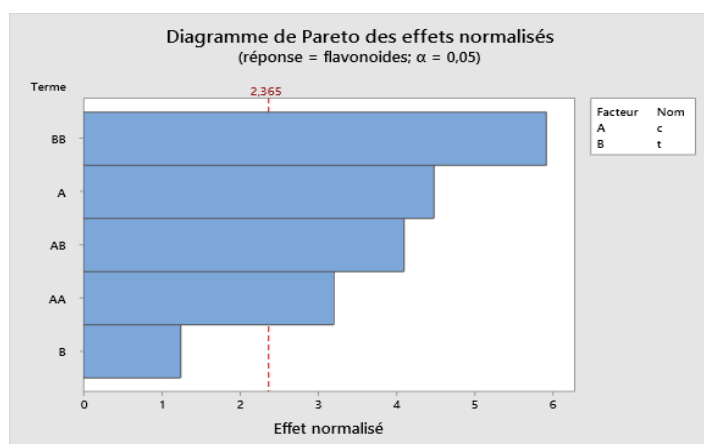
$$\text{Taux des flavonoïdes} = 15,65 - 0,415 c + 0,129 t + 0,00440 c*c + 0,005200 t*t - 0,00594 c*t$$

C : concentration du solvant

T : temps de macération

Le modèle ci-dessus est significatif ($P < 0,05$). L'analyse de variance a montré que les quatres termes (A, AA, BB, AB) sont significatifs ($p < 0,05$) (Annexe 6).

Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des flavonoïdes dépend principalement de (BB), suivi par le termes linéaire du concentration du solvant(A) et de l'interaction des facteur (AB), puis le terme quadratique du concentration du solvant(AA) et enfin le terme linéaire du temps de macération (B) qui n'est pas significatif (**figure19**).



A : concentration du solvant
B : temps de macération
AB : interaction des deux facteurs
AA : terme quadratique du concentration du solvant
BB : terme quadratique du temps de macération

Figure 19 : Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des flavonoïdes de l'ail triquètre .

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont illustrées dans la (**figure 20**).

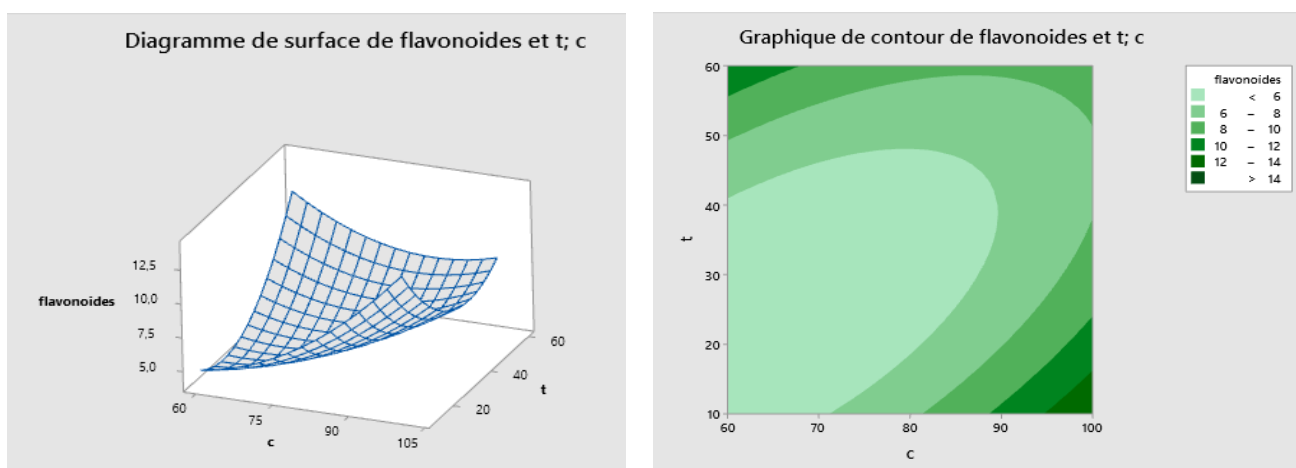


Figure 20 : Surface de réponse du taux des flavonoïdes de l'ail triquètre en fonction des temps de macération et concentration du solvant

D'après ces résultats (**figure20**), on remarque que les valeurs optimales du taux des flavonoïdes se trouvent dans les zones vertes limitées par les points : temps de macération(10-15min) ; (95-100%) ; concentration du solvant(60-78%) ; (55-60min)

Le maximum de précision est obtenu pour une désirabilité égale à 1 (**figure21**). La prédiction des conditions optimales est: temps de macération (10min) et concentration du solvant (100%). La valeur prédite des flavonoïdes est de 14.033mg EQ/ g d'extrait sec.

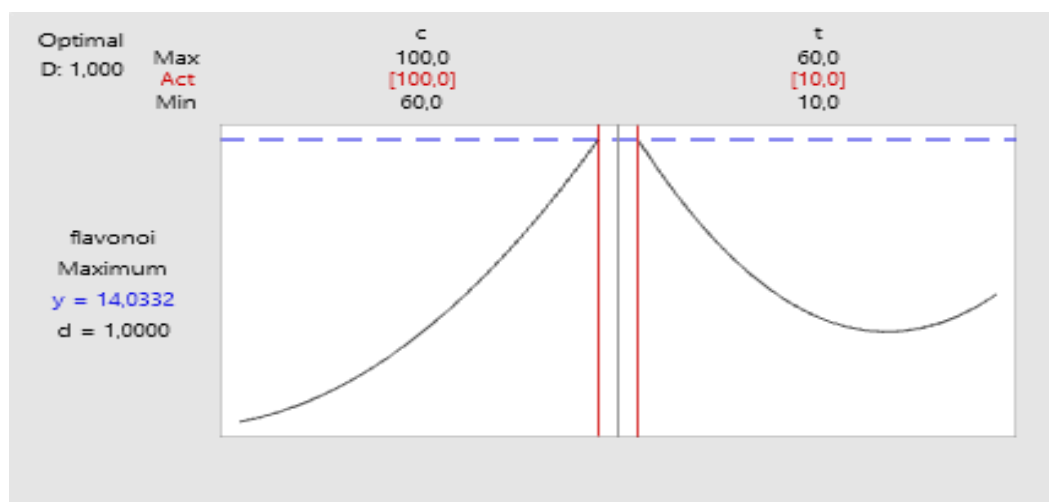


Figure 21 : Optimisation des temps de macération et concentration du solvant pour l'extraction des flavonoïdes de l'ail triquètre en fonction de la désirabilité .

1.4. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des tanins de l'ail triquètre

Les résultats des essais de la matrice sont mentionnés dans le tableau.

Tableau 6 : Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en tanins de l'ail triquètre

N° d'essai	Niveaux du facteur concentration de solvant (A)	Niveaux du facteur temps de macération (B)	Taux des tanins (mg EAT /g d'extrait sec)
1	0	0	1.44
2	-1	1	4.17
3	-1	-1	3.80
4	0	0	5.15
5	1	-1	4.22
6	1	1	1.44
7	0	0	2.94
8	-1,414	0	1.50
9	0	0	1.44
10	1,414	0	5.72
11	0	-1,414	1.44
12	0	0	6.20
13	0	1,414	1.44

L'analyse de la variance a partitionné la variabilité des taux des tanins pour chaque effet. Le modèle est significatif ($P < 0,05$), et présente un R^2 élevé (90,21%). L'analyse de variance montre que les effets du terme quadratique AA, terme quadratique BB et le terme linéaire A ont des effets significatifs ($P < 0,05$).

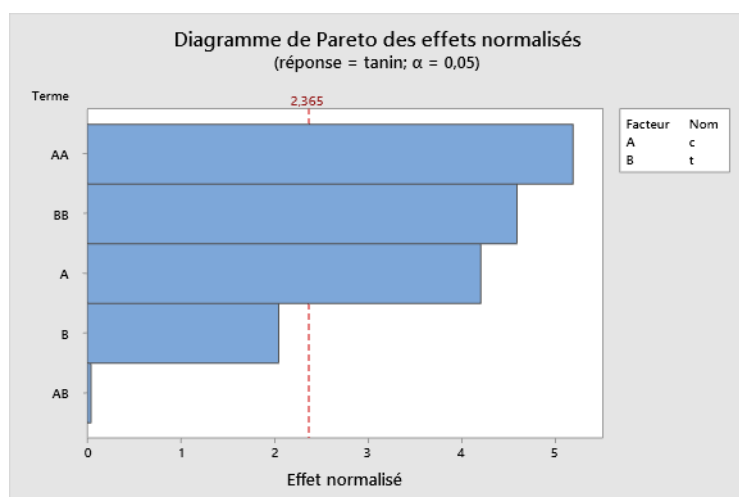
L'effet linéaire du facteur B et l'interaction entre les deux facteurs AB ne sont pas significatifs pour ce modèle. L'équation polynomiale pour la réponse taux des tanins est:

$$\text{Tanins} = 46,4 - 1,100 c - 0,266 t + 0,00736 c*c + 0,004164 t*t + 0,00006 c*t$$

c : concentration du solvant

t : temps de macération

Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des tanins dépend principalement de l'effet du terme AA suivi BB et A (**figure22**).



A : concentration solvant;
 B : temps de macération ;
 AA : carré du concentration de solvant,
 BB : carré du temps de macération,
 AB : interaction entre la concentration de solvant et le temps de macération

Figure 22 : Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des tanins de l'ail triquètre .

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponses sont exposés dans la figure. Les valeurs optimales du taux des tanins se situent dans la zone verte limitée par les points : Concentration du solvant (96%-100%) et temps de macération (53-60min).

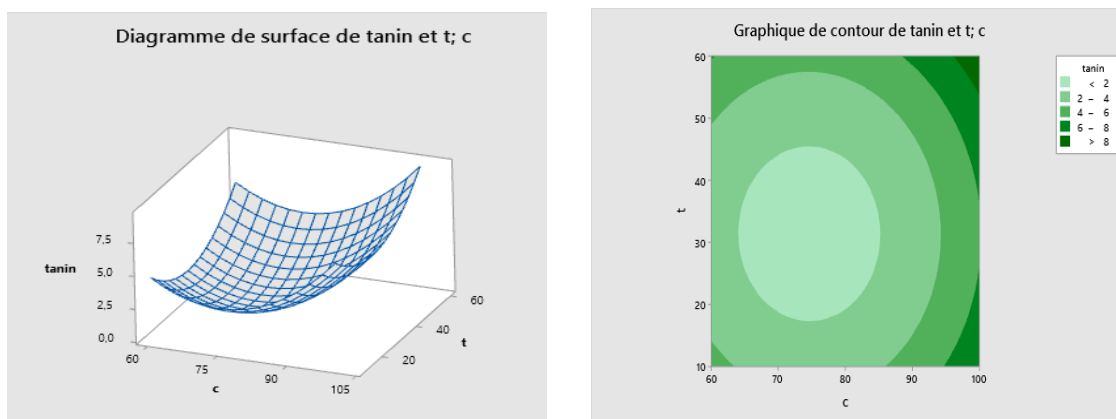


Figure 23 : Surface de réponse du taux des tanins de l’ail triquètre en fonction de la concentration du solvant et le temps de macération

Le maximum de précision est obtenu pour une désirabilité égale à 1 (**figure24**).

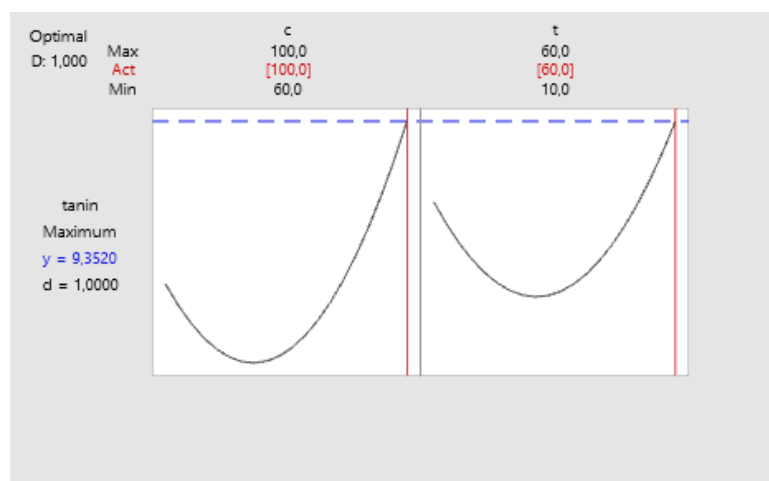


Figure 24 : Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l’extraction des tanins de l’ail triquètre en fonction de la désirabilité¹.

1.5 .Discussion

La prédiction des conditions optimales est : concentration du solvant (100%) et temps de macération (60min). le taux des tanins est égale à 9.352 mgEAT/ g d’extrait sec.

Les teneurs optimales des polyphénols totaux, des flavonoides et des tanins sont montrées dans la (**figure 25**)

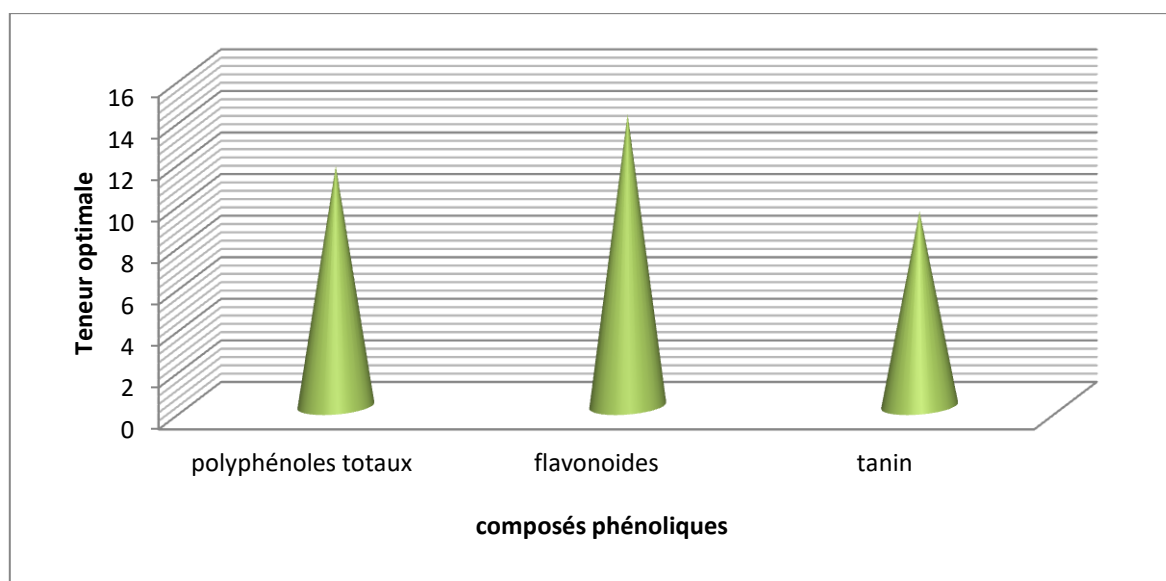


Figure 25 : Teneurs optimales en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins d'ail triquètre

Des teneurs optimales élevées des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins de (11,54 mgEAG/g ; 14,03 mgEaG/g ; 9,35 mgEAG/g) ont été obtenues. Ce résultat est en concordance avec ceux rapportés par plusieurs auteurs qui ont montré que les polyphénols constituent une classe importante des substances bioactives des plantes appartenant au genre *Allium* (GALDON et RODRIGUEZ, 2008 ; MAISASHVILI et al, 2009). Les légumes *Allium* contiennent des niveaux élevés de composés phénoliques, en particulier d'acides phénoliques, de flavonoïdes et de leurs dérivés. *Allium* spp. sont parmi les sources les plus riches en flavonoïdes alimentaires (Wu et al, 2009). On a constaté que les niveaux de flavonoïdes dans la partie comestible des légumes *Allium* (poireaux, échalotes, oignons verts, ail et oignons) variaient de > 0,03 à 1 g/kg de légumes. Les flavonoïdes identifiés dans les oignons étaient les di-glucosides de quercétine, le 4'-glucoside de quercétine, l'aglycone de quercétine et, dans certains cas, les monoglucosides d'isorhamnétine ou le kaempférol monoglucosides (MIEAN et Mohamed S, 2009). Les glucosides de quercétine de l'*Allium* sont plus biodisponibles que d'autres aliments riches en quercétine tels que le thé et les pommes (MANACH et al, 2009). Les principaux acides phénoliques trouvés dans les alliums comprennent le p-coumarique, l'acide férulique, l'acide sinapique, l'acide gallique et l'acide protocatéchique (PARVU et al, 2010).

Selon MENACER et SAIDI (2021), les extraits aqueux d'*Allium triquetrum* ont révélé la présence de certains composés phénoliques qui sont principalement la coumarine, les acides

phénoliques (acide gallique, férulique et acide hydroxy-cinnamique), des flavonoïdes tels que les flavonols (rutine) et les flavanones (naringénine).

Pour le polyphénols totaux ; notre résultat est (11,54mg EAG/g) supérieure à ce enregistré par par **LAIB *et al.* (2022)** qui ont signalé une teneur de 35,69±0.004 µg EGA /g et **HIMED (2015)** qui a testé l'effet de deux modes d'extraction (extraction par microonde et par macération) sur la teneur en polyphénols totaux des feuilles et des bulbes d'ail triquètre, elle a trouvé que les teneurs en polyphénols sont de 10,049 et 9,810 mg EAG/g PS pour l'extraction par microonde et par macération, respectivement . **EGALEMENT, BENCHENNAF et BABOUCHE (2018)** ont indiqué un taux de 3,38±2.77 mg EAG/1g MS pour les bulbes et 16,45 ± 34.77 mg EAG/g les feuilles d'ail triquètre .

Par contre la teneur enregistrée dans notre étude est inférieure à celle rapportée par **MENACER *et al.* (2017)** qui ont obtenu une valeur de (14.31 ±0.36 mg EAG/g MS).

La teneur en flavonoïdes dans notre expérience est de 14.033mg EQ/g ,ce qui est largement supérieure est à ce rapporté par **LAIB *et al.* (2022)** qui ont trouvé une teneur de 20.16±0.0002µg EQ/g. Par contre ; elle est inférieure à celle rapporté par **MENACER *et al.*, (2017)** qui ont révélé un taux de 22.12 ± 0.33 mg EQ /MS.

De plus ,le taux des tanins obtenues dans notre étude est de 9.352 mg EAT/ g d'extrait sec Ce qui est largement supérieur à ce trouvé dans l'étude réalisée par **LAIB *et al.*(2022)** et qui ont rapporté une teneu de 2.59±2.47 10⁻⁵ µg EAT/g de MF

En outre ; **HIMED (2015)** ont trouvé que l'extraction par micro-onde préserve mieux les tanins par rapport à l'extraction par macération . Les taux enregistrés dans cette étude sont de l'ordre de 32 µg EAT/g PS (pour l'extraction par microonde) et 22 µg EAT/g PS (pour l'extraction par macération).

Cette différence entre nos résultats et ceux obtenus par les autres chercheurs est peut-être dû au temps, aux saisons de la récolte, aux conditions climatiques, conditions d'extraction et du dosage lui-même qui pourraient jouer un rôle critique sur la composition et les caractéristiques structurales des principaux composés bioactifs d'ail triquètre (**RODRIGUEZ- GONZALEZ *et al.*, 2012 ; Ray et ASWATHA, 2013**). Selon **RAWEL *et al.* (2005)**, les méthodes deconservation, de séchage et la lumière peuvent affecter la teneur en flavonoïdes.

La teneur en flavonoïdes dans notre expérience est de 14.033mg EQ/g ,ce qui est largement supérieure est de 20.16±0.0002µg EQ/g. Elle est inférieure à celle rapporté par **MENACER *et al.*, (2017)** qui ont trouvé un taux de 22.12 ± 0.33 mg EQ /MS.

De plus le taux des tanins obtenues dans notre étude est de 9.352 mg EAT/ g d'extrait sec

Inférieure à ce obtenu par **HIMED (2015)** qui a trouvé que l'extraction par micro-onde préserve mieux les tanins par rapport à l'extraction par macération . Les taux enregistrés dans cette étude sont de l'ordre de 32 µg EAT/g PS (pour l'extraction par microonde) et 22 µg EAT/g PS (pour l'extraction par macération).

2. L'évaluation de l'activité antioxydante

Les valeurs d'IC50 obtenues pour chaque essai sont montrées dans le (**tableau 7**).

Tableau7 :Matrice d'essai du plan de composite centré pour l'évaluation de l'activité antioxydante

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de macération (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication (B)	IC50(mg/ml)
1	0	0	0.177
2	-1	1	0.177
3	-1	-1	0.167
4	0	0	0.178
5	1	-1	0.167
6	1	1	0.181
7	0	0	0.176
8	-1,414	0	0.176
9	0	0	0.184
10	1,414	0	0.183
11	0	-1,414	0.187
12	0	0	0.165
13	0	1,414	0.193

Les deux coefficients (coefficient de détermination et coefficient ajusté) sont équivalents 86,68% 84,61%

($p = 0,001$), ce qui indique que le modèle est extrêmement significatif et pourrait être utilisé pour l'optimisation de l'activité antioxydante. L'équation polynomiale quadratique pour la réponse taux des polyphénols est:

$$\begin{aligned}
 DPPH = & 0,0628 & + 0,000991 & \text{concentration} & & + 0,003980 & \text{temps} \\
 & + 0,000005 & \text{concentration} * & \text{concentration} & & - 0,000011 & \text{temps} * \text{temps} \\
 & - 0,000042 & \text{concentration} * & \text{temps} & & &
 \end{aligned}$$

Les facteurs (A, B, les termes quadratiques AA et BB ainsi que l'interaction à deux facteurs AB) sont significatifs (**Figure 26**).

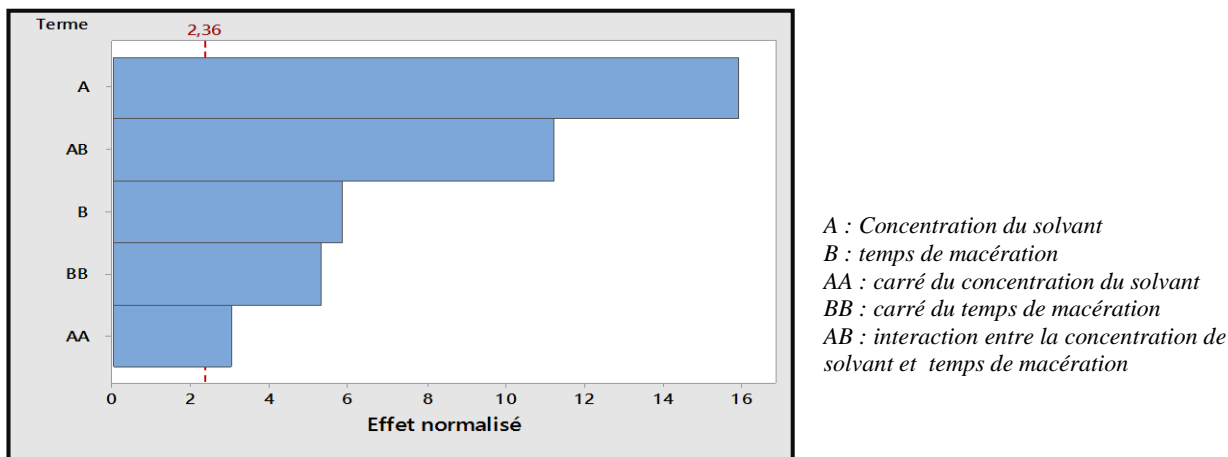


Figure26 : Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) de l'activité antioxydante.

Après la validation du modèle établi, l'optimum a été déterminé. Plusieurs outils mathématiques peuvent être utilisés, parmi lesquels figurent la représentation graphique des courbes d'iso-réponse, la surface de réponses et l'étude de la fonction de désirabilité dans le cas de réponses multiples.

Selon la (**figure 27**), les valeurs minimales d'IC50 se situent dans la zone verte limitée par les points : concentration de solvant et temps de macération : dans la première zone (60%-66%) ;(10min-16min) et la deuxième zone (92%-100%) ;(56min-60min)

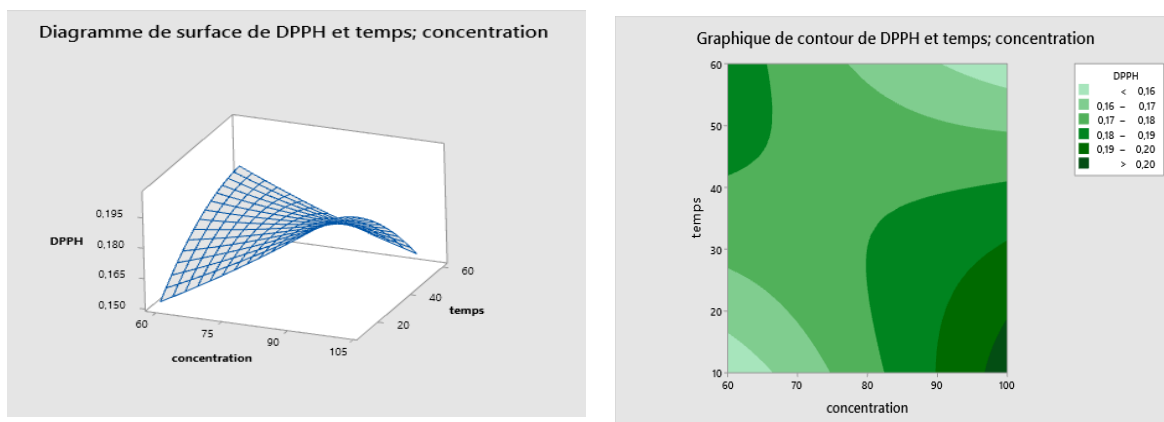


Figure 27 : Surface de réponse de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'ail triquètre en fonction du temps de macération et concentration du solvant .

Les résultats maximales sont illustré dans la courbe de désirabilité qui possède un facteur de désirabilité (D) égale à 1 ; après une coordination des conditions expérimentales .

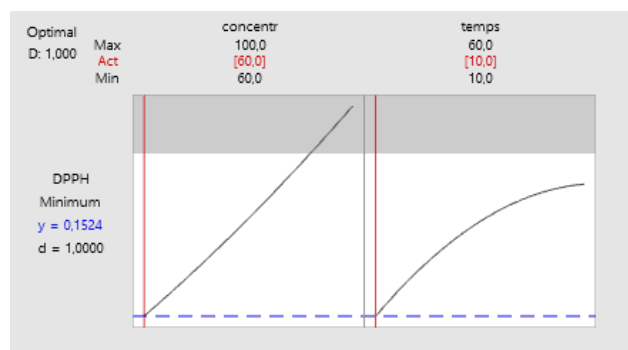


Figure 28 : Prédiction d'IC50 en fonction de la désirabilité

La prédiction des conditions minimales est : concentration du solvant de 60% et temps de macération de 30 min et une **IC50 égale à 0.15mg/ml**

L'IC50 des extraits d'ail triquètre, de BHA et de BHT sont montrés dans le tableau 8

Tableau 8 : Valeurs d'IC50 (mg/ml)

IC50 extrait	BHA	BHT
0,15^a	0,09 ^a	0,1 ^a

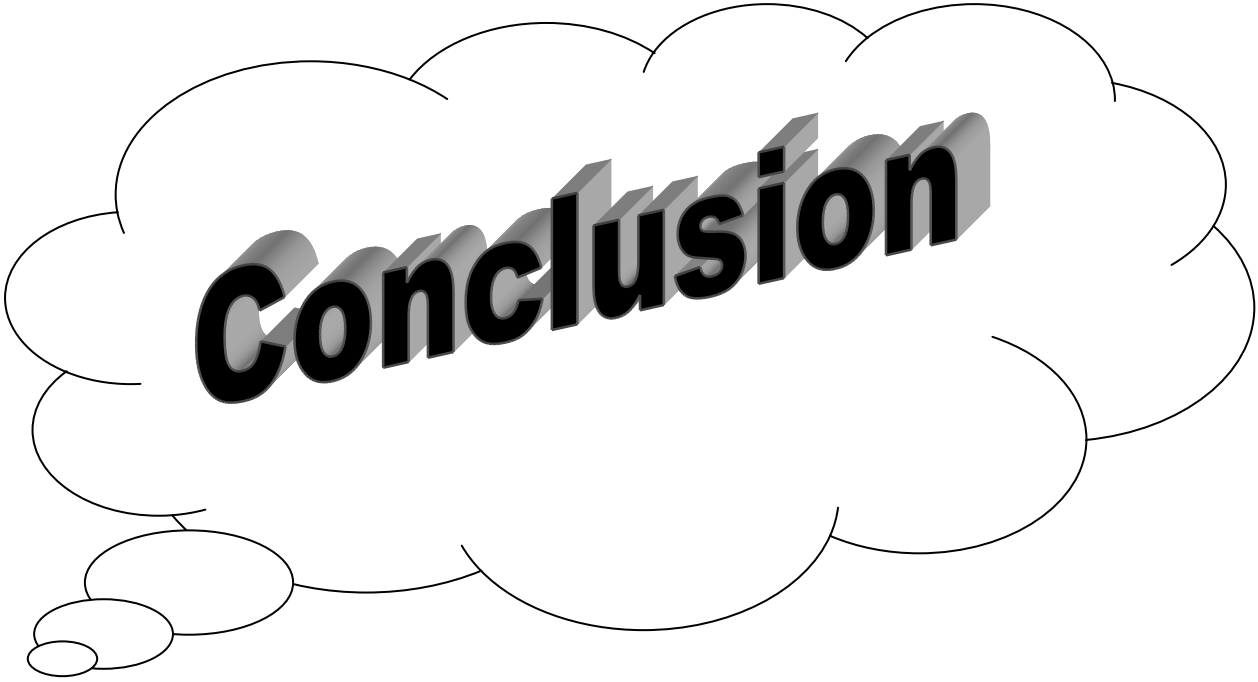
L'analyse ANOVA montre qu'il n'existe aucune différence significative ($P > 0,05$) entre l'IC50 obtenue dans notre travail et celles des antioxydants de références. Ce constat montre une très forte activité antioxydante des extraits d'ail triquètre. Plusieurs étude confirme ce résultat (**HIMED, 2015 ; MENACER et al., 2017 ; LAIB et al., 2022**). Cette activité est peut être liée aux polyphénols et notamment aux flavonoïdes De nombreuses études ont révélé le capacité élevée des polyphénols de piégeage des radicaux libres (**OWUSU APENTEN, 2003**).

Selon **HAYES et al. (2011)**, l'activité antioxydante dépend la structure des polyphénols généralement du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. Parmi les composés phénoliques, les flavonoïdes sont des composés qui présentent une activité antioxydante élevée (**MONTORO et al., 2006**).

L'évaluation de l'activité antioxydante des espèces d'*Allium* a été largement

rapportée. L'activité antioxydante de ces plantes a été déterminée par différentes méthodes. **DOMINGUEZ *et al.*, 2019**) ont rapporté une forte activité antioxydante d'*A. schoenoprasum* sur la base de la technique du potentiel de réduction du fer total (**DOMINGUEZ *et al.*, 2019**).

Ce résultat a été obtenu même avec l'utilisation d'une autre méthode d'évaluation de l'activité antioxydante. Dans plusieurs études, le test d'activité antioxydante a été réalisé par différentes méthodes telles que la capacité de piégeage des radicaux DPPH, le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) et les tests de piégeage des radicaux ABTS (L'utilisation de certaines de ces méthodes vise à comparer les résultats des activités d'une méthode à l'autre et à déterminer quelle méthode est la plus appropriée à utiliser chez certaines espèces. **PARVU *et al.* (2011)** ont fait de même, ils ont utilisé deux méthodes, à savoir la méthode de piégeage DPPH et le dosage de la capacité antioxydante équivalente au trolox (TEAC), où l'activité antioxydante de l'extrait de feuille s'est avérée plus élevée par la méthode TEAC que la méthode de piégeage D.



Conclusion

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est l'optimisation de l'écoextraction des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) de l'ail triquètre par le bioéthanol et son activité antioxydante.

Un plan composite centré à deux facteurs (concentration de solvant et temps de macération) a été utilisé pour optimiser les réponses : taux de polyphénols totaux, teneurs en flavonoïdes, taux des tanins et l'activité antioxydante d'*Allium triquetrum* L.

La quantification des phénols totaux, des flavonoïdes et des tannins par le réactif du Folin-Ciocalcu , par le trichlorure d'aluminium et par le test de butanol-HCL respectivement. L'activité antioxydante a été déterminée par le test de piégeage de DPPH.

Les taux optimaux des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins sont de (11.54 mgEAG/g , 14.03 mgEQ/g ,9.35 mg EAT/g), respectivement. Un minimum d'IC50 de 0.15 mg/ml a été trouvé.

Ces résultats pourraient servir comme données préliminaires à des analyses futures concernant l'amélioration des méthodes d'extraction des substances bioactives sans l'utilisation des solvants toxiques nocifs pour la santé humaine, mais, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur :

- La détermination des types des liaisons des composés phénoliques avec les autres composants de la matrice végétale et d'étudier l'effet des procédés de l'écoextraction sur ces interactions ;
- L'étude des autres méthodes d'extraction en appliquant un autre type de solvant biologique (tels que les solvants eutectiques, le CO₂ supercritique.. Etc) ;
- L'extraction et l'isolement des composés phénoliques néoformés et l'étude de leurs effets sur des modèles animales et des sujets humains et cela pour évaluer leurs avantages potentiels ;
- En outre, il est nécessaire d'étudier la biodisponibilité de ces composés phénoliques et de confirmer l'absence de leur toxicité ;
- Identifier et quantifier les polyphénols extraits par LC-MS/MS.



Références bibliographiques

- ALLAF A., TOMAO, V., RUIZ, K., CHEMAT, F.(2013).** Instant controlled pressure drop technology and ultrasound assisted extraction for sequential extraction of essential oil and antioxidants. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20, 239-246.
- ALLAF T., MOUNIRC, S., TOMAO, V., CHEMAT, F.(2012).** Instant controlled pressure drop combined to ultrasounds as innovative extraction process combination: Fundamental aspects. *Procedia Engineering*. 42, 1061-1078.
- ALSHIKH N., DE CAMARGO, A.C., SHAHIDI, F. (2015).** Phenolics of selected lentil cultivars: Antioxidant activities and inhibition of low-density lipoprotein and DNA damage. *J. Funct. Foods*, 18: 1022–1038.
- ALTEMIMI A., CHOUDHARY, R., WATSON, D.G. LIGHTFOOT, D.A. (2015).** Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrason Sonochem.*, 24 : 247– 55.
- ALYAFI A. (2007).** Determination of chemical composition of prangos and the possibility to use in the applied field. Damascus University, 54
- AMIC D., DAVIDOVIC-AMIC, D., BESLO, D. & TRINAJSTIC, N. (2003).** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta* 76 (1), 55-61.
- AMRUN HIDAYAT M., FITRI, A., KUSWANDI B. (2017).** Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta Pharm. Sin. B* , 7(3) , 395–400
- ANAGNOSTOPOULOU M.A., KEFALAS, P., PAPAGEORGIU, V.P., ASSIMOPOULOU, A.N., BOSKOU, D. (2006).** Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry*. 94, 19-25.
- ANASTAS, P.T., WARNER, J.C. (1998).** Green chemistry: theory and practice. New York: Oxford University Press. 148 p.
- ANDERSEN F., VIITANEN, M., HALVORSEN, D.S., STRAUME ,B., WILSGAARD, T., ENGSTAD, T.A.(2012).** The effect of stimulation therapy and donepezil on cognitive function in Alzheimer's disease. A community based RCT with a two-by-two factorial design. *BMC Neurol*. 12,59.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, “AN. (2009)** .update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants : apgorn”, botanical journal of the linnean society, 161, 105,300p.
- BABA AÏSSA F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles. flore d’Algérie et du Maghreb. Plus de 800 plantes de la flore d’Algérie et du Maghreb, ainsi que des substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’Occident. *Edition. Librairie Moderne Rouiba*, PP. 101.

BARTNICK D.D., MOHLER, C.M., HOULIHAN, M.(2006). Methods for the production of food grade extracts. *United States Patent Application*. 20060088627.

BENARD C. (2009). Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de NANCY.

BERGMAN M., VARSHAVSKY, L., GOTTLIEB, H., GROSSMAN, S. (2001). The antioxidant activity of aqueous spinach extract, chemical identification of active fractions. *Phytochem.*, 58 : 143– 152.

BLOIS MS. (1958) .Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200.

BLOOD K. (2001). Environmental Weeds. *A Field Guide for SE Australia*.

BOGA M., HACIBEKIROGLU I, KOLAK U. (2011). Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven edible plants. *Pharm Biol*, 49:290–5.

BORLINGHAUS J, ALBRECHT F, GRUHLKE MC, NWACHUKWU ID, SLUSARENKO AJ. (2014). Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules*, 19(8) ,12591-12618.

BRUNETON J. (1993). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

CHANDRASEKARA A., SHAHIDI, F. (2010). Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* , 58 :6706–6714.

CHEMAT F. (2015). Eco-extraction du végétal : Procédés innovants et solvants alternatifs. Technique et ingénierie, Dunod. 336 p.

CHEMAT F., ABERT-VIAN, M., ZILL-E-HUMA.,(2009). Microwave assisted-separations: green chemistry in action. In: Pearlman, J.T. (Ed.), Green Chemistry Research Trends. *Nova Science Publishers Inc., United States*. 1-30.

CHEMAT F., HUMA, Z., KHAN, M.K.(2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonincs Sonochemistry*. 18, 813-835..

COREA G., FATTORUSSO E., LANZOTTI V. (2003). Saponins and Flavonoids of *Allium triquetrum*. *Journal of Natural Products*, Vol. 66, N°11.

COREA G., FATTORUSSO E., LANZOTTI V. (2003). Saponins and flavonoids of *Allium triquetrum*, *J. Nat. Prod*, 66, 1405–1411.

- CORRALES M., TOEPFL, S., BUTZ, P., KNORR, D., TAUSCHER, B. (2008).** Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonic, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technology*. 9, 85-91.
- COWAN M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4), 564- 582.
- CROZIER A., CLIFFORD, M.N., ASHIHARA H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.
- DAI J. et MUMPER, R. J. (2010).** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propertes. *Molecules* 15(10), 7313-52.
- DEHPOUR AA., IBRAHIMZADEH MA., FAZEL SN, SEYED MN. (2009).** Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition, *Grasas Y Aceites* ,60,405-412.
- DEL CASTILLO M.D., AMES, J.M., GORDON, M.H. (2002)** .Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.* ,50:3698-3703.
- DEROECK V. (2014).** Ail à trois angles, *Allium triquetrum L.*, Herba Flore, Plantes Comestibles, herbes gourmandes.
- DIAAZ-REINOSO B., MOURE, S., DOMIANGUEZ, H., PARAJOA, J.C.(2006).** Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 2441-2469.
- DICKO M. H., GRUPPEN, H., TRAORE, A. S., VORAGEN, A. G. J. et VAN BERKEL, W. J. H. (2006).** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 1 (1), 21-38.
- DO THI D., HWANG, E.S. (2015).** Effects of different cooking methods on bioactive compound content and antioxidant activity of water spinach (*Ipomoea aquatica*) .*Food Sci Biotechnol*.24:799–806.
- DOBRINAS S., GABRIELA, S., SIMONA, L. (2017).** Total phenolic content and hplc characterization of some culinary herbs. *J.Sci. Art.*, 2(39):321-330.
- DUPONT, F., GUIGNARD, J-I. (2012)** .les familles de plantes”,15eme ed .Issy-les-moulineaux,elsevier masson ,300p.
- EDENHARDER R., GRÜNHAGE D. (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540, 1–18.

- EICHII K. et GENJIRO M. (2000).** Effect of storage temperatures on flowering of *Allium triquetrum* L. *Environment Control in Biology* 38, 47-50.
- ERTAS A., BOGA, M., YILMAZ, MA ., YESIL Y., HASIMI N., KAYA MS ., TEMEL H., KOLAK U.(2014).**Chemical compositions by using LC-MS/MS and GC-MS and biological activities of *Sedum sediforme*, *J. Agric. Food Chem.*, 62(20) ,4601–4609.
- FERRIS S., KARANTZOULIS, S., SOMOGYI, M., MENG, X. (2013).** Rivastigmine in moderately severe-to-severe Alzheimer's disease: Severe Impairment Battery factor analysis. *Alzheimers Res Ther.*,5(6):63.
- FRAGA C. G. (2007).** Plant polyphenols : How to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions. *IUBMB Life* 59(4-5), 308-315.
- GIANNUZZO A.N., BOGGETTI, H.J., NAZARENO, M.A., MISHIMA, H.T.(2003).** Supercritical fluid extraction of naringin from the peel of Citrus paradise. *Phytochemical Analysis*. 14, 221-223.
- GUI Y., RYU, G.H. (2014).** Effects of extrusion cooking on physicochemical properties of white and red ginseng (powder). *J. Ginseng Res.*, 38: 146–153.
- HASLAM E. (1996).** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat Pro*, 59, 205 215.
- HATANO T., KUSUDA M., INADA K., OGAWA T., SHIOTA S., TSUCHIYA T. AND YOSHIDA T. (2005).** Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 66, 2047-2055.
- HAVSTEEN B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*, 96, 67– 202
- HEBI M., EDDOUKS M. (2015).** Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, 14.
- HEBI M., EDDOUKS. M. (2016).** Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana* . *Phytother* ., 14(1) ,17–22
- HERMAN-ANTOSIEWICZ A., POWOLNY A., SINGH SV. (2007).** Molecular targets of cancer chemoprevention by garlic-derived organosulfides. *Acta Pharmacol Sin.* ,28(9) ,1355-1364.
- HIMED H. (2015).** Etude des activités antioxydante et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune. Mémoire de magister, Université Constantine 1.
- IGNAT I., VOLF I., POPA V.(2011).** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. 126, 1821-1835.

- INOUE T., TSUBAKI, S., OGAWA, B., ONISHI, K., AZUMA, J.I. (2010).** Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*. 123, 542-547.
- IRAKLI M.N., SAMANIDOU, V.F., BILIADERIS, C.G., PAPADOYANNIS, I.N. (2012).** Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-phase extraction. *Food Chem.*, 134: 1624–1632.
- ISMAIL A., MARJAN, Z.M., FOONG, C.W. (2004).**Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.*,87: 581–586.
- JAWAD A., LANGRISH ,T.A.G. (2012).** Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: the importance of the Maillard reaction. *J. Food Eng.*,109(1) :162–174.
- JEONG S.M., KIM, S.Y., KIM, D.R., JO, S.C., NAM, K.C., AHN, D.U., LEE, S.C. (2004).** Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 3389-3393.
- JOVANOVIĆ A., DORĐEVIĆ V.B., ZDUNIĆ G.M., BRANKO B.(2017).** Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. *Sep Purif Technol*, 179,369-380.
- KHATUA TN., ADELA R., BANERJEE SK. (2013).** Garlic and cardioprotection: insights into the molecular mechanisms. *Can J Physiol Pharmacol.*, 91(6) ,448-458.
- KRATCHANOVA M., PAVLOVA, E., PANCHEV, I.(2004).** The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrates Polymers*. 56, 181-185.
- LANZOTTI V. (2006).** The analysis of onion and garlic. *J Chromatogr a*, 1112(1-2) ,3-22.
- LANZOTTI V. (2012).** Bioactive polar natural compounds from garlic and onions. *Phytochem Rev*, 11,179-196.
- LE CLOIREC P.(1998).** Les composés organiques volatils (COV) dans l’environnement. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 734 p.
- LI B B., SMITH B., HOSSAIN MD. M., 2006A.** Extraction of phenolics from citrus peels. I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*. 48, 182-188.
- LI B B., SMITH B, HOSSAIN M.M., 2006B.** Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*. 48, 189 196.

- LIGOR M., BUSZEWSKI, B. (2012).** Study of xanthophylls concentration in spinach leaves by means of HPLC coupled with UV-VIS and Corona CAD detectors. *Food Anal. Method.*, 5 : 388– 395.
- LIU L, YEH YY. (2002).** S-alk (en)yl cysteines of garlic inhibit cholesterol synthesis by deactivating HMG-CoA reductase in cultured rat hepatocytes. *J Nutr.*, 132(6) ,1129- 1134.
- LIYANA-PATHIRANA C.M., SHAHIDI, F. (2005).** Antioxidant activity of commercial soft and hard wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions. *J.Agric.Food Chem.*, 53 :2433–2440.
- LUENGO E., ÁLVAREZ, I., RASO, J.(2013).** Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. *Innovative Food Science Emerging Technologies.* 17, 79-84.
- MANDAL V., MOHAN, Y., HEMALATHA, S.(2007).** Microwave assisted extraction-An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews.* 1, 7-18.
- MANTHEY J.A., GROHMANN, K. (1996).** Concentrations of hesperidin and other orange peel flavonoids in citrus processing byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*44, 811-814.
- MAZZEO T., N'DRI, D., CHIAVARO, E., VISCONTI, A., FOGLIANO, V., PELLEGRINI, N. (2011).**Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds,total antioxidant capacity, and colour of selected frozen vegetables.*Food Chem.* ,128: 627-633.
- MEHTA M., ADEM, A., SABBAGH, M. (2012).** New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis.*:728983.
- MENACER A., BOUKHATEM MN., BENHELAL A, SAÏDI F.(2017).** *In vitro* antioxidant activity of different extracts of Algerian *Allium* plant (*Allium triquetrum* L.). *Rev.des Bio Ressources*, 7, 80–91.
- MIDDLETON E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.* ,52,673–751.
- MUKOHATA Y., NAKABAYASHI, S., et HIGASHIDA M. (1978).** Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *FEBS Lett*, 85, 215– 218.
- NG A., LECAIN, S., PARKER, M.L., SMITH, A.C., WALDRON, K.W.(1999).** Modification of cell-wall polymers of onionwaste III. Effect of extrusion-cooking on cell-wall material of outer fleshy tissues. *Carbohydr. Polym.*, 39: 341–349.

- NICOLI M.C., ANESE, M., PARPINEL, M. (1999).** Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Technol.*, 10 :94–100.
- O’KENNEDY R., AND THORNES, R.D. (ED). (1997).** Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley et Sons Inc. New York. N.Y.
- PARR A.J., BOLWELL, G.P. (2000).** Phenols in plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. Sci. Food Agric.* , 80: 985–1012.
- PARSON, W.T., CUTHBERTSON, E.G.(2001).** ”NOXIOUS WEEDS Of AUSTRALIA”, second edition ,csiro publishing , collingwood , australia ,85- 86.
- PARSONS WT., CUTHBERTSON EG. (2001).**Noxious weeds of Australia, Csiro Publishing, Collingwood, 2nd edn.
- PERRON N. R. et BRUMAGHIM, J. L. (2009).** A Review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell. Biochem. Biophys.* 53, 75–100.
- PICO Y.(2013).** Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *Trends Analytical Chemistry.* 43, 84-99.
- PRASAD DK. N., HAO, J., SHI, J., LIU, T., LI, J., WEI, X.Y.(2010).** Antioxidant and anticancer activities of high pressure-assisted extract of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 10, 4, 413- 419.
- PRINS N.D., VAN DER FLIER, W.A., KNOL, D.L., FOX, N.C., BRASHEAR HR, NYE JS, BARKHOF F, SCHELTENSP .(2014).** The effect of galantamine on brain atrophy rate in subjects with mild cognitive impairment is modified by apolipoprotein E genotype: Post-hoc analysis of data from a randomized controlled trial. *Alzheimers Res Ther.* ,6, 47.
- QUEZEL P. et SANTA S. (1963).** Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. *Edition du Centre National de la Recherche Scientifique Paris*, TomeI, PP. 558.
- RABAH S., KOUACHI K., RAMOS P., GOMES A., ALMEIDA A., HADDADI-GUEMGHAR H., MADANI K., SILVESTRE A ., SANTOS S. (2020).** Unveiling the bioactivity potential of *Allium triquetrum* L. lipophilic fraction: chemical characterization and in vitro antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Food & Function.* 11.
- RAWSON A., PATRAS, A., TIWARI, B.K., NOCI, F., KOUTCHMA, T., BRUNTON, N. (2011).** Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content

of exotic fruits and their products: *Review of recent advances. Food Research International*. 44 (7), 1875-1887.

REDDY L.V.A., WEE, Y.J., YUN, J. S., RYU, H.W. (2008). Optimization of alkaline protease production by batch culture of *Bacillus* sp. RKY3 through Plackett Burmannand response surface methodological approaches. *Bioresour. Technol.*, 99(7), 2242–2249

RIBEREAU-GAYON. P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Dunod Éd. Paris.

ROBERT D. ET CATESSON, A. M. (2000). Biologie végétale : caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative. *Wolters Kluwer France Edition*, Volume2, p 320.

ROSE P, WHITEMAN M., MOORE P, YI, Z. (2005). Bioactive S-Alk(en)yl Cysteine Sulfoxide Metabolites in the Genus *Allium*: The Chemistry of Potential Therapeutic Agents.

ROUTRAY W., ORSAT, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: A review. *Food Bioprocess Technology*. 5, 409-424.

SADHUKHAN B., MONDAL, N.K., CHATTORAJ S.(2016). Optimisation using central composite design CCD and the desirability function for sorption of methylene blue from aqueous solution onto *Lemna major*. *Karbala Int. J. Mod. Sci.*, 2(3), 145–155.

SCALBERT A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883. Scherer, R., Godoy, H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1- picrylhydrazyl method. *Food Chem*, 112, 654–658.

SCHMITT-SCHILLIG S., SCHAFFER, S., WEBER, C.C., ECKERT, G.P., MÜLLER, W.E. (2005). Flavonoids and the aging brain. *J Physiol Pharmacol.*, 56:23–36.

ŞENGÜL M., YILDIZ, H., KAVAZ, A. (2014). The Effect of Cooking on Total Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of Selected Vegetables. *Int.J. Food Prop.*, 17(3): 481– 490.

SHAHIDI F., YEO, J. (2016). Review Insoluble-Bound Phenolics in Food. *Molecules*, 21, 1216.

SHAN B., CAI Y.Z., BROOKS J.D. AND CORKE H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117. 112–119.

SHARIFIFAR F., MOSHAFI MH., MANSOURI SH., KHODASHENAS M., KHOSHNOODI M. (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss”. *Food Cont*, 18,800–805

SHARIFI-RAD J., MNAYER D., TABANELLI G, et al. (2016).Plants of the genus *Allium* as antibacterial agents: from tradition to pharmacy. *Cell Mol Biol*, 62(9) ,57-68.

SHIRSATHA S.R., SONAWANE, S.H., GOGATE, P.R.(2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations-A review of current status. *Chemical Engineering and Processing*. 53, 10-23.

SINGH, V., SINGH D. (2008). Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum* L.). *Annual Review of Biomedical Sciences*, 10,6-26.

SKERGET MP., KOTNIK M., HADOLIN AR., HRAS MS., KNEZ Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem* , 89, 191-198.

SÖKMENİ B. B., AYDIN, S. et KINALIOGLU, K. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Biology* 71(1), 43-51.

SPIGNO G., TRAMELLIL., DE FAVERID. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J. Food Eng*, 81, 200-208

THOO Y.Y., HO, S.K., LIANG, J.Y.,HO, C.W.,TAN, C.P. (2010).Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chem.* , 120: 290–295.

TLILI M L. (2015). Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergulariatomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Th Mag. Biochimie et analyse de Bioproduits. Université Kasdi Merbah.Ouargla.84p.

TSIMOGIANNINS D.I., OREOPOULOU V. (2006). The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7, 140-146.

TURKMEN N., SARI, F.,VELIOGLU, Y.S. (2005).The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem.*,93 : 713-718.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. ET SHERMA J.(2011). High performance liquid chromatography in phytochemical analysis, édition CRC Press,boca raton,996.

WALSH NG., ENTWISLE TJ. (1994). Flora of Victoria Volume 2: Ferns and Allied

- WANG L., WELLER, C.L.(2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. 17, 300-312.
- WANG Y., CHANG ,C.F., CHOU, J., CHEN, H.L., DENG, X., HARVEY, B.K. , J.L., BICKFORD, P.C.(2005).** Dietary supplementation with blueberries, spinach, or spirulina reduces ischemic brain damage. *Exp Neurol.* , 193:75–84
- XU B., Chang, S.K.C. (2008).**Effect of soaking, boiling, and steaming on totalphenolic content and antioxidant activities of cool season foodlegumes. *Food Chem*. 110: 1–13.
- XU G., YE, X., CHEN, J., LIU, D.(2007).** Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 330-335.
- YANG P., SONG H., WANG L., JING H. (2019).** Characterization of key aroma-active compounds in black garlic by sensory-directed flavor analysis. *J Agric Food Chem*. ,67(28) ,7926- 7934.
- YAO L.H., JIANG, Y.M., SHI, J., TOMAS-BARBERAN, F.A., DATTA, N., SINGANUSONG, R., CHEN, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59 , 113-122
- YEOH S., SHI J., LANGRISH, T.A.G.(2008).** Comparisons between different techniques for waterbased extraction of pectin from orange peels. *Desalination*. 218, 229-237
- ZARO M. J., ORTIZ, L. C., KEUNCHKARIAN ,S., CHAVES, A. R., VICENTE, A.R.,CONCELLON, A. (2015).** Chlorogenic acid retention in white and purple eggplant after processing and cooking .*LWT*, 64 :802–808.
- ZENG Y, LI Y, YANG J, ET AL. (2017).**Therapeutic role of functional components in Alliums for preventive chronic disease in human being. *Evid Based Complement Alternat Med.* , 9402849.
- ZHANG D., HAMAUZEE Y. (2004).** Phenolic compounds and their antioxidant properties in different tissues of carrots (*Daucus carota* L.) . *Food Agric Environ.* ,2:95–101.
- ZIA-UR-REHMAN.(2006).** Citrus peel extract-A natural source of antioxidant. *Food Chemistry*. 99, 450-454.