



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé

Etude des propriétés antioxydantes du poireau sauvage

***Allium sp* : partie verte**

Présenté par : M^{elle} Karima BENMECHAIA

Devant le jury :

Présidente :	M ^{me} W. FATMI	MCB (Université de Bordj Bou Arréridj)
Encadrant :	M ^{me} F. FELLAH	MCB (Université de Bordj Bou Arréridj)
Examinatrice :	M ^{me} A. MEZITI	MCB (Université de Bordj Bou Arréridj)

Année universitaire : 2018/2019

REMERCIEMENTS

J'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à M^{me} Fahima FELLAH qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour sa disponibilité et sa simplicité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Madame, j'ai été satisfaite de votre qualité de bonne enseignante, je ne peux que sincèrement vous exprimer mon profond respect et ma gratitude.

Mes vifs remerciements vont à tous ceux qui ont accepté d'associer leurs compétences et leur savoir afin de juger ce travail :

A M^{me} Widad FATMI qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance. Je lui adresse mes respectueux remerciements.

A M^{me} Asma MEZITI de m'avoir fait l'honneur d'être examinatrice et de participer au jury de ce travail. Je lui exprime ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier tous les techniciens de laboratoire pour leur attitude professionnelle, modestie et leur bonne humeur, ils m'ont beaucoup facilité le travail, en particulier M^f Nacer Eddine MAKHOUKH et M^{me} Sabrina DJEMOUI.

Enfin, je tiens à remercier infiniment ma collègue Manel BENKADDOUR pour son magnifique esprit, elle a boosté mon énergie durant le travail au laboratoire, ce qui m'a beaucoup aidé à dépasser les moments difficiles.

*En guise de reconnaissance, je dédie ce travail à mes chers parents,
pour leur soutien tout au long de mes études, vous qui avez
toujours cru en moi et su me redonner confiance lorsque
la motivation n'était plus au rendez-vous.*

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Table des matières

Liste des figures

Introduction.....	1
Chapitre I. Recherche bibliographique.....	3
I.1. Poireau sauvage.....	3
I.1.1. Description botanique et classification.....	3
I.1.2. Utilisations du poireau sauvage.....	4
I.2. Radicaux libres et stress oxydant.....	5
I.2.1. Radicaux libres.....	5
I.2.2. Stress oxydatif.....	6
I.2.2.1. Définition.....	6
I.2.2.2. Origine du stress oxydant.....	6
I.2.2.3. Conséquences du stress oxydatif.....	6
I.3. Antioxydants.....	8
I.3.1 Définition.....	8
I.3.2. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes.....	9
I.3.3. Antioxydants non enzymatiques endogènes.....	9
I.3.4. Antioxydants non enzymatiques exogènes.....	9
I.3.4.1. Polyphénols.....	9
I.3.4.2. Terpénoïdes.....	12
Chapitre II. Matériel et méthodes.....	13
II.1. Matériel végétal.....	13
II.2. Préparation de la poudre.....	14
II.2.1. Collecte.....	14
II.2.2. Séchage.....	14
II.2.3. Broyage.....	14
II.2.4. Tamisage.....	14
II.3. Extraction.....	14
II.4. Dosage des polyphénols.....	15
II.5. Activité antioxydante.....	15
II.5.1. Détermination du pouvoir réducteur.....	16
II.5.2. Activité antioxydante totale (TAC).....	16
II.5.3. Piégeage du radical libre DPPH.....	17
II.5.4. Chélation du fer ferreux.....	18
II.5.5. Détermination de l'activité inhibitrice de peroxyde d'hydrogène.....	18
II.5.6. Test de blanchiment de β -carotène.....	19
Chapitre III. Résultats et discussion.....	20
III.1. Résultats.....	20
III.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	20
III.1.2. Activité antioxydante.....	20

III.1.2.1. Activité antioxydante totale.....	20
III.1.2.2. Pouvoir réducteur de fer.....	21
III.1.2.3. Piégeage du radical libre DPPH.....	22
III.1.2.4. Activité chélatrice des ions ferreux.....	22
III.1.2.5. Piégeage du radical hydroxyle.....	23
III.1.2.6. Test de blanchiment de β -carotène.....	23
III.2. Discussion.....	24
Conclusion et perspectives	26
Références bibliographiques	27
Résumés	

Liste des figures

Figure 1.	Genre Allium.....	3
Figure 2.	Poireau sauvage.....	4
Figure 3.	Structure chimique de l'acide benzoïque.....	10
Figure 4.	Structure chimique de l'acide gallique.....	10
Figure 5.	Structure chimique de base des flavonoïdes.....	11
Figure 6.	Structure chimique d'une unité isoprène.....	12
Figure 7.	Poireau sauvage.....	13
Figure 8.	Extraction et filtration.....	15
Figure 9.	Incubation dans le bain-marie.....	16
Figure 10.	Test du TAC (coloration en vert).....	17
Figure 11.	Lecture de l'absorbance du pouvoir chélateur de fer... ..	18
Figure 12.	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux....	20
Figure 13.	Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante totale.	21
Figure 14.	Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.....	21
Figure 15.	Courbe d'étalonnage de DPPH.....	22
Figure 16.	Courbe d'étalonnage du pouvoir chélateur de fer.....	23

Introduction

L'homme a dû faire face à son environnement et a appris à utiliser les ressources naturelles pour subvenir à ses besoins nutritionnels afin d'assurer sa survie et la pérennité de son espèce. Apprendre à reconnaître les plantes à caractère bénéfique pour l'organisme et se méfier de celles ayant un effet néfaste est une nécessité naturelle, très développée par l'homme mais également par d'autres espèces animales.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (**Larousse, 2001**). Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé de l'Homme et la survie de l'humanité (**Iserin, 2001 ; Machiex et al., 2005**) et la première citation de ces plantes se trouve dans le Codex Ebers (1550 av. JC), une revue médicale égyptienne signalant plusieurs formules thérapeutiques à base des plantes comme remède utile contre une variété de maladies (**Block, 1985**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Allium*. Aujourd'hui, les *Alliums* sont utilisés pour leur saveur, leur arôme et leur goût. Ils sont considérés comme une matière première pour divers procédés de fabrication d'aliments (déshydratation, congélation, mise en conserve et saumurage) (**Brewster et al., 1990**).

D'autre part, la société moderne profite encore des connaissances ancestrales, pour cette raison les valeurs thérapeutiques et médicinales des *Alliums* font l'objet de nombreuses recherches. Les différentes études cliniques ont démontré qu'ils ont des effets protecteurs sur le foie (**Dion et Miler, 1996**), des effets anti-infectieux (**Lau, 1989**), anti-stress et antifatigue (**Kawashima, 1986**), anticancéreux (**Dion et Milner, 1997 ; Pinto et al., 1997 ; Balasenthil et al., 2001**), neurotrophiques (**Moriguchi, 1996**) et autres effets pharmacologiques (**Yeh, 1996**). De nombreuses études récentes ont montré que les *Alliums* ont un effet antioxydant ce qui pourrait être d'une grande importance pour son utilisation dans la prévention et le traitement de différentes maladies (**Lau, 1989**).

Des recherches récentes ont montré que les métabolites secondaires issus des plantes représentent une source importante d'antioxydants naturels tels que les polyphénols (**Thaipong et al., 2006**).

Ces antioxydants connaissent un intérêt croissant pour des applications dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. En effet, leur utilisation est encouragée, car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, une mauvaise presse parmi les consommateurs. Il existe donc un besoin de production d'extraits riches en antioxydants à partir de différentes sources végétales y compris les coproduits d'industries agro-alimentaires (**Alessandro et al., 2012**).

Dans notre pays la flore sauvage est très diversifiée et largement utilisés en alimentation et en médecine traditionnelle. Plusieurs chercheurs s'intéressent à l'activité biologique et la caractérisation chimique des différentes espèces d'*Allium*. C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif du présent travail qui vise à étudier les activités antioxydantes des feuilles vertes du poireau sauvage.

Pour cela notre étude englobe plusieurs chapitres en commençant par une recherche bibliographique suivie d'une partie expérimentale. La présentation et la discussion des résultats obtenus figurent dans le chapitre trois. La dernière partie concerne la conclusion tirée de ce travail ainsi les perspectives à proposer.

Chapitre I. Recherche bibliographique

I.1. Poireau sauvage

I.1.1. Description botanique et classification

Parmi les genres des alliacées qui sont des plantes herbacées, vivaces, bulbeuses, caractérisées par un bulbe souterrain, formé d'une tige courte portant sur sa surface inférieure de petites racines à la base et, sur sa face supérieure, des gaines foliaires emboîtées les unes dans les autres et disposées concentriquement, le genre *Allium* est le plus important, il représente à lui seul presque 90% des espèces des alliacées (Gibault, 2005). Il inclut plus de 700 espèces qui se développent dans les régions tempérées, semi-arides et arides de l'hémisphère nord (Kamenetsky et Rabinowitch, 2006).

Le genre *Allium* comprend quelques-uns des plus anciens cultures, y compris *A. sativum* (ail), *A. cepa* (oignon), *A. schoenoprasum* (ciboulette), *A. ampeloprasum* (ail à grosse tête ou éléphant), *A. tuberosum* (ciboulette chinoise ou à l'ail), *A. fistulosum* (ciboulette Japonaise) (Lore, 2010) (Figure 1).



Figure 1. Genre *Allium*

Le poireau sauvage est une alliée appartenant au genre *Allium*. C'est une plante à fleurs monocotylédones (*Angiospermes*) (Quezel et Santa, 1963), vivace, herbacée d'une hauteur de 15-50 centimètres 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 1-3 tiges florifères par bulbe. 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 (Quezel et Santa, 1963) (Figure 2).

Les bulbes et les bulbilles sont généralement ovoïdes, blanc-crèmes avec une odeur forte d'ail. Ils forment la jeune plante de la prochaine saison de croissance. Avant sa croissance, il a la 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 (Quezel et Santa, 1963) (Figure 2).



Figure 2. Poireau sauvage

I.1.2. Utilisations du poireau sauvage

Depuis l'antiquité, le poireau sauvage a été utilisé comme légumes, épices et en tant que plante médicinale. La première citation de cette plante est trouvée dans le *Codex Ebers* (1550 A.J), un papyrus médical égyptien rapportant plusieurs formules thérapeutiques basées sur l'ail et l'oignon en tant que remèdes utilisés pour traiter diverses maladies (problèmes de coeur, mal de tête, morsures, vers intestinaux,...) (Lanzotti, 2006 ; Najjaa et al., 2007).

Légume d'hiver par excellence, le poireau résiste très bien au froid. Ce légume fait l'objet d'une culture traditionnelle que l'on rencontre dans l'Algérie et plus particulièrement en Kabylie. Les résidents de cette région utilisent ses fleurs pour cicatriser les plaies et ses feuilles sont utilisées pour aromatiser les galettes de pain ou assaisonner les salades. Les

jeunes feuilles et le coeur des racines se mangent crus ou cuits à la vapeur et ils peuvent accompagner d'autres légumes dans le couscous (**Baba Aissa, 1999**).

En médecine traditionnelle, le poireau sauvage a été employé pour traiter les infections parasitaires, fongiques, bactériennes et virales. Les composés organosulfurés sont les principaux agents antimicrobiens actifs. Cependant, quelques protéines, saponines et composés phénoliques contribuent également à cette activité (**Corzo-Martinez et al., 2007**). Cette plante a encore diverses vertus médicinales : diurétique, antibiotique, antioxydante, anti-inflammatoire, expectorante et anti-rhumatismale. Il soulage la douleur et stimule la circulation. Il est prescrit contre le rhume, la toux et la grippe (**Chevallier, 2001**).

I.2. Radicaux libres et stress oxydant

I.2.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Cet état n'est que transitoire car il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, au cours de nombreux phénomènes biologiques (respiration cellulaire, phagocytose,...) (**Marfak, 2003**). La plupart des espèces radicalaires sont dérivées de l'oxygène à l'exception des radicaux libres qui dérivent du soufre ou de l'azote (**Slater et al., 1995**).

L'appellation espèces réactives de l'oxygène ERO (ROS : *reactive oxygen species*) inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit dont les radicaux superoxyde ($^{\circ}\text{O}_2$), hydroxyle (OH°), monoxyde d'azote (NO°),..., mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante: peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le peroxy-nitrite (ONO_2), l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$),... (**Fontaine et al., 2002**).

Ces ERO sont produites en permanence par les cellules notamment au niveau des mitochondries lors de la respiration cellulaire, dans les cellules endothéliales par activation de la xanthine oxydase, en cas d'acidose, lors de l'autooxydation des catécholamines, lors de l'inflammation par la NAPH-oxydase et l'amyéloperoxydase, lors de perturbations du métabolisme du calcium et de l'exercice aérobie (**Groussard, 2006**).

Le radical hydroxyle est le radical le plus instable et le plus réactif de toutes les ERO. Il réagit avec de nombreuses espèces moléculaires (protéines, lipides, ADN...) entraînant ainsi de multiples dommages. Les radicaux peroxyde (ROO°) se forment par l'addition de

l'oxygène sur des radicaux libres carbonés. Ils sont peu réactifs, mais sont capables de diffuser à travers les membranes biologiques. Les hydroperoxydes organiques (ROOH) sont les formes hydrogénées des radicaux peroxytes. Ils sont réactifs et se redécomposent en radicaux peroxytes ou en radicaux alcoxytes (RO°). Ces derniers se produisent lors de la dégradation des peroxydes organiques. Ils sont très réactifs (**Marfak, 2003**).

I.2.2. Stress oxydatif

I.2.2.1. Définition

La perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défailante, soit à un état pro-oxydant accru, nommé le stress oxydant (**Biesalski *et al.*, 1997**).

I.2.2.2. Origine du stress oxydant

Un stress oxydant surviendra lorsqu'il y a un déséquilibre dans la balance antioxydants /prooxydants en faveur de ces derniers. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant (**Pincemail *et al.*, 1999**).

Il peut avoir diverses origines : mauvaise alimentation, phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus, habitudes de vie non adéquates (exposition inconsidérée à de grandes sources productrices d'ERO), intervention chirurgicales (transplantation d'organes et pontages coronariens) (**Favier, 2003**).

La source principale des espèces réactives de l'oxygène dans les cellules des mammifères est d'origine enzymatique parmi ces enzymes la NADPH oxydase, les peroxydases la xanthine oxydase, les cyclooxygénases et les lioxygénases sont parmi les sources endogènes d'ERO les plus importantes ;les mitochondries, éléments essentiels au fonctionnement cellulaire puisqu'elles métabolisent le dioxygène et produisent également en permanence des ERO (**Droge, 2002 ; Valko *et al.*, 2006 ; Afonso *et al.*, 2007**).

I.2.2.3. Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydatif est responsable de lésions de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides). Ces anomalies sont impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, des complications du diabète ou encore des affections neurologiques dégénératives. Certaines cellules, comme les

lymphocytes, les cellules bêta de Langerhans et certains neurones, sont particulièrement sensibles au stress oxydant (**Favier, 1997 ; Pincemail et al., 2007**).

➤ **Effets sur les lipides**

Les premières cibles des ERO sont les lipides notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGP) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation. L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs (**Pincemail et al., 2001**). La peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne, cette réaction organisée en 3 phases successives :

- **Phase d'initiation** : qui consiste en la rupture homolytique, occasionnée par un initiateur radicalaire, d'une liaison C-H de la chaîne d'un acide gras, ce qui en fait un composé radicalaire très réactif vis-à-vis de l'oxygène et qui se transforme en radical peroxy.
- **Phase de la propagation**: au cours de laquelle le radical peroxy arrache un atome d'hydrogène à un autre acide gras, créant un nouveau radical et entretenant ainsi une réaction en chaîne, pour se transformer en hydroperoxyde. Ce dernier finira par se dégrader en aldéhydes volatiles.
- **Terminaison**, entraînée par la réaction de deux radicaux pour donner une espèce moléculaire ou par intervention d'un composé antioxydant, dit « briseur de chaîne » (**Hennebelle et al., 2004**).

➤ **Effets sur les protéines**

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire. Les protéines peuvent alors soit subir des réticulations par formation notamment de ponts bityrosine, soit subir des coupures en cas d'agressions fortes, ou des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées (**Favier, 2003**).

Les attaques des ERO sur les protéines induisent l'apparition de groupements carbonyles, de cystéines oxydées, de fragments peptidiques (détachements d'acides aminés) ou d'agréments protéiques (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Les ERO peuvent provoquer des lésions des acides nucléiques susceptibles d'entraîner des mutations délétères à l'origine de divers cancers ou d'altérer l'expression des gènes. Certaines modifications oxydatives des acides nucléiques affectent les bases d'autres induisent des cassures dans les brins. Les dommages causés au niveau des ARNs ne sont pas réparés ; en revanche, les processus de réparation de l'ADN semblent pouvoir éliminer pratiquement sans erreurs les lésions oxydatives de cet acide. Cependant, si les dommages excèdent les capacités de réparation, la récupération cellulaire après un stress oxydatif peut être compromise (**Ré et al., 2005**). Les ERO provoquent par ailleurs la coupure irréversible de l'ADN en fragments au niveau des nucléosomes. L'ADN mitochondrial est particulièrement vulnérable. Il en résulte des dysfonctionnements métaboliques. Les ERO inhibent ou modifient l'activité de la topoisomérase qui n'assure plus la religature des deux brins de l'ADN lors de sa réplication (**Lemkecher et al., 2005**).

I.3. Antioxydants

I.3.1 Définition

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou désactiver directement les ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres (**Higdon et al., 2004**).

L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydante. Nous les trouvons dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement avec les radicaux libres en les « neutralisant » par réaction de réduction (**Higdon et al., 2004**).

Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non, de vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols (**Higdon et al., 2004**).

I.3.2. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes

Les antioxydants enzymatiques (le superoxyde dismutase la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les différents espèces oxydants. Leur rôle principal est de diminuer la quantité des ROS dans la cellule (**Lardon, 1988**). Parfois, ces enzymes nécessitent des cofacteurs comme les oligoéléments (Zn, Cu, Mn, Se, Fe) pour exercer leur activité enzymatique (**Pelzer et al., 1998**).

I.3.3. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Ils existent de nombreux réducteurs endogènes participant à la protection de l'organisme contre les DROs, les plus importants étant le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q, les oestrogènes, la mélanine, la mélatonine et l'acide lipoi que (**Yamamura et al., 1998**).

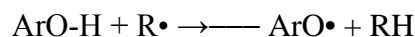
I.3.4. Antioxydants non enzymatiques exogènes

La principale source d'approvisionnement de l'organisme en antioxydants exogènes sont les aliments soit d'origine animale, soit d'origine végétale. Les plus connus sont la vitamine E, la vitamine C et les polyphénols (**Yamamura et al., 1998**).

I.3.4.1. Polyphénols

Les polyphénols représentent une classe de métabolites secondaires. Ils sont très largement représentés dans le règne végétal et donc dans notre alimentation. Nous les consomons sous forme de fruits ou de légumes par exemple. Leur structure comporte un ou plusieurs groupes phénoliques (e.g., un groupement OH greffé sur un noyau aromatique). Leur étude a été croissante ces dernières décennies en raison de leurs bienfaits sur la santé, notamment grâce à leur pouvoir antioxydant mais aussi dans la prévention ou le traitement de nombreuses pathologies comme les cancers, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives (**Orgogozo et al., 1997 ; Chen et al., 2004**). Ils sont également utilisés en agroalimentaire, en cosmétique ou dans l'industrie pharmaceutique comme additifs (**Velu et al., 2008 ; Košinová et al., 2011**).

Le mécanisme de piégeage des radicaux libres par les polyphénols se fait par le transfert de l'atome d'hydrogène (H-atom transfer ou HAT). Le radical libre est réduit par transfert de l'atome d'hydrogène de l'antioxydant (ArO-H) vers le radical (R•).



Le radical $\text{ArO}\cdot$ ainsi formé sera stabilisé (i) par délocalisation des électrons π , (ii) par un nouveau transfert d'atome d'hydrogène conduisant à la formation de quinone (iii) ou par réaction avec un autre radical libre (Velu *et al.*, 2008 ; Košinová *et al.*, 2011).

Les polyphénols jouent un rôle important, ils sont capables d'interagir avec les métaux de transition, notamment avec le fer et le cuivre (Moran *et al.*, 1997) . En effet les ROS sont produits abondamment par réduction d' O_2 par Fe^{2+} ou Cu^+ aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux oxyle (réaction de Fenton). Ainsi la formation de complexes chélateurs stables et inertes est un mécanisme antioxydant (Velu *et al.*, 2008 ; Košinová *et al.*, 2011).

a) Acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts : les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) dérivés de l'acide benzoïque et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) dérivés de l'acide cinnamique (Thomas, 2016) (Figure 3).

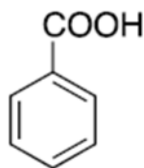


Figure 3. Structure chimique de l'acide benzoïque

Ces composés ont été trouvés dans les différentes parties des espèces du genre *Allium* tels que : l'acide protocatéchique, l'acide gallique (Figure 4), l'acide cinnamique, l'acide *p*-coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique (Singh *et al.*, 2009 ; Simin *et al.*, 2013).

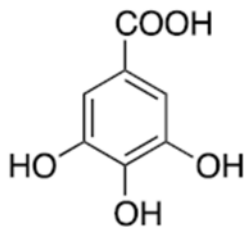


Figure 4. Structure chimique de l'acide gallique

b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de plantes possédant une structure similaire avec deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone (**Figure 5**). Ils se présentent la plupart du temps sous forme d'hétérosides (**Thomas, 2016**).

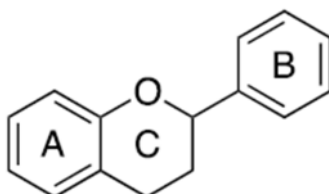


Figure 5. Structure chimique de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont très largement étudiés en raison de leurs multiples propriétés biologiques (**Nijveldt et al., 2001**) exploitées dans l'industrie. Le premier effet attribué à ces molécules a été le caractère veinotonique (**Jean et al., 2009**) en renforçant la résistance des capillaires.

Selon les études réalisées sur les flavonoïdes des espèces appartenant au genre *Allium*, les flavonols et les flavones sont les plus répandus (**Lanzotti, 2006 ; Bonaccorsi et al., 2008 ; Beesk et al., 2010 ; Dziri et al., 2013**).

c) Tannins

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

Les tanins vont présenter des propriétés biologiques variées. La principale est l'effet astringent, c'est-à-dire la capacité à précipiter les glycoprotéines. Notons des propriétés anti-diarrhéiques, veinotoniques, antiseptiques, antioxydantes ou encore cicatrisantes. Comme vu précédemment, ils vont pouvoir chélater les métaux mais également inhiber des systèmes enzymatiques. De plus, les cathécols vont avoir une activité cardioprotectrice, anti-inflammatoire mais également anti-thrombotique (**Thomas, 2016**).

I.3.4.2. Terpénoïdes

Les terpénoïdes, ou également appelés isoprénoïdes, est une famille de composés chimiques très vaste se caractérisant par un squelette dérivé du squelette de l'isoprène (**Pellegrini et al., 2003**) (**Figure 6**).

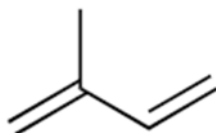


Figure 6. Structure chimique d'une unité isoprène

Au sein de cette famille, nous distinguons les molécules en fonction du nombre de carbones de son squelette, donc en fonction du nombre de molécules d'isoprène nécessaires à leur synthèse.

Un bon nombre d'entre eux possèdent des activités intéressantes comme les stérols (comme stabilisateur de membranes), les polyprénols (transporteurs de glucides) et les caroténoïdes. Ces derniers jouent un rôle fondamental dans la photosynthèse et sont capable de piéger les radicaux libres. Notons que la vitamine E est un terpénoïde (**Pellegrini et al., 2003**).

Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur la partie aérienne, plus précisément la partie verte du poireau sauvage (*Allium sp*) (**Figure 7**) qui appartient à la famille des Alliaceae. Ce légume fait l'objet d'une culture traditionnelle que l'on rencontre dans le Nord-Est algérien et dont les populations font un usage culinaire pendant la période du printemps où il est disponible.

Classification de l'espèce *Allium sp* :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

Famille : Alliaceae

Genre : *Allium*

Espèce : *Allium sp*



Figure 7. Poireau sauvage

II.2. Préparation de la poudre

La préparation de la poudre du poireau sauvage comprend différentes étapes qui ont été effectuées précédemment.

II.2.1. Collecte

La collecte du poireau sauvage *Allium sp* a été effectuée dans la région montagnarde de Beni Maouche à une altitude de 800m, dans la wilaya de Béjaia au lieu-dit El-Djabia, durant le mois d'avril 2018.

II.2.2. Séchage

Après avoir bien nettoyé les plantes de poireau récoltés précédemment, on sépare les deux parties : blanche et verte, puis on prend la partie verte et on procède à leur séchage dans une étuve sous une température de 40°C (**Kablan et al., 2008**) .

II.2.3. Broyage

Après le séchage, l'échantillon sec obtenu est broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

II.2.4. Tamisage

Le tamisage a été effectué afin d'obtenir une poudre de granulométrie inférieure à 125 µm. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons en verre, fermés hermétiquement, à l'abri de la lumière pour éviter que la poudre n'absorbe pas l'humidité, mais aussi pour réduire le taux d'oxydation dû à la lumière (**Kablan et al., 2008**).

II.3. Extraction

L'extraction se fait par agitation de 100 mg de poudre verte, dans 10ml d'acétone (25%) sous agitation pendant 30 min à 25°C. L'extrait obtenu est filtré jusqu'à l'obtention d'une solution limpide et conservé au réfrigérateur (**Figure 8**).



Figure 8. Extraction et filtration

II.4. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi (1965)**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Kayumba, 2001**).

Une quantité de 0.2ml de l'extrait brut est introduite dans des tubes à essais, puis 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Après 3 à 5 minutes, on ajoute 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5%. Les tubes sont agités et incubés pendant 120 minutes. L'absorbance est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de matière sèche de poireau sauvage (mg EAG/100g MS).

II.5. Activité antioxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits des composés phénoliques a été réalisée par des techniques chimiques à savoir : l'activité antioxydante totale (TAC), le pouvoir réducteur du fer, le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir chélateur du fer, la détermination de l'activité inhibitrice de peroxyde d'hydrogène et le test de blanchiment de β -carotène.

II.5.1. Détermination du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Blasovics *et al.*, 2003). En solution, cette forme réduite prend une couleur vert-bleu, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (Ferruzzi *et al.*, 2007).

Le test a été déterminé en utilisant la technique d'Oyaizu (1986). 1 ml de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH= 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%). Après incubation à 50°C pendant 20 minutes (Figure 9), 1 ml d'acide trichloracétique TCA (10%) est ajouté au mélange avant d'être centrifugé à 700 g pendant 10 minutes à température ambiante. 1 ml de surnageant est additionné à 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorure ferrique (FeCl_3 , 0.1%). L'absorbance est lue à 700 nm. Une courbe d'étalonnage a été établie pour l'acide gallique dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons.



Figure 9. Incubation dans le bain-marie

II.5.2. Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto *et al.* (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo (V) à pH acide (Benhammou, 2012) (Figure 10).

Une quantité de 0,3 ml de l'extrait est introduite dans les tubes à essais, puis 3 ml de solution à préparer sont additionnés (la solution contient de l'acide sulfurique 0,6 M, du phosphate de sodium 28 mM et du molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes sont agités et incubés au bain-marie à 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement l'absorbance est mesurée à 695 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligrammes (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de matière sèche (mg EAG/100g MS).

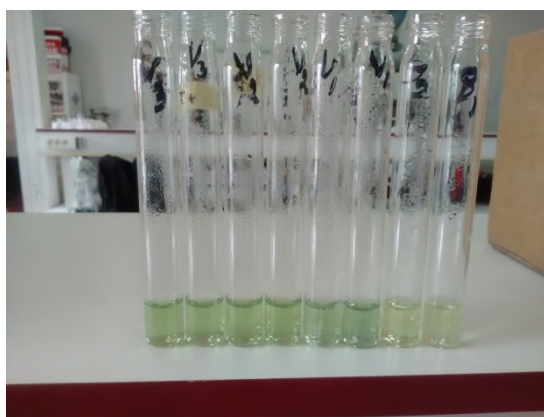


Figure 10. Test du TAC (coloration en vert)

II.5.3. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Le pouvoir anti radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH· de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par **Blois (1958)**. Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) ayant une couleur violette en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

Un volume de 500 µl d'extrait est additionné à 1 ml d'une solution de DPPH (60 µM dans le méthanol absolu). Le mélange réactionnel est agité au Vortex pendant 1 minute puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est réalisée à 517 nm. L'activité scavenger est exprimée en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS).

II.5.4. Chélation du fer ferreux

La capacité chélatrice des extraits a été estimée par la méthode modifiée de **Dinis et al. (1994)**. Pour 1 ml de l'extrait, 2,7 ml d'eau distillée et 0,1 ml de chlorure ferreux 2 mM ont été ajoutés. Après 3 min, 200 μ l de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) sont additionnées au milieu réactionnel. Le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante. L'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 562nm (**Figure 11**). Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de l'acétone. La capacité de chélation exprimée en milligramme (mg) équivalent d'EDTA par cent grammes de matière sèche (mg EEDTA/100g MS).

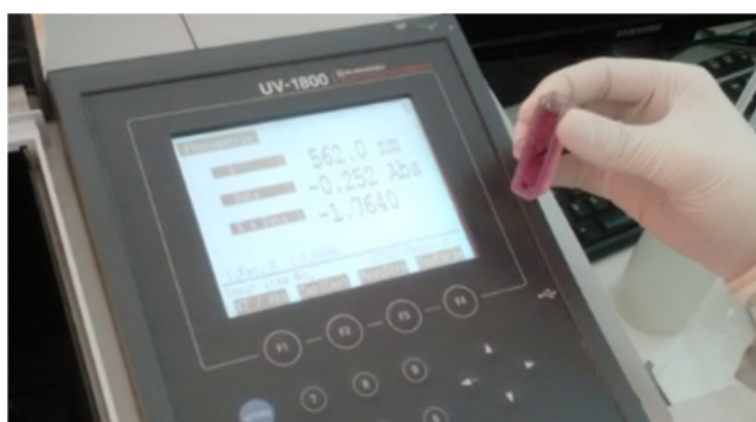


Figure 11. Lecture de l'absorbance du pouvoir chélateur de fer

II.5.5. Détermination de l'activité inhibitrice de peroxyde d'hydrogène

La capacité des extraits d'huiles à piéger le peroxyde d'hydrogène est mesurée selon la méthode rapportée par **Atmani et al. (2009)**. Un volume de 0,15 ml d'extrait est ajouté à 1 ml d'une solution de peroxyde d'hydrogène et 1,35 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4). Un blanc a été préparé suivant les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction (acétone). L'absorbance des échantillons est mesurée à 230 nm après une incubation de 20 min.

Le pouvoir antioxydant est exprimé en % d'inhibition du peroxyde d'hydrogène selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(At - Ae) / At] * 100$$

At : Absorbance du témoin ;

Ae: Absorbance de l'échantillon.

II.5.6. Test de blanchiment de β -carotène

L'acide linoléique qui est dans un système d'émulsion aqueuse génère des radicaux peroxydes qui vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. La présence des antioxydants réduisent l'intensité de la destruction du β -carotène en neutralisant les radicaux libres dérivés et permet donc de prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (**Unten et al., 1997**).

Le test de blanchissement de β -carotène est réalisé par la méthode de **Sun et Ho (2005)**. Une quantité de 2 mg de β -carotène est dissoute dans 10 ml de chloroforme. 1 ml de cette solution est additionné à 200 mg de tween 20 et 20 μ l d'acide linoléique. Le chloroforme est éliminé ensuite par évaporation et 100 ml de l'eau oxygénée diluée sont ajoutés et le mélange résultant est agité vigoureusement. Un volume 0,1 ml de chaque extrait est ajouté à un volume de 2 ml de l'émulsion du β carotène/acide linoléique. L'absorbance des extraits est mesurée à 470 nm après une incubation à 50°C pendant 120 min. Le témoin est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction. L'activité antioxydante (%) en termes de blanchissement de β -carotène des extraits a été évaluée en utilisant la formule suivante :

$$(\%) = [(AA(120) - CC(120)) / (CC(0) - CC(120))] * 100$$

AA(120) : représente l'absorbance en présence de l'extrait à t = 120 mn.

CC(120) : représente l'absorbance du contrôle à t = 120 mn.

CC(0) : représente l'absorbance du contrôle à t = 0 mn.

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Dosage des polyphénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage présentée dans la **figure 12** exprimé en mg équivalent d'acide gallique par cent grammes de la matière sèche.

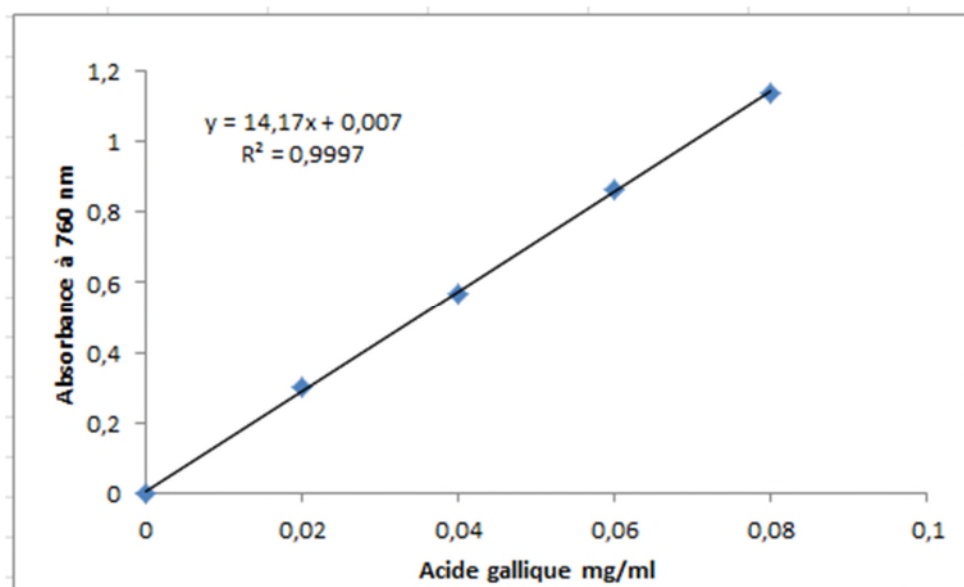


Figure 12. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

D'après nos résultats, l'extrait de la partie aérienne de la plante *Allium sp* possède une teneur des phénols totaux de l'ordre de $1636,84 \pm 20,482$ mg EAG /100 g MS.

III.1.2. Activité antioxydante

III.1.2.1. Activité antioxydante totale

La **figure 13** représente la courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante totale ayant pour équation : $Y = 6,09x - 0,012$.

À partir de cette équation, on a pu déterminer que les extraits de la partie verte de la plante étudié révèlent une activité antioxydante totale égale à $3047,55 \pm 75,09$ mg EAG/100 g.

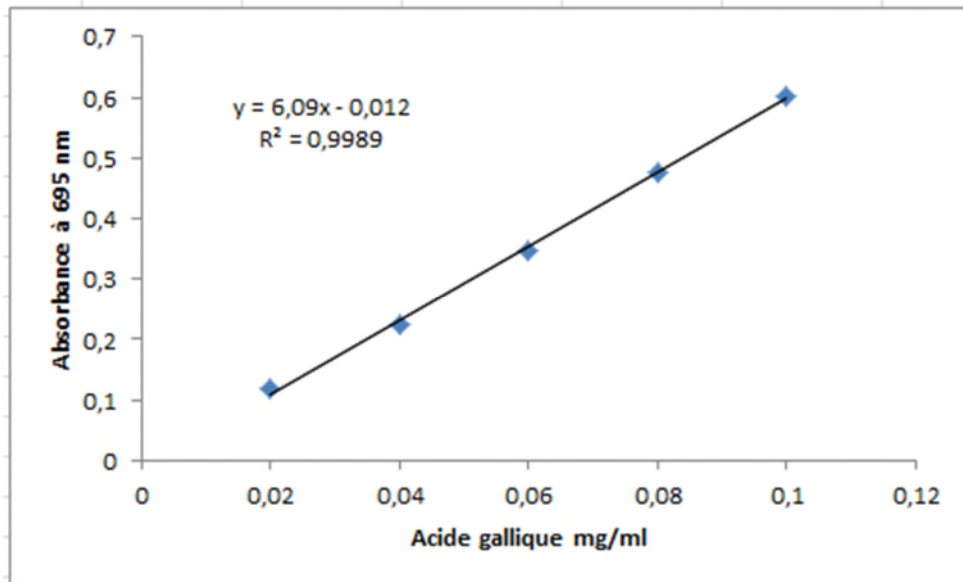


Figure 13. Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante totale

III.1.2.2. Pouvoir réducteur de fer

D'après les valeurs d'absorbance des diverses solutions d'extrait de la plante étudiée et d'après les avoir converti en matière de masse en se servant de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions de dosage des extraits (Figure 14), on a fait ressortir une activité réductrice de fer de $367,39 \pm 10,91$ mg EAG/100 g.

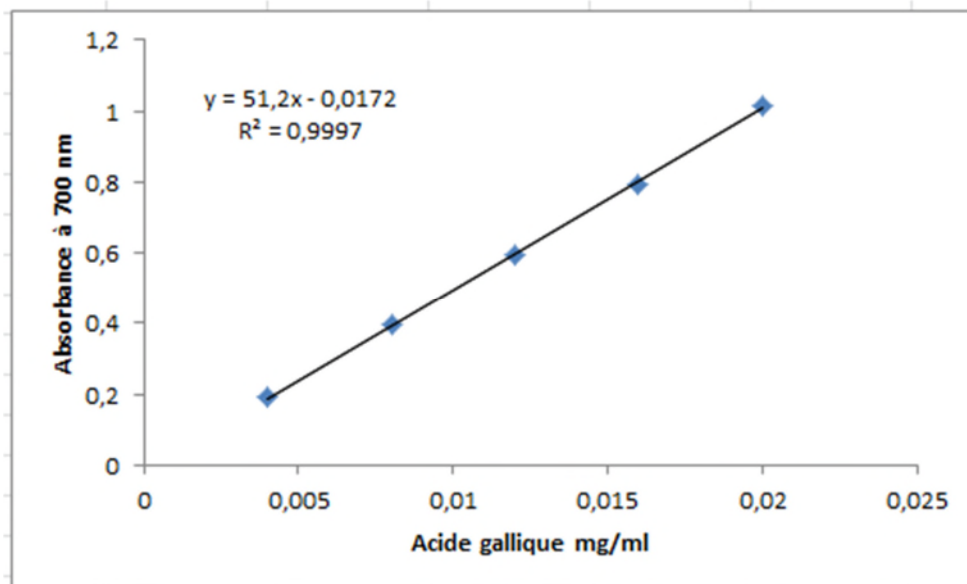


Figure 14. Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

III.1.2.3. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Le pouvoir antiradicalaire des antioxydants contenus dans l'extrait vert d'*Allium sp* est d'une valeur de $36,2609 \pm 0,4135$ mg EAG/100 g de la matière sèche par référence à une courbe d'étalonnage (**Figure 15**).

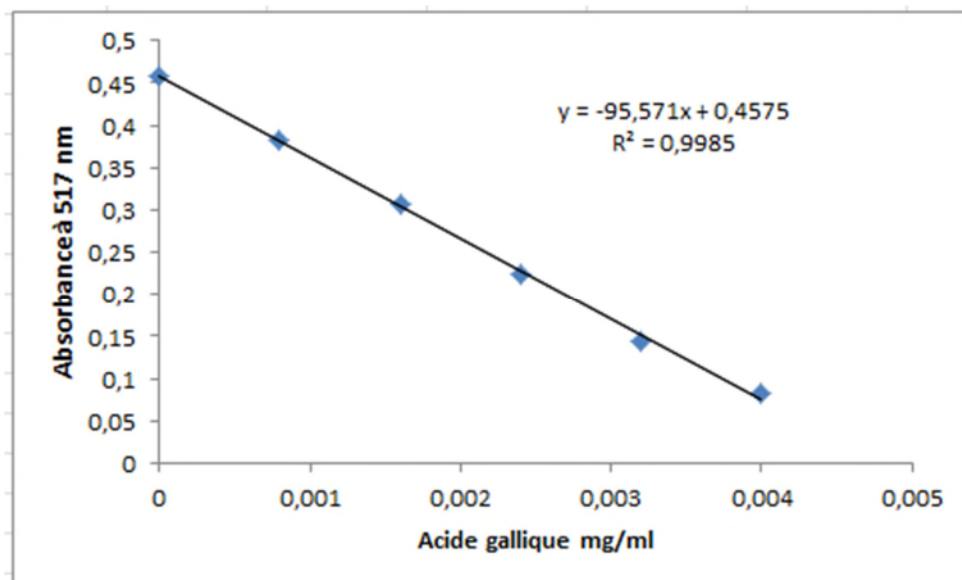


Figure 15. Courbe d'étalonnage de DPPH

III.1.2.4. Activité chélatrice des ions ferreux

La ferrozine complexe le fer (II) et forme un composé rouge magenta (Fe^{2+} -Férozine) permettant un dosage colorimétrique avec un maximum d'absorption à 562 nm. La formation de ce complexe est perturbée en présence d'agents chélateurs aboutissant à une diminution de la couleur rouge, qui est suivie par spectrophotométrie.

Les résultats de cette étude ont montré que les extraits de la partie aérienne ont une activité chélatrice de fer égale à $100,978 \pm 11,741$ mg EEDTA/100 g de la matière sèche après avoir utilisé une courbe d'étalonnage correspondante (**Figure 16**).

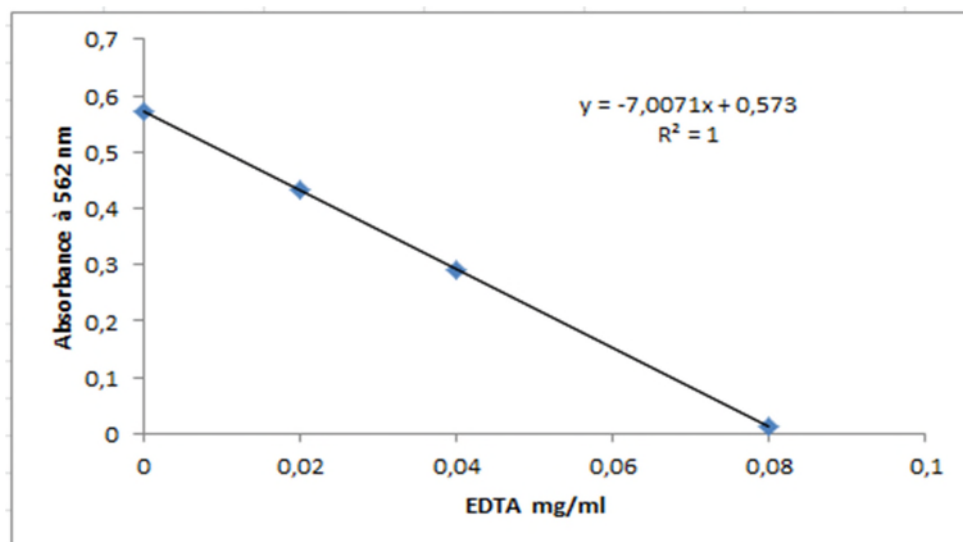


Figure 16. Courbe d'étalonnage du pouvoir chélateur de fer

III.1.2.5. Piégeage du radical hydroxyle

L'une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piégeurs, la valeur d'absorbance de ce dernier à 230nm diminue également.

Après avoir utilisé la formule suivante : $(\%) = [(At - Ae) / At] * 100$, le pourcentage de piégeage de H₂O₂ de l'extrait est estimé à $80,604 \pm 4,82\%$.

III.1.2.6. Test de blanchiment de β -carotène

Dans la présente étude, le pourcentage d'inhibition est de $71,250 \pm 4,677\%$.

III.2. Discussion

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé (**Mahmoudi et al., 2013**).

L'extraction des composés phénoliques des matrices végétales est une étape cruciale qui dépend de la méthode et du solvant approprié, pour leur quantification et leur classification (**Brun et al., 1992**). Selon **Mokrani (2009)**, l'objectif de l'étape d'extraction des composés phénoliques à partir de la matrice végétale est de libérer ses composés à partir des structures vacuolaires, où ils se trouvent par la rupture du tissu végétal ou par le phénomène de diffusion.

Afin d'évaluer l'activité antioxydante du poireau sauvage, nous avons réalisé des extractions des feuilles de la plante en utilisant l'Acétone 25% comme solvant. Ce choix est basé sur une étude d'optimisation précédente faite par **Benchennaf et al. (2018)**, dont les résultats montrent que l'acétone 25% est la meilleure concentration pour sa capacité à extraire le maximum de composés phénoliques.

D'autre part, selon **Benchennaf et al. (2018)**, le rapport solide /liquide de 0.1/10 et la durée d'agitation de 30 mins sont ceux qui permettent d'obtenir le meilleur taux de polyphénols, avec en moyenne 1363.48 ± 10.389 mg EAG/100g MS, pour cette raison on a choisi la quantité de 100 mg de poudre verte, dans 10ml d'acétone 25% pour le dosage des polyphénols.

Nos résultats ont montré que la teneur en polyphénols totaux ($1636,84 \pm 20,482$ mg EAG /100g MS) était très élevés par rapport au celle trouvés par **Turmen et al. (2005)** dont sa valeur est de 300,8 mg/100g MS, ainsi que par rapport aux résultats de **Bouabbache et al. (2018)** qui ont rapporté des teneurs en polyphenols de $75,11 \pm 7,95$ mg EAG/100g MS. **Marinova et al. (2005)** ont relevé des teneurs de 35,7 mg/100g MF et **Mokrani (2009)** a noté une teneur de 998,7 mg/100g MS (96,8 mg/100g MF) pour les feuilles du poireau sauvage.

Les différences constatées entre les teneurs en polyphenols de la présente étude et celles indiquées dans la littérature peuvent être dues aux plusieurs facteurs tels que la variété,

l'origine géographique et les conditions climatiques, le degré de maturité, la sensibilité de la méthode d'analyse utilisée et la durée et les conditions de la conservation (**Lee et al., 2000**).

Dans la présente étude, en comparant nos résultats de test du pouvoir réducteur de fer dont la capacité réductrice est de $367,39 \pm 10,91$ mg EAG/100 g avec les valeurs trouvées par **Bouabbache et al. (2018)** et **Himed (2015)**, nous constatons que l'effet réducteur de notre plante est plus remarquable. Pour le premier auteur, il annonce une capacité réductrice de $0,115 \pm 0$ mg EAG/100 g.

Cette différence entre les résultats peut être due à la concentration des extraits et cela était expliqué par l'étude de deuxième auteur, qui a montré que l'absorbance augmente au fur et à mesure que la concentration en extrait s'élève, ce qui signifie que le pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation des concentrations.

Dans ce travail, les extraits de notre plante *d'Allium* montrent une activité antioxydante importante vis-à-vis du radical DPPH et du radical hydroxyle. Cette estimation est basée sur la comparaison de nos résultats avec les résultats obtenus par **Bouabbache et al. (2018)**.

En outre, les résultats du pouvoir chélateur de fer exécuté par les composés phéloniques contenus dans la partie verte de notre poireau sauvage est notable par rapport aux résultats obtenus par **Ben Arfa et al. (2015)**. En revanche, le test de blanchiment de β -carotène a montré un pourcentage d'inhibition supérieur à celui trouvé par **Himed (2015)**. Selon **Liyana et al. (2006)**, un extrait qui inhibe ou retarde le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire.

Cependant, l'activité antioxydante des extraits végétaux dépend de plusieurs facteurs tels que la teneur en divers antioxydants, les conditions climatiques de croissance et le stade de maturité, la température et durée de stockage, la teneur en eau et le pH, le type et la polarité du solvant d'extraction, les méthodes de séparation et la pureté des composés bioactifs, ainsi que les techniques d'analyse et le substrat utilisé (**Prior et al., 1998 ; Amin et al., 2004 ; Zhao et al., 2007**).

Conclusion et perspectives

De nos jours, on s'intéresse de plus en plus aux substances possédant des propriétés antioxydantes, qui sont fournies à la population humaine sous forme de composants alimentaires ou de produits pharmaceutiques préventifs spécifiques. Nous étudions la capacité antioxydante de la partie verte du poireau sauvage qui est bien connus pour leur utilisation ethnopharmacologique en médecine traditionnelle.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que le taux des polyphénols dans la partie verte d'*Allium sp* est important ce qui explique la présence d'une activité antioxydante forte, si bien que les valeurs des tests du pouvoir réducteur de fer, piégeage du radical libre DPPH, activité chélatrice des ions ferreux, piégeage du radical hydroxyle et test de blanchiment de β -carotène ont été très élevés par rapport aux résultats des autres travaux.

Enfin, il serait aussi intéressant d'orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies afin d'isoler et identifier les molécules naturelles responsables de cette forte activité antioxydante. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- La réalisation des tests (*in vivo*) des extraits optimaux afin de déterminer leurs effets sur la santé.
- L'étude des activités antibactériennes, anti-inflammatoire des composés phénoliques notamment sur des espèces pathogènes.
- L'utilisation des techniques d'analyse avancées (HPLC, RMN... etc) pour mieux quantifier et identifier les antioxydants de cette plante.

Références bibliographiques

- Amin, I., Zamaliah, M.M. and Chin, W.F. (2004).** Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry* 87: 581-586.
- Balasenthil, S., Ramachandran, C.R. and Nagini, S. (2001).** Prevention of 4- nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis of garlic. *Fitoterapia* 72: 524-531.
- Beesk, N., Perner, H., Schwarz, D., George, E., Kroh, L.W. and Rohn, S. (2010).** Distribution of quercetin-3,40-O-diglucoside, quercetin-40-O-monoglucoside, and quercetin in different parts of the onion bulb (*Allium cepa* L.) influenced by genotype. *Food Chemistry* 122: 566-571.
- Ben Arfa, A., Najjaa, H., Yahia B., Tlig, A. and Neffati, M. (2015).** Antioxidant capacity and phenolic composition as a function of genetic diversity of wild Tunisian leek. *Academia Journal of Biotechnology* 3(9): 015-026.
- Benchennaf, K and Babouche, K. (2018).** Etude des paramètres d'extraction des composés phénoliques du poireau sauvage *Allium sp* et activité antioxydante. *Mémoire de Master en Sciences Agronomiques*, Université de B.B.A, 20-25p.
- Block, E. (1985).** The chemistry of garlic and onions. *Scientific American* 252: 114-128.
- Bonaccorsi, P., Caristi C., Gargiulli, C. and Leuzzi, U. (2008).** Flavonol glucosides in *Allium* species. A comparative study by means of HPLC–DAD–ESI-MS–MS. *Food Chemistry* 107:1668-1673.
- Bouabbache, N. and Khouchane, D. (2018).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de certaines plantes aliaceae. *Mémoire de Master en Science Alimentaire*, Université A. MIRA de Béjaia, 30-40p.
- Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11): 317-33.
- Brewster, J. and Rabinowitch, H.D. (1990).** Onions and Allied Crops. *Taylor & Francis* 74-105.

- Brun, N., Jay, M. and Merghem, R. (1992).** A proposition for the study of phenolic and of legumes, In: *Proceeding of I-st European Conference on Grain Legumes, Anger, France* 393-394.
- Chen, D., Daniel, K.G., Kuhn, D.J., Kazi, A., Bhuiyan, M., Li, L., Wang, Z., Wan, S.B., Lam, W.H., Chan, T.H. and Dou, Q.P. (2004).** Green tea and tea polyphenols in cancer prevention. *Front Bioscience* 2618-31.
- Dion, M.E. and Milner, J.A. (1996).** Formation and bioactivation of nitrosomorpholine is inhibited by S-allyl cystein. *Experimental Biology* 96:41-62
- Dion, M.E. and Milner, J.A. (1997).** Garlic inhibits cytochrome P 450 2E1 mediated chlorzoxazone metabolism. *Federation of American Societies for Experimental Biology* 2144-2150.
- Dziri, S., Hassenb, I., Fatnassia S., Mrabeta, Y., Casabiancac, H., Hanchid, B. and Hosnia, K. (2012).** Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of functional food* 4: 423-432.
- Favier, A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de Biologie Clinique* 55, 9-16.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 108-115.
- Hagerman, AE. (1988).** Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of Chemical Ecology* 14(2): 453-61.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S. and Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* 1: 2-5.
- Higdon, J. (2004).** Antioxidant Vitamins and Health: Cardiovascular Disease, Cancer, Cataracts, and Aging. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80(1): 239-239.
- 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 en Sciences Alimentaires*, Université de Constantine, 47-52-54p.

- Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse vuf, 2^{ème} édition. Vol.14. Paris, 335p.
- Jean, B. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4^{ème} édition, *Lavoisier* 1289 p.
- Kawashima, H. (1986).** Antifatigue effect of aged garlic extract in atletic club students. *Clinical Report* 20:111-127.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 20 : 165-177.
- Košinová, P., Gažák, R., Duroux, J-L., Lazzaroni R., Křen, V., Assfeld, X. and Trouillas, P. (2011).** Dimerisation process of silybin-type flavonolignans: insights from theory. *European Journal of Chemical physics and Physical chemistry* 12(6):1135-42.
- Lardon, R.A. (1988).** The antioxydants of higher plants. *Phytochemistry* 27 :969.
- Larousse Andrew, C., (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales (identification, préparations et soins). 2^{ème} édition, Paris, 335 p.
- Lau, B.H.S. (1989)** Detoxifying, radio-protective and phagocyte-enhancing effects of garlic. *International Clinical Nutrition Reviews* 9:27-31.
- Lee, S.K. and Kader, A.A. (2000).** Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology* 20: 207-220.
- Lemkecher, T., Dartigues, S., Vaysse J., Kulski, O., Barraud-Lange, V., Gattegno, L. and Wolf, J.P. (2005).** Leucospermie, stress oxydatif et fertilité masculine: certitudes et hypothèses. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 33 : 2-10.
- Liyana-Pathriana, C.M. and Shahidi, F. (2006).** Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 477-485.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A. and Sarni-Manchado, P. (2006).** Composés phénoliques dans la plante- Structure, biosynthèse, répartition et rôles. *Polyphénols en agroalimentaire* 398, 1-28 p.

- Mahmoudi, S., Khali, M. and Mahmoudi, N., (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology* 35.
- Marinova, D. and Ribarova, F., (2005).** Atanassova M.. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 40 (3): 255-260.
- Mokrani, A., (2009).** Etude Comparative du Pouvoir Antioxydant de Quelques Alliées. *Mémoire de Master en Sciences Alimentaires*, Université de Bejaia, 48-61p.
- Moran, J.F., Klucas, R.V., Grayer, R.J., Abian, J. and Becana, M. (1997).** Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine* 22(5):861-70.
- Moriguchi, T. (1996).** Aged garlic extract prolongs longevity and improves special memory deficit in senescence-accelerated mouse. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 19:305-307.
- Nijveldt, R.J., Nood, E., Hoorn, D.E., Boelens, PG., Norren, K. and Leeuwen, P.A. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition* 74(4):418-25.
- Orgogozo, J.M., Dartigues, J.F., Lafont, S., Letenneur, L., Commenges, D., Salamon, R., Renaud S. and Breteler M.B. (1997).** Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Revue Neurologique* 153(3):185-92.
- Palanisamy, U., Cheng H.M., Masilamani, T., Subramaniam, T., Ling, L.T. and Radhakrishnan, A. K. (2008).** Rind of the rambutan, *Nephelium lappaceum*, a potential source of natural antioxidants. *Food Chemistry* 109(1): 54-63.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., DelRio, D., Salvatore, S., Bianchi, M. and Brighenti, F. (2003).** Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition* 133(9):2812-9.
- Pelzer, L., Guardia, T., Juarez A. O. and Guerreiro, E. (1998).** Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. *Farmaco* 53 (6): 421-424.
- Pincemail, J., Lecomte, J., Collart, E., Castiaux, JP. and Defraigne, J.O. (2001).** Stressoxydant, antioxydants et exercice physique. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* 6(5): 1-3.

- Pincemail, J., Degrune, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N. and Defraigne, J.O. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme* 21: 66-75.
- Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G. and Mainland, C.M. (1998).** Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of Vaccinium Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2686-2693.
- Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Le Goff, L.K. and Had-Aissouni, L. (2005).** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 24: 502-509.
- Simin, N., Orcic, D., Cetojevic-Simin, D., Mimica-Dukic, N., Anackov, G., Beara, I., Mitic-Culafic. and Bozin, B. (2013).** Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of small yellow onion (*Allium flavum* L. subsp. flavum, Alliaceae.). *Food Science and Technology* 54: 139-146.
- Singh Brahma, N., Singh, B.R., Singh, R.L., Prakash, D., Singh, D.P, Sarma, B.K., Upadhyay, G. and Singh, H.B. (2009).** Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. *Food and Chemical Toxicology* 47: 1161-1167.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D.H. (2006).** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis* 19(6) : 669-675.
- Thomas, D. (2016).** Les antioxydants de nos jours. *Thèse de Doctorat*, Université de Limoges, 49p.
- Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, Y. (2005).** The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry* 93: 713-718.

Velu, S.S., Buniyamin, I., Ching, L.K., Feroz, F., Noorbacha, I. and Gee, L.C. (2008). Regio- and stereoselective biomimetic synthesis of oligostilbenoid dimers from resveratrol analogues: influence of the solvent, oxidant, and substitution. *Chemistry Weinheim an der Bergstrasse, Germany* 14(36):11376-84.

Yamamura, S., Ozawa, K., Ohtani, K., Kasai, R. and Yamasaki, K. (1998). Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochemistry* 48 (1): 131-136.

Yeh, Y.Y. (1996). Garlic phytochemicals in disease prevention and health promotion: an overview. *New Drug Clinc.* 45:441-450.

Yen, G.C., Duh P.D. and Tsai, H.L. (2002). Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry* 79(3):307-13.

Zhao, X., Iwamoto, T. and Carey, E.E. (2007). Antioxidant capacity of leafy vegetables as affected by high tunnel environment, fertilisation and growth stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 2692-2699.

ملخص

الكرات البري هو من الفصيلة الثومية وينتمي الى النوع *Allium*. منذ العصور القديمة، تم استخدام هذا النبات كخضروات وتوابل وكنبات طبي. الغرض من هذا العمل هو تحديد قيمة الفينولات الاجمالية وتقييم نشاط مضادات الاكسدة للمستخلصات الاسيتونية (25 %) للجزء الاخضر ل *Allium sp*. تم قياس المحتويات الفينولية الكلية باستخدام طريقة فولين-سيوكالتو في حين تم دراسة انشطتها المضادة للاكسدة وذلك بالقيام باختبار نشاط الاكسدة الاجمالي، تحليل الحد من قوة الحديد، تحليل 1،1 ثنائي الفينيل-2-بيكريليهيدر ازيل (DPPH) للكسح الجذري، عملية ازالة معدن ثقيل، محاصرة بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) واختبار تبييض بيتا كاروتين. إجمالي محتوى الفينولات الذي تم تسجيله هو في حدود $1636,84 \pm 20,482$ ملغ. الجزء الاخضر للنبات اظهر نشاط مضاد للاكسدة كلي بقيمة $3047,55 \pm 75,09$ ملغ و عملية الحد من قوة الحديد بقيمة $367,39 \pm 10,91$ ملغ بالإضافة الى ذلك، تقدر قيمة نشاط الكسح الجذري و عملية ازالة معدن ثقيل ب $36,2609 \pm 0,4135$ ملغ و $100,978 \pm 11,741$ ملغ على التوالي. في حين ان نسبة نشاط تثبيط بيروكسيد الهيدروجين ونسبة اختبار تبييض البيتا كاروتين يقدر ب $80,604 \pm 4,82$ % و $71,250 \pm 4,677$ % بالترتيب.

الكلمات الدالة: المركبات الفينولية، مضادات الاكسدة، كرات بري (*Allium sp*).

Résumé

Le poireau sauvage est une alliagée appartenant au genre *Allium*. Depuis l'antiquité, cette plante a été utilisée comme légume, épice et en tant que plante médicinale. Le but du présent travail est de quantifier la teneur des polyphénols totaux et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits acétonique (25%) de la partie verte d'*Allium sp*. La quantification des phénols totaux a été effectuée par la méthode de Folin-Ciocalteu tandis que l'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les tests suivant : l'activité antioxydante totale (TAC), le pouvoir réducteur (FRP), le DPPH, la chélation de fer (FIC), le piégeage d' H_2O_2 et le test du blanchiment de β -carotène. La teneur en polyphénols totaux qui a été enregistrée est de l'ordre de $1636,84 \pm 20,482$ mg EAG /100g MS. La partie verte de la plante étudié a révélé une activité antioxydante totale de l'ordre de $3047,55 \pm 75,09$ mg EAG/100g MS et une activité réductrice de fer de l'ordre de $367,39 \pm 10,91$ mg EAG/100g. En outre, le pouvoir antiradicalaire et l'activité chélatrice de fer des antioxydants contenus dans les extraits est d'une valeur de $36,2609 \pm 0,4135$ mg EAG/100g MS et de $100,978 \pm 11,741$ mg EDTA/100g MS respectivement. Alors que le pourcentage de l'activité inhibitrice de peroxyde d'hydrogène et le test de blanchiment de β -carotène sont estimés à $80,604 \pm 4,82\%$ et à $71,250 \pm 4,677\%$ respectivement.

Mots clés : Composés phénoliques, Activités antioxydantes, Poireau sauvage (*Allium sp*).

Abstract

Wild leek is an allium belonging to the genus *Allium*. Since antiquity, this plant has been used as vegetable, spice and as a medicinal plant. The purpose of the present work is to quantify the content of the total polyphenols and to evaluate the antioxidant activity of the acetonic extracts (25%) of the green part of *Allium sp*. The quantification of total phenols was performed by the Folin-Ciocalteu method while the antioxidant activity was evaluated using total antioxidant activity (TAC), reducing ability (FRP), DPPH, chelation (FIC) test, H_2O_2 trapping and β -carotene bleaching test. The total polyphenol content that has been recorded is of the order of 1636.84 ± 20.482 mg EAG / 100g DM. The green part of the studied plant revealed a total antioxidant activity of the order of 3047.55 ± 75.09 mg EAG / 100g DM and an iron reducing activity of the order of 367.39 ± 10.91 mg EAG / 100 g DM. In addition, the antiradical power and the iron chelating activity of the antioxidants contained in the extracts are 36.2609 ± 0.4135 mg EAG / 100g DM and 100.978 ± 11.741 mg EDTA / 100g DM respectively. While the percentage of hydrogen peroxide inhibitory activity and β -carotene bleaching test are estimated at $80.604 \pm 4.82\%$ and $71.250 \pm 4.677\%$ respectively.

Key words: Phenolic compound, Antioxydant activities, Wild leek (*Allium sp*).