

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université MENTOURI - Constantine  
Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires  
I.N.A.T.A.A.  
Département de Technologie Alimentaire

N° d'ordre :

N° de série :

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**  
**Magister**  
En Sciences Alimentaires  
**Option** : Technologie Alimentaire

## *Thème*

*Etude des activités antioxydante et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune*

Préparé par : M<sup>me</sup> HIMED Hayat Epse IDIR

Membres du jury :

Président: Pr. NAMOUNE H.

Pr. Université Mentouri, Constantine

Encadreur : Dr. BOULEKBACHE L.

M.C.A. Université Abdrahmane Mira, Béjaia

Examineurs: Pr. BARKAT M.

Pr. Université Mentouri, Constantine

Pr. MADANI Kh.

Pr. Université Abdrahmane Mira, Béjaia

Année 2014/2015

## Remerciements

*Je remercie notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage, la volonté et la patience pour mener à terme mon travail.*

*Je remercie exceptionnellement mes parents et toute ma famille pour leur soutien, leurs encouragements et leurs conseils durant toutes mes années d'étude.*

*Le mot « Merci » est bien court pour exprimer ma profonde reconnaissance à mon cher époux, tout d'abord en tant qu'ami et mari pour son soutien moral, son amour, son écoute, ses précieux conseils... et puis surtout merci pour ta bonne cueillette de la plante (Ail triquètre).*

*Mes remerciements les plus vifs s'adressent également aux membres de ma belle famille pour leurs encouragements et leur aide surtout ma belle-mère et mes belles-sœurs (Kahina et Wissam).*

*J'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements au Dr. BOULEKBACHE Lila 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.*

*A mon enseignant et président de jury, Mr. NAMOUNE H., je suis comblée de l'immense honneur que vous me faite en acceptant de présider le jury de ma thèse, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères reconnaissances.*

*Mes remerciements les plus sincères vont également à M<sup>me</sup> BARKAT M. pour avoir accepté de juger ce travail, veuillez accepter Madame, mon respect le plus profond.*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération et mon profond respect au Professeur MADANI Kh., d'avoir accepté de juger ce travail malgré toutes ses responsabilités ; je vous remercie également d'avoir accepté que je réalise quelques manipulations au sein de votre laboratoire 3BS. Veuillez trouver ici mes respectueuses expressions.*

*Un grand merci s'adresse aussi à mon ami SIAR Hocine pour son aide, sa disponibilité, ses encouragements et son amitié.*

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous les techniciens des laboratoires de 3BS, de Technologie Alimentaire, de Physique de l'université de Béjaïa pour leur sympathie, leur sourire et leurs encouragements.*

*Mes sentiments de reconnaissance vont également à tous mes amis pour leurs sympathiques moments partagés ensemble (Awetef, Keltoum, Imane, Rima, Hayat, Zakia, Hanane, Kenza, Aala Edine, Hocine...) et tout le groupe de la promotion TA2011. Je ne peux finir sans remercier chaleureusement ma sœur Hakima et ma cousine Louiza d'avoir mis quelques produits à ma disponibilité.*

*Je remercie enfin, et gracieusement toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# Dédicaces

*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.*

✚ *A l'ombre de mes pas, celui qui m'a tout donné Amour, confiance et sécurité ; il s'agit bien de toi mon cher mari Nassim : Ton soutien indéfectible, ton sourire et ta joie de vivre m'ont été très précieux, merci chéri.*

✚ *A mes chers frères (Mourad, Kamel, Hafou, Karim et Djamel) et chères sœurs (Nadia, Khokha, Lila, Hakou, Bila, Didouche et Fifi) ; merci pour votre amour, soutien et encouragements.*

✚ *A ma chère belle mère et cher beau père, merci pour votre soutien et encouragements surtout Yema El-Khamsa.*

✚ *A mes chers beaux-frères (Zaid, Fahem, Alem, Halim et Mazigh) et mes belles-sœurs (Hassiba, Saida, Kahina et Wissam) ; merci d'être à mes côtés et vos encouragements.*

✚ *A mes neveux (Lyes, Naim, Guili, Aissam, Rayène et Dilane) et mes chères nièces (Amoula, Amouna, Imane ma nounou, Doudou, Sarah, Bouchra, Kamou, Mili, Ahlam et Nesrine) je vous aime tant mes chouchous et chouchoutes.*

✚ *A toute la famille HIMED et surtout la famille de mon cousin Mohand et à toute la famille IDIR.*

✚ *A toutes mes amies (Kaki, Imane, Awatef, Keltoum, Hayette, Rima, Zakia, Hanane....) et mes amis Hocine et Aala.*

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I :</b> Noms vernaculaires de l'ail triquêtre .....	2
<b>Tableau II :</b> Classification d' <i>Allium triquetrum L.</i> de la flore d'Australie et le SAPG.III.....	3
<b>Tableau III :</b> Propriétés biologiques de quelques polyphénols .....	13
<b>Tableau IV :</b> Quelques minéraux présents dans le muscle du poisson .....	23
<b>Tableau V :</b> Teneurs en eau, en cendres et l'activité de l'eau d' <i>Allium triquetrum L.</i> ....	43
<b>Tableau VI :</b> Aspects, couleurs et rendements des extraits d' <i>Allium triquetrum L.</i> ....	45
<b>Tableau VII :</b> Teneur en PPT d' <i>Allium triquetrum L.</i> extraits par macération et par micro-ondes .....	47
<b>Tableau VIII :</b> Teneur en flavonoïdes et flavonols d' <i>Allium triquetrum L.</i> ....	49
<b>Tableau IX :</b> Teneur en tannins d' <i>Allium triquetrum L.</i> extraits par macération et par micro-ondes .....	51

# *Liste des figures et photographies*

## *Les figures*

<b>Figure 1</b> : L'ombelle d' <i>Allium triquetrum</i> L. et les parties de sa fleur .....	6
<b>Figure 2</b> : Structures chimiques des acides phénoliques .....	9
<b>Figure 3</b> : Structure chimique des tannins hydrolysables et des acides associés .....	10
<b>Figure 4</b> : Structure chimique des tanins condensés .....	11
<b>Figure 5</b> : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène .....	15
<b>Figure 6</b> : Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes .....	16
<b>Figure 7</b> : Morphologie externe de <i>Sardina pilchardus</i> .....	19
<b>Figure 8</b> : Photographies des bancs de sardines .....	20
<b>Figure 9</b> : Dégradation <i>Post mortem</i> de l'ATP dans le muscle de poisson .....	25
<b>Figure 10</b> : Sites d'attaque des phospholipases A2 et B .....	26
<b>Figure 11</b> : Cycle d'auto-oxydation d'un lipide insaturé RH .....	28
<b>Figure 12</b> : Représentation schématique des étapes de l'étude réalisée .....	32
<b>Figure 13</b> : Les formes oxydée et réduite du DPPH .....	38
<b>Figure 14</b> : Réaction de condensation du MDA avec l'acide thiobarbiturique .....	41
<b>Figure 15</b> : Pouvoir réducteur des extraits des feuilles et bulbes d' <i>Allium triquetrum</i> L.....	53
<b>Figure 16</b> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH· en fonction des différentes concentrations des extraits d' <i>Allium triquetrum</i> L.....	54
<b>Figure 17</b> : Classement croissant des extraits avec le standard (BHA) selon leur IC50 .....	55
<b>Figure 18</b> : Cinétique de décoloration du $\beta$ -carotène d'extraits des feuilles et bulbes d' <i>Allium triquetrum</i> L.....	55
<b>Figure 19</b> : Activité antioxydante relative d'extraits des feuilles et bulbes d' <i>Allium triquetrum</i> L....	56
<b>Figure 20</b> : Courbes de corrélation établies entre les tests de l'activité antioxydante et les composés phénoliques des différents extraits .....	58
<b>Figure 21</b> : Activité antibactérienne des extraits d' <i>Allium triquetrum</i> L. sur la croissance des souches testées .....	60
<b>Figure 22</b> : effet antioxydant de l'extrait phénolique appliqué sur la sardine durant le stockage .....	61

## ***Les Photographies***

<b><i>Photographie 1</i></b> : Les feuilles et la tige florifère d' <i>Allium triquetrum</i> L.....	5
<b><i>Photographie 2</i></b> : Les bulbes d' <i>Allium triquetrum</i> L.....	5
<b><i>Photographie 3</i></b> : Fruits et graines d' <i>Allium triquetrum</i> L.....	7
<b><i>Photographie 4</i></b> : Bulbes frais et leur poudre correspondante .....	30
<b><i>Photographie 5</i></b> : Feuilles fraîches et leur poudre correspondante .....	30
<b><i>Photographie 6</i></b> : W-mètre .....	33
<b><i>Photographie 7</i></b> : Extraction par macération .....	34
<b><i>Photographie 8</i></b> : Extraction par micro-ondes et le lyophilisateur utilisé .....	35
<b><i>Photographie 9</i></b> : Echantillons de sardine utilisés pour la méthode des TBARS .....	41

## *Liste des abréviations*

Abs : Absorbance

ANOVA : Analysis of variance

ATCC : American Type Culture Collection

BHA : Butyl Hydroxy Anisole

BSA : Bovine sérum albumine

DPP H<sup>\*</sup> : Radical 2,2 diphényl picryl-1-hydrazyl

EAG : Equivalent en acide gallique

EAT : Equivalent en acide tannique

EQ : Equivalent en quercétine

FA/BA : Extrait acétonique des feuilles ou des bulbes

FE/BE : Extrait éthanolique des feuilles ou des bulbes

FM/BM : Extrait méthanolique des feuilles ou des bulbes

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

IC50 : Concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH

MDA : Malondialdéhyde

PPT : Polyphénols totaux

PR : Pouvoir réducteur

PS : Poids sec

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

SDS : Sulfate dodécyl de Sodium

TBA : Thiobarbituric acid

TBARS : Thiobarbituric acid réactive substances

TCA : Trichloracétique

TEA : Triéthanolamine

UFC : Unité Formant Colonies

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**Introduction .....1**

*Synthèse bibliographique*

**Chapitre I : La plante *Allium triquetrum* L.**

1. Origine et habitat .....	2
2. Taxonomie .....	2
2.1. Appellations .....	2
2.2. Classification et utilisations.....	3
3. Description botanique.....	4
3.1. Feuilles et tige florifère.....	4
3.2. Bulbes.....	5
3.3. Inflorescences et fleurs.....	6
3.4. Fruits et graines.....	7

**Chapitre II : Les composés phénoliques**

1. Introduction.....	8
2. Classification des composés phénoliques.....	8
2.1. Les acides phénoliques.....	8
2.2. Les flavonoïdes.....	9
2.3. Les tannins.....	10
3. Rôles et intérêts des composés phénoliques.....	12
3.1. Chez les végétaux.....	12
3.2. Chez l'Homme.....	12
3.3. Dans l'industrie.....	14
3.4. Activité antimicrobienne des polyphénols.....	17

**Chapitre III : La sardine commune**

1. Généralités sur la sardine.....	19
1.1. Position systématique et morphologique.....	19

1.2. Biologie.....	19
2. Composition de la chair.....	20
2.1.Principaux composés.....	20
2.2. La microflore du muscle.....	23
3. Altération du poisson .....	24
3.1. Autolyse et protéolyse.....	24
3.2. Hydrolyse et oxydation des lipides.....	26
4. Prévention de l'altération du poisson.....	28

Partie pratique

**Chapitre I : Matériel et méthodes**

1. Matériel végétal.....	30
2. Matériel animal.....	31
3. Méthodes.....	33
3.1. Détermination du taux d'humidité, de l'activité de l'eau et la teneur en cendres..	33
3.2. Préparation des extraits .....	34
3.3. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	35
3.4. Activités biologiques des extraits.....	37
3.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	37
3.4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	39
3.5. Inhibition de la peroxydation lipidique de la sardine (méthode des TBARS).....	40
4. Analyse statistique.....	42

**Chapitre II : Résultats et discussion**

1. Taux d'humidité, activité de l'eau et la teneur en cendres .....	43
2. Rendement en extraits et leurs teneurs en composés phénoliques.....	44
3. Activités biologiques des extraits .....	52
3.1. Activité antioxydante .....	52
3.1.1. Pouvoir réducteur (FRAP) .....	52
3.1.2. Test au DPPH' .....	54
3.1.3. Blanchissement du $\beta$ -carotène.....	55
3.2. Activité antimicrobienne.....	59
4. Activité antioxydante de l'extrait phénolique appliqué sur la sardine.....	61

**Conclusion .....62**

*Références bibliographiques*

*Annexes*

*Glossaire*

*Résumé*

# *Introduction*

Le poisson et ses produits dérivés jouent un rôle considérable dans notre alimentation. C'est une denrée alimentaire de haute valeur nutritive mais très périssable.

Les reproches les plus souvent formulés à leur égard concernent un éventuel manque de fraîcheur et de qualité. En effet, ces produits de la pêche sont aussi connus par leur grande susceptibilité à la dégradation enzymatique, microbiologique et organoleptique liée à la structure protéique et lipidique du muscle (Jeantet et *al.*, 2006 ; El-Atyqy, 2010). Ceci entraîne l'apparition d'inconvénients majeurs d'ordre hygiénique, toxicologique et économique.

Afin de limiter les diverses altérations du poisson et vue la demande accrue du consommateur pour des produits "naturels", l'incorporation de substances bioactives a été envisagée par les industriels.

Au sein de ces substances bioactives, les polyphénols en constituent un vaste sujet de recherches qui intéressent non seulement le chimiste, mais aussi les industries agroalimentaires (IAA) par leur implication sur la flaveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Notre recherche sera, donc, focalisée sur les composés phénoliques de l'ail triquêtre "*Allium triquetrum L.*" extraits par deux méthodes à savoir la méthode de macération dite conventionnelle et la méthode aux micro-ondes dite innovante. Une étude comparative sur les propriétés antioxydante et antibactérienne des différents extraits phénoliques obtenus sera rapportée afin de choisir les composés les plus efficaces et de tenter d'analyser leur rôle éventuel dans les processus de conservation de la sardine commune.

Il s'agira, dans un premier temps, d'une proposition d'une synthèse bibliographique visant à apporter des connaissances générales sur la plante "Ail triquêtre", les composés phénoliques et la sardine commune.

L'ensemble des matériel et méthodes utilisés dans cette étude sera ensuite décrit. Puis les principaux résultats seront présentés et discutés.

Enfin une conclusion générale synthétisant le travail et ses perspectives est proposée.

*Synthèse*  
*Bibliographique*

# *Chapitre I :*

*La plante Allium triquetrum L.*

## Chapitre I : La plante *Allium triquetrum* L.

### 1. Origine et habitat

La plante 'Ail triquètre' a été décrite et dénommée par Carl Linnaeus en 1750. Selon Peloté (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 îles britanniques, la Normandie et en 1909, au sud d'Australie (Cuthbertson, 1992). En Algérie, elle est surtout commune au Tell et assez rare à l'Ouest (Quezel et 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-sableux, limono-graveleux ou argilo-sableux. Cette espèce est indicatrice des zones humides et elle supporte des températures jusqu'à -12°C (Quezel et Santa, 1963 ; Baba Aissa 1999 ; Peloté, 2008 ; Bock, 2013).

### 2. Taxonomie

#### 2.1.Appellations

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

**Tableau I** : Noms vernaculaires de l'ail triquètre (Baba Aissa, 1999 ; Corea & al., 2003, Deroeck, 2014).

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

## 2.2. Classification et utilisations

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

**Tableau II** : Classification d'*Allium triquetrum* L. de la flore d'Australie et le SAPG.III.

---

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

---

L'ail triquètre peut être identifié particulièrement selon : la forme triangulaire des feuilles et de la tige-fleur, les fleurs à pétales blancs avec une fine ligne centrale verte ainsi que son odeur caractéristique de l'ail.

Les Alliacées forment une grande famille de plantes monocotylédones ; souvent bulbeuses, parfois tubéreuses ; ayant généralement des fleurs supères en ombelle, à 6 étamines, le fruit est une capsule ou une baie. Elle englobe 600 espèces réparties en 30 genres riches en composés soufrés volatils, leur donnant une odeur caractéristique (Corea et *al.*, 2003 ; Dugravot, 2004).

*Allium* L. est le plus large et le plus important genre de cette famille ; il renferme 450 espèces largement distribuées dans l'hémisphère nord. Ce genre est riche en espèces d'usage alimentaire telles que : l'ail cultivé (*Allium sativum*), l'ail rocambole (*Allium Scorodoprasum*), l'oignon (*Allium Cepa*), l'échalote (*Allium ascalonicum*), la ciboule (*Allium fistulosum*), la ciboulette (*Allium Schoenoprasum*) et le poireau (*Allium Porrum*). Mais on connaît aussi des espèces sauvages dont certaines ont des vertus médicinales tels que l'*Allium ursinum* et l'*Allium roseum* L. et d'autres ayant été utilisées pour des motifs culinaires et ornementaux tel que l'ail triquètre (*Allium triquetrum* L.) (Corea et *al.*, 2003 ; Dugravot, 2004 ; Lanzotti, 2006 ; Najjaa et *al.*, 2011 ; Zouari et *al.*, 2013). Selon Corea et *al.* (2003) ; ce dernier est utilisé en Italie comme ingrédient principal dans les salades, les soupes et les tourtes. En Kabylie, 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 (Baba Aissa, 1999). Le jus de l'ail triquètre est utilisé comme insectifuge et il possède des propriétés antiseptiques propres à toutes les espèces du genre *Allium*. Selon la botaniste Françoise Deroeck (2014), cette plante a des vertus antiseptique, bactéricide, dépurative, diurétique, hypotensif et stimulant.

### 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 (Quezel et Santa, 1963 ; Baba Aissa, 1999 ; Blood, 2001 ; DPI, 2008 ; Bock, 2013 et Deroeck, 2014).

#### 3.1. Feuilles et tige florifère

*Allium triquetrum* L. est une plante 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 (Photographie 1). 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.



*Photographie 1 : Les feuilles et la tige florifère d'Allium triquetrum L.*

### **3.2. Bulbes**

Les bulbes et les bulbilles sont généralement ovoïdes, blanc-crèmes avec une odeur forte d'ail (Photographie 2).



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

Le bulbe est un organe de stockage souterrain lorsque le feuillage meurt. Ils forment la jeune plante de la prochaine saison de croissance. Avant sa croissance, l'ail triquètre 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.

### 3.3. Inflorescences et fleurs

Les fleurs d'*Allium triquetrum* sont campanulées (en clochette) et pendulaires. 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 actinomorphes et le gynécée (pistil) comprend un ovaire supère à trois loges, un style court et un stigmate divisé en trois. L'ovaire a 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 sont encore fermées. L'androcée est composé de six étamines, soudées 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 l'anthèse puis pliées vers le bas ; les étamines sont plus longues que le style.



**Figure 1** : L'ombelle d'*Allium triquetrum* L. et les parties de sa fleur

L'ail triquètre 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.

### 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 généralement en nombre de six par capsule, noires et ovoïdes. Les graines ont une courte durée de vie (1an) et chaque plante peut produire jusqu'à 50 graines par saison (Blood, 2001).



*Photographie 3* : Fruits et graines d'*Allium triquetrum* L.

La propagation d'*Allium triquetrum* se fait par voie végétative des bulbes et semences ; la dispersion 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).

## *Chapitre II :*

*Les composés phénoliques*

## Chapitre II : Les composés phénoliques

### 1. Introduction

Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles: les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Marouf et Reynaud , 2007).

L'expression de "composés phénoliques" ou "polyphénols" est utilisée pour toute substance chimique possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés sont différents les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique (Ribereau, 1968 ; Lugasi *et al.*, 2003). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits (Peronny, 2005).

### 2. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (Lugasi *et al.*, 2003).

Selon leurs caractéristiques structurales, les polyphénols se répartissent dans différentes familles : anthocyanes, coumarines, flavonoïdes, lignanes, tanins, acides phénols, xanthones... Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse molaire peut atteindre 9000 KDa (Monpon *et al.*, 2009).

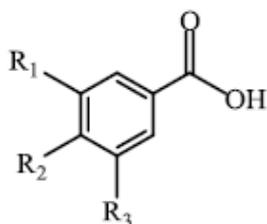
Dans l'annexe n°1 sont données les principales classes de composés phénoliques.

#### 2.1. Les 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 d'acide benzoïque et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) dérivés d'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont les plus fréquents ; la teneur en acides hydroxybenzoïques dans les plantes est très faible, sauf exception de certains fruits rouges, le radis noir et les oignons qui peuvent contenir jusqu'à plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de poids frais (Shahidi et Naczka, 2004).

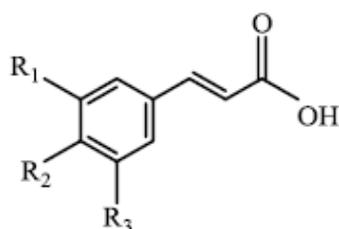
Ces composés ont été trouvés dans les différentes parties des espèces du genre *Allium* tels que : l'acide protocatéchique, l'acide gallique, l'acide cinnamique, l'acide p-coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique (Singh *et al.*, 2009 ; Simin *et al.*, 2013).

**Acides hydroxybenzoïques**



$R_1=R_2=R_3=H$  : acide benzoïque (non phénolique)  
 $R_1=R_3=H, R_2=OH$  : acide *p*-hydroxybenzoïque  
 $R_1=R_2=OH, R_3=H$  : acide protocatéchuique  
 $R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=H$  : acide vanillique  
 $R_1=R_2=R_3=OH$  : acide gallique

**Acides hydroxycinnamiques**



$R_1=R_2=R_3=H$  : acide cinnamique (non phénolique)  
 $R_1=R_3=H, R_2=OH$  : acide *p*-coumarique  
 $R_1=R_2=OH, R_3=H$  : acide caféique  
 $R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=H$  : acide férulique  
 $R_1=R_3=OCH_3, R_2=OH$  : acide sinapique

**Figure 2** : Structures chimiques des acides phénoliques (Fleuriet et al., 2005).

**2.2. Les flavonoïdes**

L'ensemble des flavonoïdes possède un élément structural de base en C15 (C6-C3-C6 ou 2-phénylchromane) (Ribereau, 1968). Selon le degré d'oxydation du noyau central, les flavonoïdes peuvent-être regroupés en classes distinctes: flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, flavanols et anthocyanes. Dans la plante, ils sont très souvent liés avec des sucres, on parle alors d'hétérosides constitués d'une partie phénolique aglycone ou génine associée à un sucre. La liaison glycosidique pouvant être de type C-O-C ou de type C-C (Michel, 2011).

Les **flavonols** sont les plus répandus dans les aliments et leurs principaux représentants sont la quercétine et le kaempférol. Les **flavones** sont beaucoup moins communs que les flavonols et ils consistent principalement en glycosides de lutéoline et d'apigénine. Les **anthocyanes** existent sous différentes formes chimiques, colorées ou incolores en fonction du pH. De ce fait, ils sont considérés comme des pigments de fleurs et de fruits, auxquels ils donnent des couleurs allant du bleu-violet au rouge en passant par l'orange et le jaune. Les **flavanones** (naringénine), les **isoflavones** et les **flavanols** (catéchine) ainsi que les dihydroflavonols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte (Havsteen, 2002 ; Macheix et al., 2006).

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).

En Annexe n°2 sont représentées les différentes structures chimiques des flavonoïdes.

### 2.3. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux. Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Deux classes sont distinguées : tanins hydrolysables et tanins condensés :

- **Tanins hydrolysables** : ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifiée par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acides ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique. Ce groupe de tanins est caractéristique des dicotylédones. En raison de leurs nombreux groupements OH, ils se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales.

Ce groupe de tanins est constitué d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons C-C entre noyaux (liaisons biphenyle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques (Biaye, 2002 ; Nsemi Muanda, 2010).

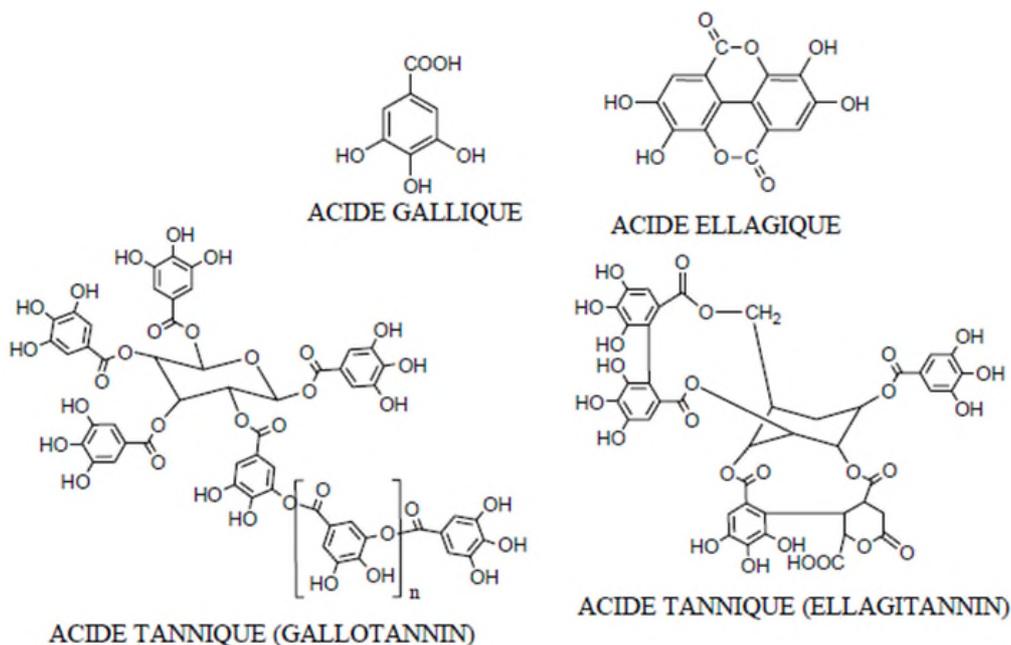
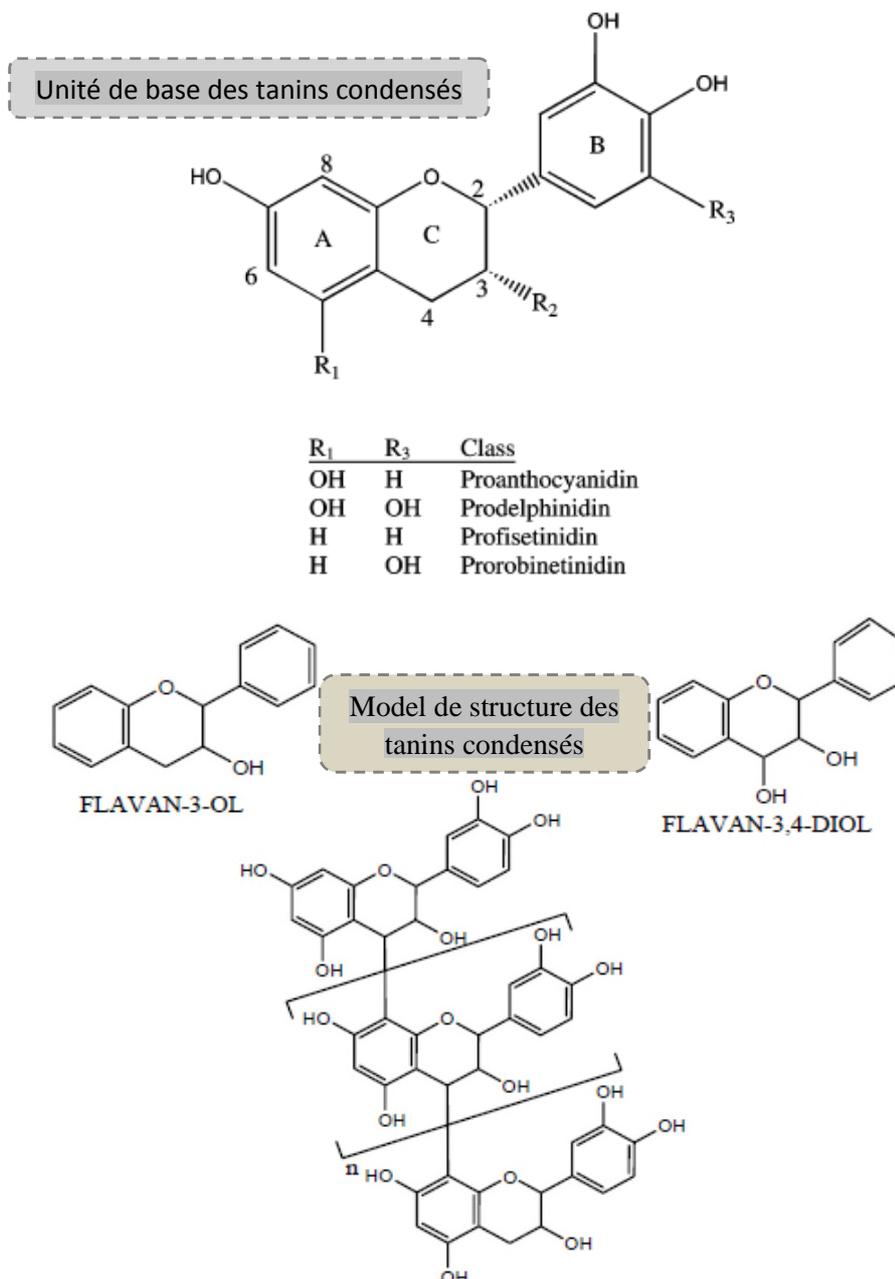


Figure 3 : Structure chimique des tannins hydrolysables et des acides associés (Peronny, 2005).

• **Tanins condensés** : appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, ils sont des produits de polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). Ils sont aussi désignés sous le nom de “tanins catéchiques” et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides.

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétriques C2 et C3 et par le niveau d'hydroxylation du noyau B (*Figure n°4* ). On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées) (Schofeild *et al.*, 2001; Biaye, 2002 ; Nsemi Muanda, 2010).



**Figure 4** : Structure chimique des tanins condensés (Schofeild *et al.*, 2001 et Peronny, 2005)

### **3. Rôles et intérêts des composés phénoliques**

Les composés phénoliques possèdent un ensemble de propriétés importantes. Leur étude devient de plus en plus un outil dans des recherches de physiologie, de biologie, de botanique et également de technologie alimentaire.

#### **3.1. Chez les végétaux**

Selon certains auteurs (Fleuriet et al., 2005; Boutour, 2011), les composés phénoliques peuvent intervenir dans:

- Les aspects de la physiologie des plantes (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...);
- Les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV). Soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux;
- Les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent le choix de l'homme dans la consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent de leur transformation;
- Les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini.

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment celle des fleurs : comme les anthocyanes qui constituent un groupe de pigments responsables de la couleur rouge, bleue ou violette de très nombreuses fleurs ou feuilles. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant ainsi une étape fondamentale de sa reproduction. Il est également à noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Certains d'entre eux jouent un rôle de phytoalexines. D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne (Maillard, 1996 ; Hadi, 2004).

#### **3.2. Chez l'Homme**

Le rôle des composés phénoliques est largement démontré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet et al., 2005). Plusieurs propriétés sont attribuées aux

flavonoïdes: veinotonique, antitumorale, antiradicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne et hépatoprotectrice.

Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent les artères contre l'athérosclérose et réduisent la thrombose (Cruz et al., 2001 ; Mikkoen et al., 2001).

Des exemples d'activités biologiques de quelques composés phénoliques sont récapitulés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau III** : Propriétés biologiques de quelques polyphénols

<i>Polyphénols</i>	<i>Activités biologiques</i>	<i>Références</i>
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactérienne, antiseptique, antiparasitaire, antioxydante, antifongique.	Ribereau, 1964 ; Didry et al., 1982 ; Hayase et Kato, 1984 ; Ravn et al., 1984 Sannomiya et al., 2005 ; Gurbuz et al., 2009
Coumarines	Anti-inflammatoire, analgésique, antiparasitaire.	Ito et al., 2005 ; Smyth et al., 2009
Flavonoïdes	Antioxydante, anti- inflammatoire, analgésique, antiparasitaire, anti- carcinogène, antibactérienne, diurétique.	Aruoma et al., 1995 ; Wollgast et al., 2000 ; Tripoli et al., 2007; Hitara et al. 2009
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydante, antihémorragique.	Okuda et al., 1983, Okamura et al., 1993, Kubata et al., 2005

### 3.3. Dans l'industrie

Certains composés phénoliques sont impliqués dans les qualités organoleptiques des produits, d'où l'amertume particulièrement forte de certains aliments.

Substances amères, astringentes ou sucrées, les polyphénols sont des aromatisants de choix (tanins, vanilline, anisaldéhyde...). L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols (Lugasi et al., 2003). Selon Peronny (2005), l'astringence est liée à la polymérisation des tanins puisque la diminution de l'astringence dans les fruits lors de leur maturation est due à une augmentation de la polymérisation des tanins.

Dans l'industrie des colorants, on trouve le E163 qui représente les anthocyanes, utilisés comme colorant alimentaire, ils apportent des teintes allant du rouge violacé au rouge cerise et sont utilisables dans une gamme de pH allant de 3.5 à 5.5 (Degenhardt et al., 2000).

#### 3.3.1. Dans l'industrie des antioxydants

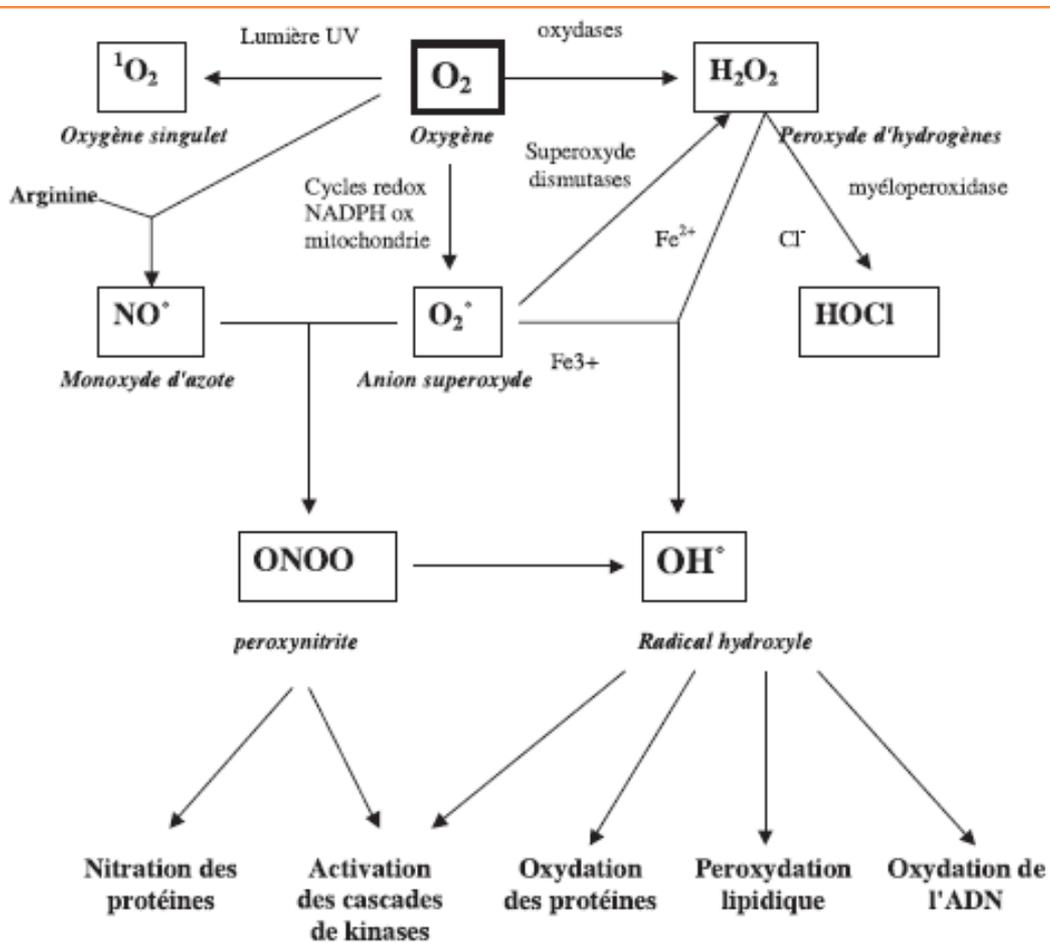
L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies, mais il peut également être leur source d'agression. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes et de métaux de transition (Ekoumou, 2003). Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène singulet  $O_2^1$ , le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , les peroxydes alkyles ROOH, le radical superoxyde  $O_2^-$ , les radicaux hydroxyles HO, peroxydes ROO et alkoxyles RO (Edmond, 2007).

#### A) Mécanismes d'action des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire, ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme à l'état physiologique et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygène, hydroxyde et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques.

L'organisme réagit contre ces radicaux grâce aux enzymes antioxydantes contenues dans les cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action antiradicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium (Edmond, 2007). Si ces systèmes de défense sont débordés ou insuffisants, les radicaux libres deviennent nuisibles: ils s'attaquent aux membranes cellulaires en dénaturant leurs acides gras insaturés (modification de leur structure); ils agressent les protéines, les microfibrilles de collagène, l'acide hyaluronique, les

acides nucléiques des chromosomes; l'ADN sera endommagé d'où l'apparition d'une série d'anomalies dont le risque de cancérisation (Favier, 2003 ; Edmond, 2007).



**Figure 5** : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

## B) Les polyphénols comme antioxydants

Les polyphénols peuvent agir selon divers mécanismes d'activité antioxydante qui sont :

- 🚧 Le piégeage direct des EOR (espèces oxygénées réactives) ;
- 🚧 L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR;
- 🚧 La protection des systèmes de défense antioxydants.

Cela est étroitement lié aux propriétés structurales des composés phénoliques, à savoir le nombre et la position des groupements hydroxyls et le degré de méthylation, de glycosylation et de polymérisation (Hennebelle et *al.*, 2004 ; García et *al.*, 2009). Selon Marcheix et *al.*

(2005), l'activité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le degré de polymérisation et diminue avec le degré de méthylation et de glycosylation au niveau des groupements hydroxyles.

### B.1. Chélation des métaux

Les ions du fer ou du cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, les ions du fer pour la catalase, et ceux du cuivre pour le superoxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton :



Complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante. Les composés phénoliques en chélatant les ions métalliques, forment des complexes de coordination avec ces métaux, en occupant tous les emplacements et peuvent ainsi convertir les ions en complexes insolubles, empêchant leurs interactions avec les intermédiaires lipidiques (Lee et *al.*, 2004).

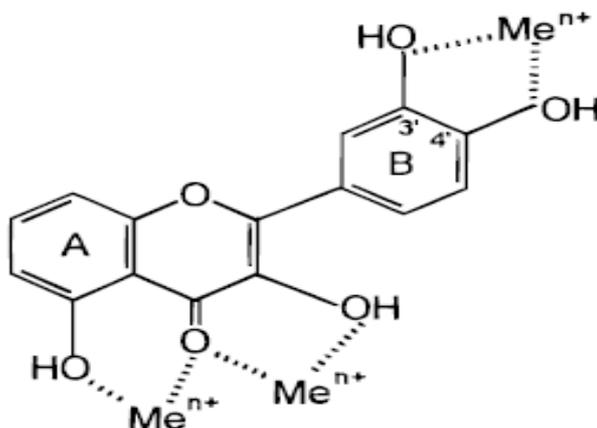


Figure 6 : Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes (Pietta, 2000).

### B.2. Piégeage des radicaux libres

Les composés phénoliques sont des piègeurs efficaces de radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif (Ghedira, 2005) :



Les flavonoïdes préviennent la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux libres. Cela est dû à leur susceptibilité d'arracher un hydrogène sur le groupement CH<sub>2</sub> situé entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés et protéger ainsi les membranes cellulaires (Lahouel *et al.*, 2004 ; Jeantet *et al.*, 2006).

### B.3. Inhibition enzymatique

Les polyphénols interagissent avec certaines protéines (protéases et carbonhydrolases) et inhibent l'activité des enzymes:

- ✓ soit en se fixant sur les sites actifs de reconnaissance de substrat (Shan *et al.*, 2007) ;
- ✓ soit en se liant aux molécules substrats; rendant ainsi ces dernières moins accessibles aux enzymes en les insolubilisant ou en masquant les sites de reconnaissance enzyme-substrat (Leinmuller *et al.*, 1991).

Dans le cas de la xanthine oxydase (enzyme considérée comme source biologique importante du radical superoxyde), plusieurs auteurs (Shi *et al.*, 2001 ; Da silva *et al.*, 2004; Morelle-Lauzanne, 2006) ont montré que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de cette enzyme et ont établi les relations entre la structure chimique des flavonoïdes et leur capacité d'inhiber la formation de superoxyde par inhibition de cette enzyme (formation de complexes enzyme-inhibiteur) et/ou par réduction du superoxyde produit.

### 3.4. Activité antimicrobienne des polyphénols

De nombreux composés phénoliques purifiés de différentes plantes; hydroxycoumarines, dérivés de l'acide hydroxycinnamique, flavonoïdes (épipigallocatechine, catechine, myricetine, quercetine), proanthocyanidines (tanins condensés), hydroxystilbenes..., ont été exploités pour leur activité antimicrobienne et leur lutte contre un grand nombre de bactéries pathogènes (Hatano *et al.*, 2005 ; Shan *et al.*, 2007).

La quercétine et la naringénine sont rapportés être des inhibiteurs de *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus nervous*, *Staphylococcus epidermis* et *Saccharomyces cerevisiae* (Sandhar *et al.*, 2011).

#### 3.4.1. Mécanismes d'action des composés phénoliques sur les bactéries

Les composés phénoliques sont dotés d'un pouvoir antimicrobien et détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et/ou en perturbant leur métabolisme et par conséquent leurs fonctions (Karou *et al.*, 2005; Rodriguer-Vaquero *et al.*, 2007).

Les flavonoïdes se complexent avec les composants des parois cellulaires (Tim Cushnie et Lamb 2005), ils possèdent une activité bactériostatique et bactéricide en perturbant les métabolismes énergétiques (Tim Cushnie et Lamb 2005 ; Shan et *al.*, 2007).

#### **3.4.1.1. Action sur la membrane cellulaire**

Il a été rapporté que le principal site d'action des composés phénoliques était la membrane cytoplasmique. Les polyphénols pénètrent dans la cellule bactérienne et inactivent les perméases du périplasme qui sont impliquées dans le transport des aminoacides et des polysaccharides. Cela entraîne une modification de la perméabilité cellulaire, avec une lyse de la cellule bactérienne suivi d'une perte de ses constituants (Karou et *al.*, 2005 ; Saidana et *al.*, 2008 ; Daglia, 2011).

#### **3.4.1.2. Privation des métaux**

Les composés phénoliques, par la formation du complexe ion métallique-composé phénolique, ont une action directe sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne tels que le Fer, le Zinc et le Phosphore (Tim Cushnie et Lamb 2005 ; Shan et *al.*, 2007 ; Daglia, 2011). Ces micronutriments sont essentiels pour les micro-organismes car: la réduction du Phosphore, constituant des acides nucléiques, peut engendrer une réduction de la teneur en ARN et ADN de la bactérie ; le Fer et le Cuivre, cofacteurs et activateurs enzymatiques, jouent un rôle très important dans le maintien de l'équilibre physicochimique de la bactérie (Ribéreaux-Gayon, 1968 ; Meyer et *al.*, 1999).

## *Chapitre III :*

*La sardine commune*

## Chapitre II : La sardine commune

### 1. Généralités sur la sardine

#### 1.1. Position systématique et morphologique

Les espèces les plus communes correspondent aux genres *Sardina* et *Sardinops* qui, avec les genres *Engraulis* (Anchois), *Scomber* (Maquereaux) et *Trachurus* (Chinchards), constituent le groupe des petits pélagiques qui dominent les eaux tempérées et subtropicales (Lavoué et al., 2007 ; Kurc, 2009).

Selon Letaconnoux (1954), il existerait deux sous espèces de *Sardina pilchardus* : *Sardina pilchardus pilchardus* en Atlantique et *Sardina pilchardus sardina* en Méditerranée.

La systématique de *Sardina pilchardus* est la suivante :

Embranchement	Vertébrés
Classe	Ostéichtyens (Poissons osseux)
Sous-classe	Actinoptérygiens
Ordre	Clupéiforme
Classe	Clupéidés
Famille	Clupéidés
Genre	<i>Sardina</i>
Espèce	<i>Sardina pilchardus</i>



**Figure 7 :** Morphologie externe de *Sardina pilchardus*

La sardine présente un corps fuselé (élancé), de section ovale avec des écailles lisses et caduques, le ventre bien blanc et le dos vert olivâtre avec une bande longitudinale bleue (Monfort, 2008).

#### 1.2. Biologie

La croissance de la sardine varie selon les groupes (populations) et les zones. Sa taille commune est de 9 à 20 cm avec un maximum pouvant atteindre 27 cm, dont 90% est atteint durant la première année de son cycle. La croissance durant les années qui suivent est

beaucoup plus faible malgré sa longévité qui peut aller jusqu'à 14 ans (Letaconnoux, 1954 ; Furnestin, 2007; MPO, 2013).

La sardine atteint sa maturité sexuelle durant les deux premières années de sa vie. La croissance et la maturité sexuelle présentent de larges variations tout au long de son aire de répartition (FAO, 2001). La sardine pond principalement en Septembre-Juin sur les côtes Atlantique et Méditerranéenne; en Octobre-Juin sur les côtes Africaines (Amenzoui, 2006). La ponte est fortement dépendante des facteurs environnementaux tels que la température et l'hydrodynamisme (Olivar et *al.*, 2001), elle s'effectue à 12-18°C et se prolonge sur la majeure partie du plateau continental (Coombs et *al.*, 2006; Bernal et *al.*, 2007).

La sardine est une espèce grégaire et forme de grands bancs près des côtes, aux alentours de 50 m, en journée, et remonte entre 15 et 35 m la nuit.



*Figure 8* : Photographies des bancs de sardines

La sardine se nourrit de phytoplanctons (algues) et de zooplanctons, principalement de Copépodes (crustacés) avec une importance relative de ces proies selon le secteur et la saison (Garrido et *al.*, 2006 ; Furnestin, 2007 ).

## **2. Composition de la chair**

### **2.1. Principaux composés**

La chair des poissons se différencie de celle des autres animaux par l'organisation structurale des muscles qui la constituent et par ses composants. La composition biochimique de la chair de poisson se rapproche de celle du muscle de viande des animaux terrestres, en particulier, en ce qui concerne les teneurs en protéines, en sucres et minéraux. Il est cependant important de mentionner que ce rapprochement entre les protéines des animaux terrestres et aquatiques n'est valable que quantitativement. Par ailleurs, la plupart des espèces de poissons partagent des caractéristiques communes : des protéines de haute valeur biologique dont la teneur est

comparable à celle des autres produits carnés, une richesse exceptionnelle en acides gras longs polyinsaturés de la série n-3, des minéraux, des oligoéléments et des vitamines.

De nombreux facteurs conditionnent la variabilité de la composition chimique de la sardine tels que : l'âge, le comportement migratoire, l'état de la mer (tempête/beau temps), les conditions d'alimentation, facteurs du milieu océanique, dont le plus important la température, qui commandent la distribution du plancton (Furnestin, 2007).

- **Les lipides** présents chez les espèces de poissons sont sous deux formes : lipides structuraux (lipides polaires ou membranaires, phospholipides) et lipides de réserve (triglycérides, graisses de réserve). Les phospholipides sont des composants majeurs des membranes cellulaires, leur teneur et leur composition sont relativement constantes. Ces lipides représentent moins de 1% du poids du muscle (Aursand et *al.*, 1994), ils permettent de maintenir l'équilibre entre les échanges externes et internes de la cellule et d'assurer la fluidité membranaire même à basses températures; cela grâce à leur richesse (60%) en acides gras polyinsaturés à longues chaînes tels que l'acide eicosapentaénoïque (20:5 n-3) et l'acide docosahéxaénoïque (22:6 n-3) (Henderson et Tocher, 1987). Les triglycérides sont des graisses de dépôt du tissu adipeux blanc utilisées pour l'entreposage d'énergie (Fauconneau et *al.*, 1990) ; ils sont caractérisés par une proportion élevée d'acides gras polyinsaturés de la série n-3. Gandemer et *al.* (1990) rapportent que la teneur de la chair de poisson en ces acides gras oscille entre 15 à 36%, chez la sardine elle est de 43% (Bandarra et *al.*, 1997).

Chez le poisson, il existe plusieurs sites de dépôts lipidiques dont les principaux sont le foie, le muscle, le tissu adipeux périveriscéral et le tissu adipeux sous cutané (Fauconneau, 1990). La répartition entre les différents sites de dépôt varie selon les espèces, cette différence dans les sites de stockage et dans les teneurs en lipides représente un critère pratique de distinction des poissons. Ainsi, les poissons sont dits: "maigres" pour ceux qui réservent l'énergie dans leur foie ; "plats" à teneur en lipides intermédiaire pour ceux qui accumulent leurs graisses dans le foie mais aussi dans leurs muscles et d'autres tissus tels que le tissu adipeux périveriscéral et "gras" pour les poissons dont les lipides sont répartis dans leurs muscles.

Chez les poissons gras, la teneur de graisse fluctue considérablement d'une saison à l'autre, en fonction du cycle sexuel ; par exemple de 1 à 20% chez la sardine; chez les poissons maigres la teneur en lipides est inférieure à 5% (Cheftel et Cheftel, 1984).

Selon Furnestin (2007), la teneur en graisse de la sardine augmente d'une façon continue à partir du mois d'Avril. Elle atteint son maximum en Automne, se maintient à un taux élevé jusqu'à Décembre-Janvier, puis diminue fortement à la fin de l'hiver, elle est extrêmement

faible en Mars. A partir du mois d'Avril suivant un nouveau cycle d'engraissement commence.

- **L'eau** peut constituer 66–79 % du poids total de la chair de la sardine (Furnestin, 2007). Cette teneur reste stationnaire et le gain du poids supplémentaire qu'elle réalise est surtout dû à l'accumulation de matières grasses dans les tissus et la cavité viscérale.

- **Les protéines** du poisson se distinguent de celles des animaux terrestres par une forte teneur en protéines solubles. Comme le soulignent Haard (1992) et Kaushik (1997), la chair des poissons est nettement plus pauvre en protéines insolubles (3 à 10%) par rapport à la viande bovine (16 à 28%) et plus riche en protéines myofibrillaires (70 à 90%). La teneur en collagène (protéine insoluble du tissu conjonctif) est en très faible quantité chez le poisson. Le taux d'hydroxyproline est en général plus bas chez les poissons que chez les mammifères, il a été observé une variation totale de 4,7 à 10% du collagène (Sato *et al.*, 1991). Cette composition particulière rend les protéines de la chair des poissons facilement digestibles.

La chair du poisson est, en outre, riche en protéines de haute valeur biologique à un taux relativement élevé (15 à 24%), ces dernières renferment tous les acides aminés essentiels (Toliara, 1997).

Contrairement aux lipides, la teneur et la composition des protéines ne sont pas affectées d'une façon notable par l'âge des animaux et leur alimentation.

- La fraction en **extraits azotés** ou en **ANP** (Azote non protéique) constitue 9 à 18% de l'azote dans les téléostéens (Huss, 1999). Les composants principaux de cette fraction sont: des bases volatiles telles que l'ammoniaque et l'oxyde de triméthylamine (OTMA), la créatine, les acides aminés libres, les bases nucléotides et bases puriques. La chair du poisson contient davantage d'acides aminés libres que les autres produits carnés; contribuant, ainsi, dans la régulation de la pression osmotique.

- La teneur en **carbohydrates** du muscle de poisson est très faible, habituellement inférieure à 0,5% et ils se présentent sous forme de glycogène (Huss, 1999).

- Le contenu en **vitamines** de la chair des poissons est très variable selon l'espèce, la saison et l'habitat, mais, comme pour les lipides, le facteur majeur est l'apport alimentaire (Huss, 1999). La chair du poisson est une bonne source de vitamines B et également, dans le cas des espèces grasses, de vitamines A et D (Lall et Parazo, 1995).

- Les poissons apportent aux consommateurs des quantités appréciables d'**éléments minéraux** tels que le Potassium, le Calcium et le Phosphore en particulier mais également de

Fer, de Cuivre et de Sélénium. Les poissons d'eau de mer ont une forte teneur en Iode. Il faut noter que la teneur en Sodium dans la chair du poisson est relativement basse, ce qui le rend compatible avec un régime hyposodé.

Le tableau suivant donne la teneur en quelques éléments minéraux du muscle du poisson.

**Tableau IV :** Quelques minéraux présents dans le muscle du poisson (Murray et Brut, 1969)

Elément	Moyenne (mg/100g)	Intervalle (mg/ 100g)
<b>Sodium</b>	72	30-134
<b>Potassium</b>	278	19-502
<b>Calcium</b>	79	19-881
<b>Magnésium</b>	38	4,5-452
<b>Phosphore</b>	190	68-550

## 2.2. La microflore du muscle

Dans son milieu naturel, le poisson vit en symbiose ou en parasite avec les microorganismes ; normalement, la chair du poisson est stérile (Guiraud, 1998). La microflore est constituée de bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *flavobacterium*, *Serrattia*, *Sarcina*, *Proteus*, *Escherichia* etc... Ces bactéries se rencontrent sur toutes les surfaces externes (peau et branchies) et dans les intestins. Les chiffres ont été estimés à  $10^3/10^9$  germes/g sur les branchies;  $10^3/10^9$  germes/g dans les viscères;  $10^2/10^7$  germes/g sur la peau (Toliara, 1997).

La microflore du poisson frais dépend de l'environnement dans lequel il a été capturé plus que l'espèce elle-même. Elle est plus ou moins psychrophile et possède une température optimale de croissance aux environs de 15°C (Morita, 1975).

Cependant, le muscle du poisson vivant ou fraîchement capturé est intact, et les germes endogènes ne le détériorent pas. Mais, comme il est riche en éléments nutritifs, reste un milieu propice au développement de microorganismes.

Les bactéries ne peuvent provoquer la détérioration des denrées alimentaires que si elles se développent après la contamination. D'après Tuara (1999), Maas-Van Berkel et al. (2005) et

Jeante et *al.* (2006), de nombreux facteurs provoquent leur prolifération et l'accroissement de la détérioration des aliments notamment le poisson ; parmi lesquels :

- \* **Les blessures** de la peau qui permettent aux matières nutritives de s'échapper et aux bactéries d'entrer et de se développer dans la chair ;
- \* **La teneur en eau** élevée (70% chez le poisson) qui favorise la croissance bactérienne ;
- \* **La teneur en Oxygène** lors du hachage de la viande, par exemple, qui favorise le développement des bactéries aérobies strictes ;
- \* **Le degré d'acidité** du poisson ( $\text{pH} = 7$ ) qui est proche du  $\text{pH}$  optimum de la croissance bactérienne ( $\text{pH} = 5-8$ ,  $\text{pH}_{\text{Optimum}} = 6.5-7.5$ ) ;
- \* **La composition chimique spécifique** (minéraux, vitamines, source d'énergie et d'Azote) favorable pour la prolifération des bactéries ;
- \* **La température**: les microorganismes se développent à une température idéale située entre  $7-55^{\circ}\text{C}$ ; les températures limites pour leur développement sont de  $-10^{\circ}\text{C}$  et  $70^{\circ}\text{C}$ .

### 3. Altération du poisson

Après sa mort, le poisson subit un processus naturel de décomposition qui est le résultat de phénomènes sensoriels, microbiologiques et autolytiques (FAO, 2003). Ceci se traduit par de complexes réactions de détériorations intrinsèques (autolyse, protéolyse et lipolyse) et extrinsèques (bactéries).

La réduction du  $\text{pH}$  post mortem de poisson affecte considérablement les propriétés physiques du muscle (Huss, 1999). Chez les poissons gras, les principaux composés responsables des mauvaises odeurs sont les produits carbonylés issus de l'oxydation des lipides (Eymard, 2003).

L'altération sensorielle des produits de la pêche peut être caractérisée par la présence des taches de sang, de colorations anormales, d'odeurs et de saveurs désagréables, de production de gaz et formation d'une couche poisseuse, ou par l'aspect des branchies et des yeux.

#### 3.1. Autolyse et protéolyse

Chez les espèces marines (téléostéens), en conditions d'anaérobiose, l'ATP est synthétisée à partir de la créatine phosphate (Huss, 1999). En effet, suite à la mort du poisson, la dégradation de l'ATP est instantanée et se traduit chimiquement par sa disparition et par l'augmentation d'autres molécules (Samuel et *al.*, 2002). Cette dégradation (Figure 9) permet

la formation de l'adénosine diphosphate (ADP), l'adénosine monophosphate (AMP), l'inosine monophosphate (IMP), l'inosine (Ino) et l'hypoxantine (Hx). Celui-ci aurait un effet direct sur l'arrière goût amer du poisson altéré et l'IMP est responsable du goût recherché du poisson frais (Hughes et Jones, 1966).

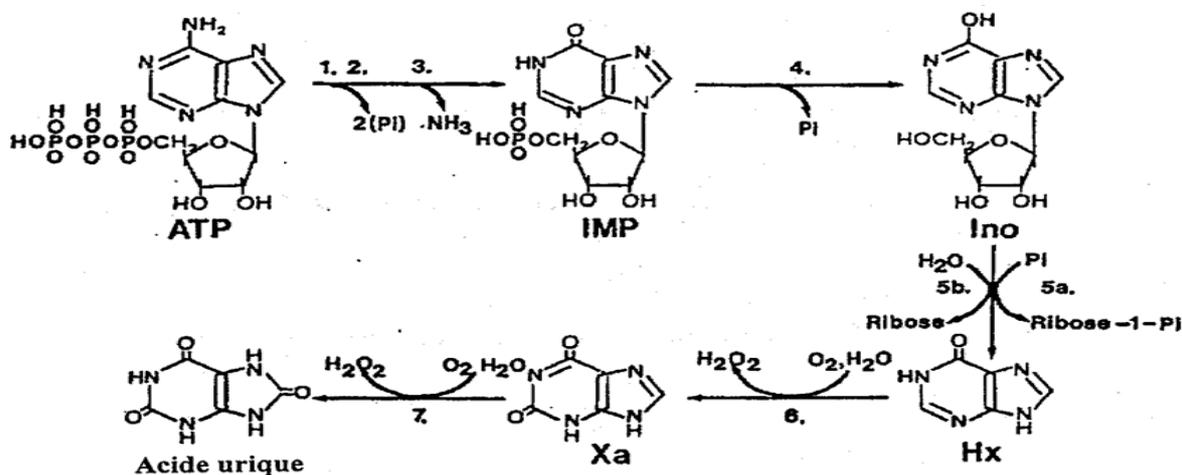


Figure 9 : Dégradation Post mortem de l'ATP dans le muscle du poisson (Gill, 1992).

Les enzymes, dans la figure 9, comprennent : **1.** ATP-ase ; **2.** Myokinase ; **3.** AMP désaminase ; **4.** IMP phosphohydrolase ; **5a.** Nucléoside phosphorylase ; **5b.** Inosine nucléosidase ; **6,7.** Xanthine oxydase.

Les enzymes de la protéolyse autolytique contribuent à la dégradation des tissus de la chair de poisson post mortem, conduisant ainsi au ramollissement (détente) considérable du muscle (Chéret, 2005).

Les principales protéases ayant un rôle notable dans l'évolution de la qualité post mortem du poisson sont :

- ♣ **Les cathepsines** : ce sont des endopeptidases acides lysosomales souvent impliquées dans la dégradation post mortem du muscle de poisson. Ces protéases acquièrent leur capacité protéolytique au cours des mécanismes de glycosylation et de phosphorylation. Les cathepsines D et L sont mises en avant quant à leur dégradation autolytique post mortem des tissus du poisson (Chéret, 2005).

- ♣ **Les calpaïnes** : ce sont des protéases à cystéine cytoplasmique Calcium dépendantes (Chéret, 2005). Les calpaïnes de poissons digèrent particulièrement les myosines à longue

chaîne. Ces protéases du poisson sont plus actives à basse température que ne le sont les calpaïnes de mammifères ; la vitesse de dégradation dépend de l'espèce étant très élevée dans le cas des myosines plus sensibles à la chaleur (Koochmaraie, 1992).

### 3.2. Hydrolyse et oxydation des lipides

Les poissons gras sont très sensibles à la dégradation des lipides, ce qui peut engendrer des problèmes de qualité tels que l'odeur et le goût de rance désagréables. Les réactions impliquées sont la lipolyse et l'oxydation des lipides.

#### 3.2.1. La lipolyse

La lipolyse intervient au sein des muscles du poisson pendant la phase *post mortem* et est associée à la dégradation du muscle au cours de la transformation et de la conservation (El Atyqy, 2010).

L'hydrolyse des lipides est principalement due à l'action des enzymes lipolytiques tissulaires qui sont les lipases. Ces dernières hydrolysent les liaisons esters des glycérides et libèrent à partir des triglycérides des acides gras libres, des diglycérides et monoglycérides. Ces acides gras libres interagissent avec les protéines favorisant leur dénaturation et conduisent à l'altération du produit (Refsgraard et *al.*, 2000). Chez le poisson, les phospholipases A2 et B hydrolysent les liaisons ester, respectivement, en position 2 et 1 ou 2 du glycérol dans les phospholipides (figure 10).

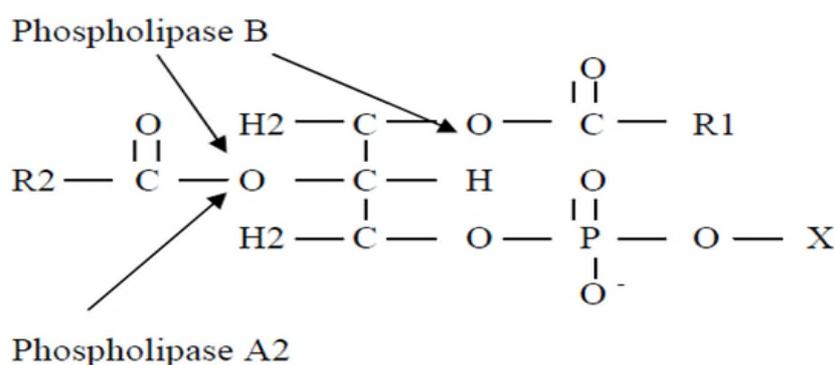


Figure 10 : Sites d'action des phospholipases A2 et B (Eymard, 2003).

### 3.2.2. Oxydation des lipides

Au niveau des tissus vivants, sont naturellement régulés les systèmes pro-oxydants et antioxydants permettant le maintien de la balance entre les facteurs impliqués dans les réactions d'oxydation. Mais cette régulation est perturbée à la mort des cellules (animales ou végétales) et durant les processus de transformation et de stockage des aliments, ce qui favorise le développement des réactions d'oxydation (Eymard, 2003 ; Jeantet et *al.*, 2006).

Divers facteurs peuvent influencer l'oxydation des lipides : les **facteurs intrinsèques** tels que la nature (solide, liquide, émulsionnée ou non) et la composition de la matière grasse (nombre et position des insaturations), la présence de substances pro-oxydantes (protéines héminiques, lipoxgénases et métaux de transition tels que le Fer, le Cuivre, le Nickel, le Cobalt, etc...) ; et les **facteurs extrinsèques** tels que la lumière, les conditions de stockage et les facteurs physicochimiques (température, pH, activité de l'eau et la teneur en oxygène) (Jeantet et *al.*, 2006). En fonction des agents initiateurs, l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles pour la production des hydroperoxydes (ROOH) : l'**auto-oxydation**, la **photo-oxydation**, et l'**oxydation enzymatique**.

Chez le poisson, les lipides, notamment les phospholipides de teneur élevée en AGPI, sont la cible privilégiée du rancissement oxydatif.

L'auto-oxydation des lipides comporte trois étapes: une phase d'initiation, une phase de propagation et une phase de terminaison illustrées sur la figure 11 (Deby et Deby-Dupont, 1999 ; Eymard, 2003 ; Jeantet et *al.*, 2006).

 **Initiation:** la peroxydation lipidique est initiée lorsqu'une espèce radicalaire est capable d'arracher un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène (-CH<sub>2</sub>-) d'un AGPI (RH). Cela aboutit à la formation de radical libre d'acide gras (R<sup>•</sup>).



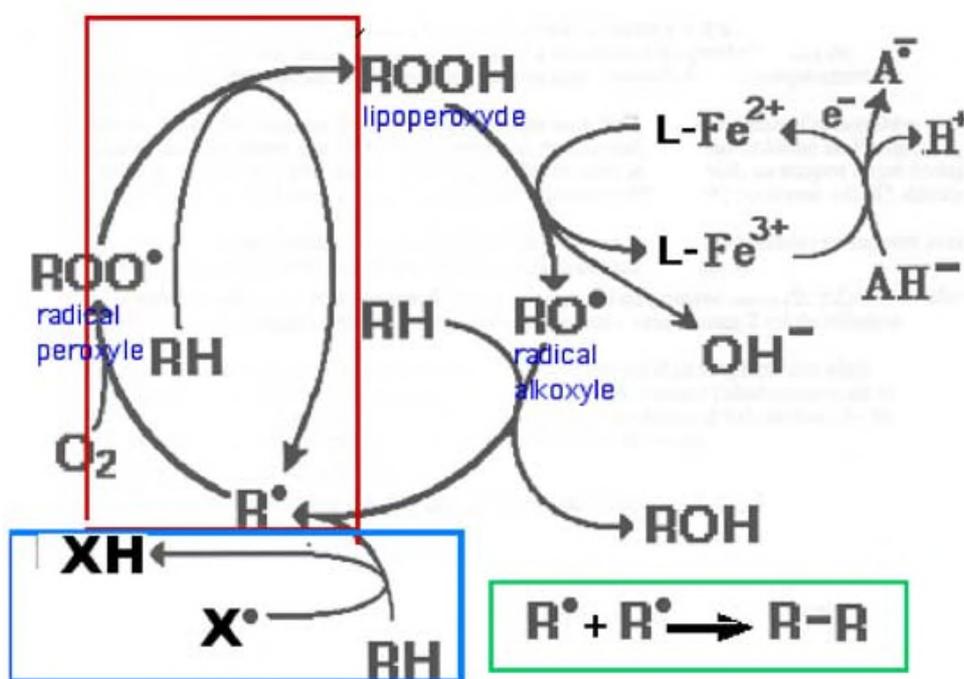
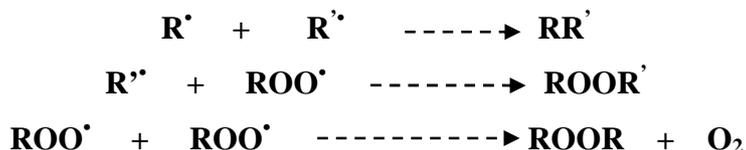
 **Propagation:** des radicaux peroxy instables (ROO<sup>•</sup>) seront formés après fixation de l'oxygène moléculaire par les radicaux libres formés :



Les radicaux libres, ainsi, formés (ROO<sup>•</sup>) peuvent à leur tour réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras (R'H) et former des hydroperoxydes (ROOH) :



✚ **Terminaison:** lorsque la concentration en radicaux libres devient suffisamment importante, ils réagissent entre eux pour terminer la réaction et conduire ainsi à des produits plus stables (qui ne sont pas des radicaux libres).



**Figure 11 :** Cycle d'auto-oxydation d'un lipide insaturé RH (Deby et Deby-Dupont, 1999)

Encadré bleu : phase d'initiation.

Encadré rouge : phase de propagation constituant le cycle proprement dit.

Encadré vert : phase de terminaison par dimérisation de deux radicaux  $\text{R}^\bullet$

Hors encadré : Rôle des métaux de transition dans la genèse des radicaux alkoxyles  $\text{RO}^\bullet$ .

#### 4. Prévention de l'altération du poisson

Pour limiter l'ampleur de l'altération du poisson, il faut lutter contre les conditions propices aux effets des enzymes, des bactéries et de l'oxydation (Maas-van Berkel et *al.*, 2005 ; Jeante et *al.*, 2006 ; El Atyqy, 2010).

✚ Pour entraver et/ou bloquer le développement et l'action des enzymes et des bactéries ; le poisson peut être réfrigéré, congelé, fumé, mis en conserve, séché ou salé ;

✚ Pour bloquer l'oxydation des lipides du poisson gras, il faut soit :

\* Incorporer des molécules antioxydantes comme agents de prévention qui bloquent la phase d'initiation en réagissant avec les initiateurs de la réaction, ou comme agents de terminaison qui bloquent la poursuite de la phase de propagation en réagissant avec les radicaux libres en les transformant en composés stables ;

\* Utiliser des moyens physiques de manière à ce que l'Oxygène de l'air ne puisse entrer en contact avec la denrée alimentaire, la solution la plus simple consiste à placer le poisson dans des sacs en plastique étanches ;

✚ En outre, une manipulation soigneuse et correcte du poisson, le respect des étapes de conservation et du conditionnement permettent l'atténuation de sa détérioration ;

✚ De même, pour éviter tout risque de contamination, il faut veiller à l'hygiène du personnel, des locaux et de tout matériel utilisé lors de manipulation du poisson.

# *Partie Pratique*

*Chapitre I :*  
*Matériel et méthodes*

## Chapitre I : Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale s'est déroulée au niveau des laboratoires de Biomathématique Biophysique Biochimie et Scientométrie (3BS) et de Technologie Alimentaire (TA) de l'Université Abd-Rahmane Mira de Béjaia.

### 1. Matériel végétal

Il est constitué de feuilles et bulbes d'*Allium triquetrum L.* récoltés dans la région d'Aokas de la wilaya de Béjaia au mois de Novembre 2013.

Les échantillons, fraîchement cueillis, ont subi un lavage à l'eau courante, puis coupés et séchés à 40°C dans une étuve ventilée (Kablan *et al.*, 2008). Après séchage, ils ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisés pour obtenir une fine poudre ( $\text{Ø}=250\mu\text{m}$ ) qui a servi pour la préparation des extraits. Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des bocaux en verre, préalablement séchés à l'étuve, hermétiquement fermés et recouverts en papier aluminium afin d'éviter le phénomène d'oxydation de leurs différents composés.



**Photographie 4 :** Bulbes frais et leur poudre correspondante



**Photographie 5 :** Feuilles fraîches et leur poudre correspondante

### **1.1. Choix du matériel végétal**

Le choix du matériel végétal est basé sur plusieurs critères qui sont :

- Exploitation des ressources naturelles ;
- Utilisation de l'ail triquètre dans l'assaisonnement de certains aliments donc sa non-toxicité ;
- Recherche de certaines propriétés biologiques de cette espèce en particulier les pouvoirs antioxydant et antimicrobien de ses polyphénols ;
- Aptitude de valorisation de cette plante par son incorporation comme additif alimentaire (conservateur) dans des conserveries.

### **2. Matériel animal**

Nous avons choisi la sardine commune pour vérifier l'efficacité des pouvoirs antioxydant et antibactérien de nos extraits polyphénoliques. Notre choix est justifié par la large consommation de ce poisson et sa vulnérabilité aux altérations microbiennes et au processus d'oxydation lipidique.

La sardine est achetée fraîchement au marché d'Aokas (Wilaya de Béjaia). Elle est acheminée au laboratoire dans une glacière, puis entêtée, éviscérée, nettoyée, rincée et égouttée. Les filets de poisson ont été coupés en petits morceaux de 20g et mis dans des boîtes de pétri.

Notre démarche expérimentale est résumée à travers le diagramme suivant.

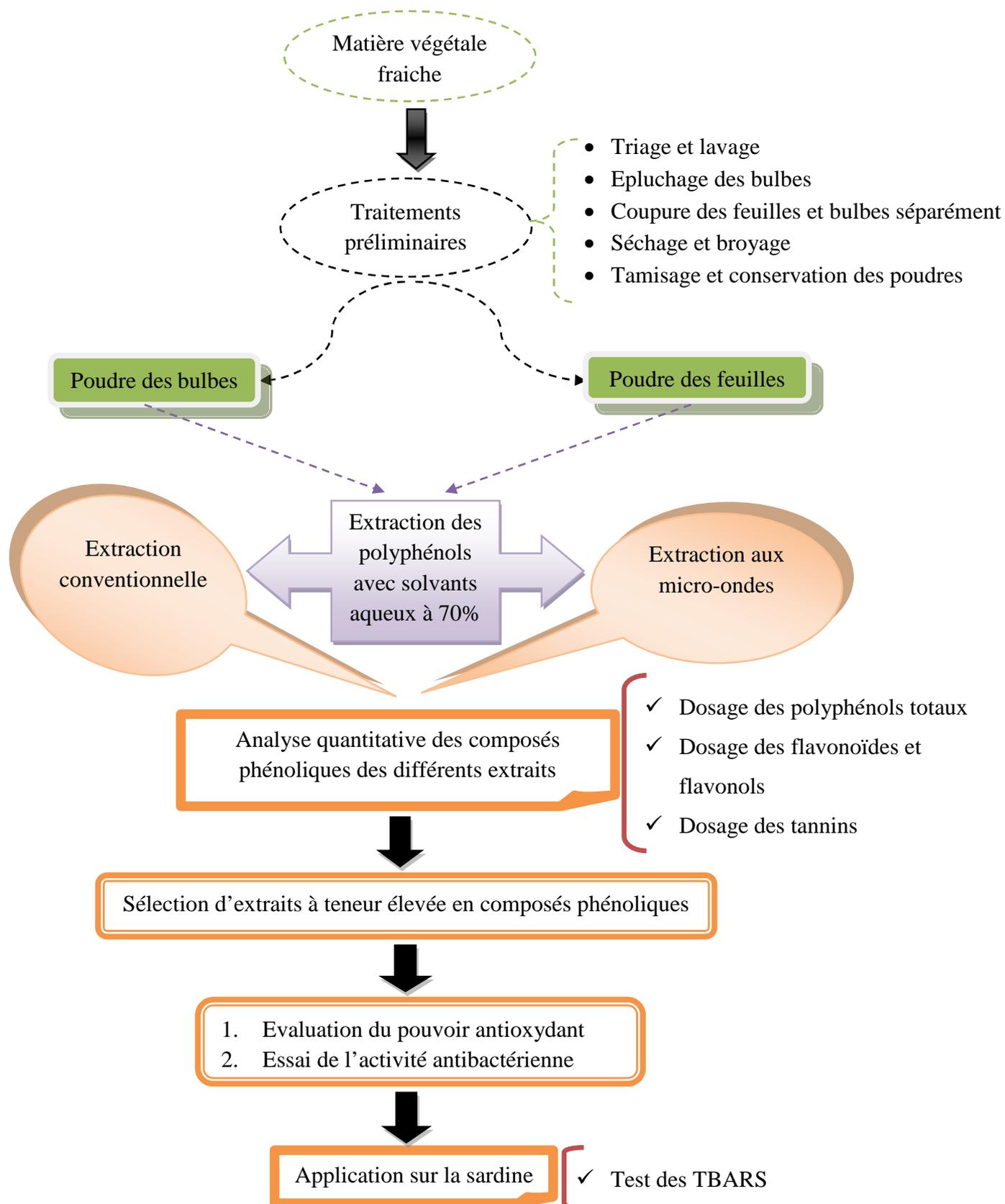


Figure 12 : Représentation schématique des étapes de l'étude réalisée

### 3. Méthodes

#### 3.1. Détermination du taux d'humidité, de l'activité de l'eau et de la teneur en cendres

##### 3.1.1. Test d'humidité

La teneur en eau des feuilles et bulbes fraîchement cueillis a été déterminée par le procédé de séchage à l'étuve (105°C) pendant trois heures (Boulekbache et *al.*, 2013).

- **Mode opératoire :**

Dix grammes de chaque échantillon sont mis dans un creuset en porcelaine et placés dans l'étuve à 105°C. Après trois heures, les échantillons sont retirés et placés dans un dessiccateur pour se refroidir, puis pesés.

- **Expression des résultats**

Le taux d'humidité est calculé à partir de la formule suivante :

H : taux d'humidité exprimé en pourcentage (%) ;

$W_0$  : perte du poids durant le séchage (g) ;

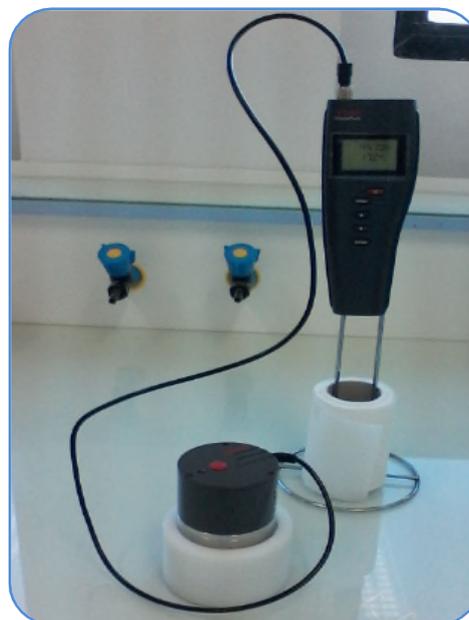
$W_1$  : poids initial de l'échantillon (g).

$$H = (W_0 / W_1) \times 100$$

##### 3.1.2. Evaluation de l'activité de l'eau

L'activité de l'eau des deux poudres obtenues a été mesurée avec un W-mètre :

- ✓ Remplir la cuvette avec la poudre et la placer au capteur ;
- ✓ Régler l'appareil (W-mètre) en mode de fonctionnement standard et le faire démarrer ;
- ✓ Après un temps d'initialisation, l'appareil affiche la valeur de l'activité de l'eau ( $A_w$ ) ;
- ✓ La mesure est stoppée lorsque cette valeur reste stable.



*Photographie 6 : W-mètre*

##### 3.1.3. Détermination de la teneur en cendres

La teneur en cendres a été évaluée par calcination à 550°C dans un four à moufle pendant trois heures (AFNOR, 1982).

##### Expression des résultats

La teneur en cendres est calculée comme suit :

Soit : Cd : taux de cendres (%);

MO : matière organique (%);

P<sub>0</sub> : masse de la prise d'essai (g);

P<sub>1</sub> : perte de poids durant la calcination (g).

$$Cd = 100 - MO\%$$

Avec :  $MO\% = (P_0 / P_1) \times 100$

### 3.2. Préparation des extraits

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour leur valorisation. Elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

Nous avons effectué l'extraction par deux méthodes différentes : la méthode d'extraction par macération dite conventionnelle et la méthode aux micro-ondes dite innovante.

#### 3.2.1. Extraction conventionnelle

Cinq grammes (5g) de poudre ont été extraits avec 500ml de trois solvants à 70% (acétone, éthanol et méthanol). Le mélange est placé sous agitation pendant deux heures à température ambiante et à l'abri de la lumière ; pour éviter les phénomènes de photo oxydation. Après filtration sur papier filtre, le solvant a été évaporé dans l'étuve ventilée à 40°C puis lyophilisé.



*Photographie 7* : Extraction par macération

#### 3.2.2. Extraction par micro-ondes

Cette extraction a été effectuée par les mêmes systèmes de solvants pendant 1, 2 et 3 minutes à une puissance de 500w. Le mélange est refroidit à chaque cycle de 20 secondes d'irradiations pour éviter la dégradation thermique des composés à extraire. Les solutions obtenues ont subi les mêmes opérations de filtration, évaporation et enfin lyophilisation.

La lyophilisation permet la bonne conservation des extraits et l'obtention d'un produit facilement soluble dans l'eau qui, après addition d'eau, présente les mêmes caractéristiques que le produit d'origine.



**Photographie 8:** Extraction par micro-ondes (à gauche) et le lyophilisateur utilisé (à droite)

### 3.2.3. Rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le rendement d'extraction est estimé par la formule suivante (Stanojević *et al.*, 2009) :

Où : R : Rendement d'extraction (%) ;

$P_f$  : Poids d'extrait après lyophilisation (g) ;

$P_0$  : Poids de la prise d'essai (g).

$$R = (P_f / P_0) * 100$$

## 3.3. Analyse quantitative des composés phénoliques

### 3.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés spectrophotométriquement par la méthode de Folin-Ciocalteu selon la procédure d'Othman *et al.* (2007).

Le réactif Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (Ribéreau-Gayon, 1968).

Les échantillons sont préparés par la dissolution des lyophilisats obtenus lors de l'extraction dans l'eau distillée. A 0,2 ml d'extrait (la concentration des extraits des feuilles est de 4 mg/ml et celle des bulbes est de 20 mg/ml) sont additionnés 1,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1/10), le mélange est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 5 minutes. Ensuite 1,5 ml de la solution de  $Na_2CO_3$  (7.5%) ont été ajoutés à l'ensemble. Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 90 minutes, l'absorbance a été mesurée à 750 nm contre un blanc sans extrait.

La quantification des polyphénols totaux a été faite en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique à différentes concentrations (Figure 1, Annexe n°3). Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g Ext).

### 3.3.2. Dosage des flavonoïdes

L'évaluation quantitative des flavonoïdes totaux dans les différents extraits a été réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) décrite par Djeridane et al. (2006). Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe jaunâtre suite à la chélation de métaux  $Al^{+3}$ , utilisés sous forme de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), par les groupements OH. La coloration ainsi formée est proportionnelle au taux de flavonoïdes dans le mélange (Ribereau-Gayon, 1968).

Les échantillons sont préparés par la dissolution des lyophilisats dans l'eau distillée (la concentration des extraits des feuilles est de 1,5 mg/ml et celle des bulbes est de 10 mg/ml). A 1.5ml de chaque échantillon sont ajoutés 1,5 ml de la solution  $AlCl_3$  (2%). Trente minutes après l'incubation de l'ensemble à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été lue à 430 nm.

Une gamme étalon est établie séparément avec la quercétine (Figure 2, Annexe n°3) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. La teneur moyenne en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g Ext).

### 3.3.3. Dosage des flavonols

La teneur en flavonols des différents extraits a été déterminée par la méthode colorimétrique décrite par Abdel-Hameed (2009).

Pour cela, à 1 millilitre d'extrait lyophilisé dissout dans l'eau distillée (la concentration des extraits des feuilles est de 4 mg/ml et celle des bulbes est de 25 mg/ml), sont additionnés 1 millilitre de Chlorure d'aluminium à 2% et 3 millilitres d'Acétate de sodium à 5%. L'ensemble est incubé pendant 30 minutes à la température ambiante et à l'abri de la lumière ; puis l'absorbance est mesurée à 440 nm. La concentration en flavonols des extraits a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine comme standard (Figure 3, Annexe n°3). La teneur moyenne en flavonols est exprimée en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g Ext).

### 3.3.4. Dosage des tannins

Pour l'estimation du contenu de nos extraits en tannins totaux, nous avons utilisé le protocole de précipitation des protéines (BSA), proposé par Hagerman et Butler (1978).

Cette méthode qui utilise la protéine Sérum Albumine Bovine (BSA), est basée sur l'aptitude des tannins à précipiter les protéines formant ainsi un complexe insoluble tannins-BSA. Ce précipité, une fois dissout dans une solution alcaline (SDS/TEA), forme un complexe ion ferrique- polyphénols de couleur bleu-vert-violacée, qui est mesurée au spectrophotomètre à 510 nm (Ribereau-Gayon, 1968).

A un millilitre d'extrait (la concentration des extraits des feuilles est de 12 mg/ml et celle des bulbes est de 30 mg/ml) sont ajoutés deux millilitres de la solution BSA préparée dans un tampon acétate (pH = 5; 0,20 M) puis incubés à 4°C pendant 24 heures. Une centrifugation a été réalisée à 5000 tpm pendant 20 minutes pour récupérer le culot à qui sont ajoutés 4 ml de SDS/TEA et 1 ml de FeCl<sub>3</sub> (0,01 M). Le mélange réactionnel est agité et laissé au repos à l'abri de la lumière pendant 15 min. Les absorbances des échantillons sont lues à 510 nm contre un blanc contenant le même mélange réactionnel à l'exception de l'extrait. Les résultats sont rapportés en mg équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g). Dans l'Annexe n°3 est illustrée la courbe d'étalonnage de l'acide tannique. La préparation des solutions pour le dosage des tannins est donnée dans l'annexe 4.

## 3.4. Activités biologiques des extraits

### 3.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de nos extraits a été réalisée par des tests chimiques d'oxydoréduction du fer (FRAP) et du radical 2,2 diphényl picryl-1-hydrazyl (DPPH<sup>•</sup>), puis par leur pouvoir de dégradation du β-carotène en présence de l'acide linoléique.

#### Réduction du Fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

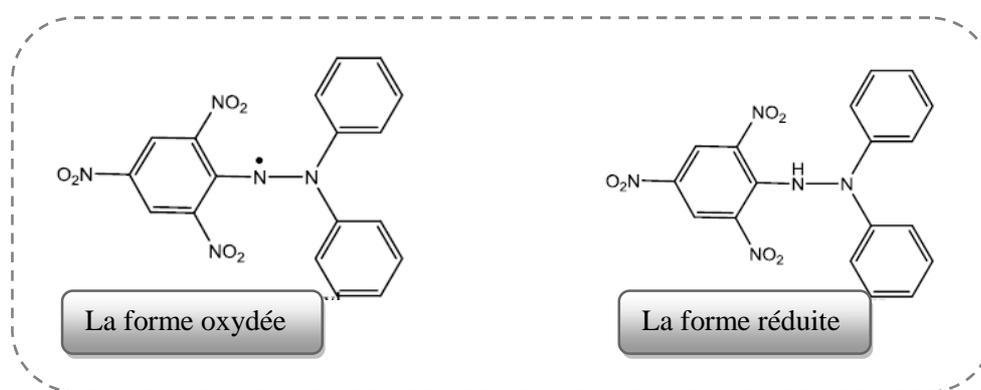
Cette méthode se base sur la réaction de réduction du chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) en chlorure ferreux (FeCl<sub>2</sub>) en présence d'un agent chromogène : le Ferricyanure de Potassium [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] en milieu acidifié par l'acide trichloracétique (Ribeiro *et al.*, 2008).

Le protocole expérimental utilisé est celui adopté par Hseu *et al.* (2008) ; où 1ml de l'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 1 ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M ; pH = 6,6) et 1 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub> à 1%. L'ensemble est bien mélangé et incubé au bain marie à 50°C pendant 20 min. 1 ml d'acide trichloracétique TCA à 10% a été ajouté, les tubes sont ensuite centrifugés à 3000g pendant 10 min. 1,5 ml du surnageant sont ajoutés à 1,5 ml d'eau distillée et 150 µl d'une

solution de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0,1%. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

### ✚ Test au DPPH

Le test DPPH est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. En effet, le DPPH (forme oxydée) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule (Molyneux, 2004). La présence de ces radicaux  $\text{DPPH}^\bullet$  donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 515 nm. La réduction des radicaux  $\text{DPPH}^\bullet$  par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (forme réduite).



**Figure 13** : Les formes oxydée et réduite du DPPH

Pour évaluer la capacité antiradicalaire du DPPH, nous avons suivi le protocole décrit par Dziri et *al.* (2012) comme suit : 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,1 mM) ont été mélangés avec 1 ml d'extrait à différentes concentrations. Le mélange obtenu est ensuite gardé à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 15 minutes ; puis l'absorbance est mesurée à 515 nm. Nous avons procédé de la même manière pour l'antioxydant de référence (BHA).

Le pourcentage d'inhibition est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$DPPH(\%) = [1 - (Abs_{\text{échantillon}} / Abs_{\text{contrôle}})] \times 100$$

Où  $Abs_{\text{contrôle}}$  et  $Abs_{\text{échantillon}}$  sont les absorbances du contrôle et de l'échantillon respectivement.

Les valeurs  $\text{IC}_{50}$  ; définies comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH ; ont été déterminées graphiquement pour chaque extrait.

### Test de blanchissement du $\beta$ -carotène

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes qui oxydent le  $\beta$ -carotène, entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser ces radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène.

Dans cette analyse la capacité antioxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés résultant de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique (Tepe et al., 2006). Pour cela, nous avons préparé une émulsion  $\beta$ -carotène/acide linoléique : 0,5mg de  $\beta$ -carotène dissous dans 1 ml de chloroforme. Nous avons introduit 3 ml de cette solution dans un bécher de 10 ml contenant 25  $\mu$ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween40. Après évaporation du chloroforme dans l'étuve ventilée réglée à 40°C, 100 ml d'eau oxygénée ont été ajoutés puis agités vigoureusement.

A 2,5ml de cette émulsion ont été additionnés 350  $\mu$ l d'extrait (les extraits des feuilles à 4 mg/ml et ceux des bulbes à 10 mg/ml) ou du contrôle positif BHA (à 2 mg/ml); l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 48 heures. Pour le contrôle négatif, l'extrait a été remplacé par l'eau distillée.

Les absorbances ont été mesurées, à différents intervalles de temps (0, 2h, 4h, 6h, 21h, 29h et 48h), à 490 nm contre un blanc constitué de la même émulsion sans l'ajout du  $\beta$ -carotène.

L'activité anti oxydante relative (AAR) a été calculée comme suit :

$$AAR = (Abs_e / Abs_{BHA}) \times 100$$

Où  $Abs_e$  et  $Abs_{BHA}$  sont les absorbances de l'échantillon et le BHA après 48 heures.

### 3.4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

#### Origine des souches et préparation des suspensions bactériennes

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne des extraits de l'ail triquètre sont des souches référentielles de l'American Type Culture Collection (ATCC), dont deux souches à Gram positif : *Bacillus subtilis* (ATCC6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC43300) et deux souches à Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853). Ces bactéries ont été choisies pour leur pathogénicité et leur implication fréquente dans la contamination des denrées alimentaires.

Ces quatre souches bactériennes sont entretenues dans un bouillon nutritif et repiquées sur gélose nutritive la veille de chaque essai antibactérien. Après 18-24 heures d'incubation à 37°C, des colonies bien isolées sont prélevées et mises dans 9 ml d'eau physiologique stérile

(0,9% NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée et sa turbidité est ajustée à 0,5 McFarland ( $10^8$  UFC/ml). L'ajustement se fait soit en ajoutant de l'eau physiologique si la suspension est opaque ou de la culture si elle est trop faible.

#### **✚ Procédure du test antibactérien**

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits phénoliques, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur gélose (antibiogramme : méthode des disques). Cette méthode a été concrétisée en remplaçant les disques d'antibiotiques par ceux imbibés de solution d'extrait.

Le protocole ainsi suivi dans notre étude a été rapporté par plusieurs auteurs : Najjaa et al. (2007), Falleh et al. (2008) et Kablan et al. (2008).

✓ Des disques de papier Wattman stériles ( $\varnothing = 6\text{mm}$ ) sont, aseptiquement, imprégnés de 10  $\mu\text{l}$  de différentes solutions d'extraits dissouts dans de l'eau distillée à des concentrations de 25, 50, 75 et 100 mg/ml. Le témoin négatif est préparé avec l'eau distillée ;

✓ Vingt millilitres, du milieu Muller Hinton gélosé en surfusion ( $45^\circ\text{C}$ ) sont coulés dans des boîtes de Pétri ( $\varnothing = 90\text{ mm}$ ). Après solidification, un inoculum de  $10^7$  UFC/ml est ensemencé par écouvillonnage (l'écouvillon trempé dans la suspension est essoré sur les bords), en frottant délicatement l'écouvillon sur la gélose et en tournant plusieurs fois la boîte de façon à croiser les stries ;

✓ Sur ces boîtes de pétri inoculées et avec une pince stérile sont déposés les disques imprégnés d'extraits, une légère pression est exercée sur ces derniers pour assurer une meilleure adhérence.

✓ Pour une bonne diffusion des substances actives, les boîtes de Pétri sont maintenues à  $4^\circ\text{C}$  pendant 2 heures; ensuite elles sont incubées à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 heures.

✓ Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition, autour de disque, d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et al., 2006).

### **3.5. Inhibition de la peroxydation lipidique de la sardine : Méthode des TBARS**

L'extrait phénolique ayant de bonnes activités biologiques sera retenu. Les concentrations appliquées sont de 10, 25 et 50 mg/ml. Nous avons suivi le taux d'oxydation durant 10 jours ( $1^{\text{er}}$ ,  $4^{\text{ème}}$ ,  $7^{\text{ème}}$  et  $10^{\text{ème}}$  jour) de stockage de la sardine au réfrigérateur ( $6^\circ\text{C}$ ).

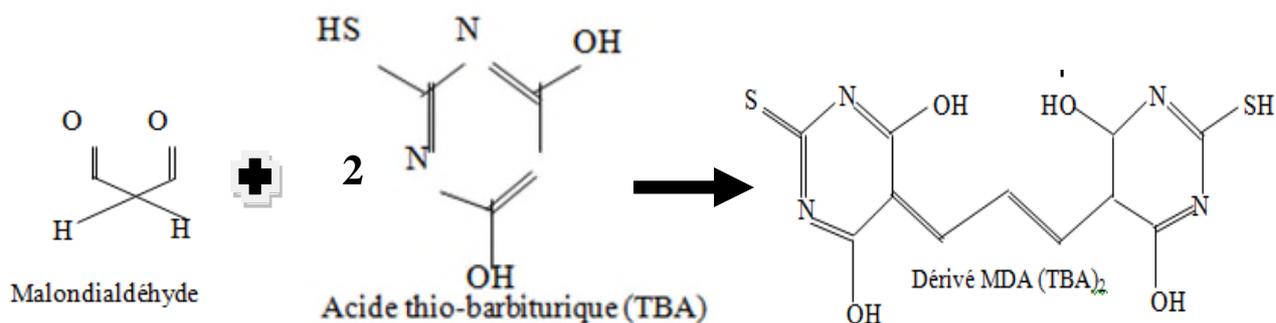
16 échantillons de 20 g de sardine ont été préparés dans des boîtes de Pétri en verre, préalablement lavées et séchées, ces échantillons ont été imbibés dans 15 ml d'extrait.



**Photographie 9:** Echantillons de sardine utilisés pour la méthode des TBARS.

La méthode à l'acide thiobarbiturique (TBA) est largement utilisée pour le dosage des composés secondaires de l'oxydation lipidique dans les aliments (Leonard *et al.*, 2004 ; Gatellier *et al.*, 2007 ; Jaenet *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2013).

Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits formés par la peroxydation des lipides en réponse à un stress oxydatif. Cette peroxydation des lipides est estimée par la mesure du MDA produit, capable de réagir avec l'acide 2-thiobarbiturique (Figure 14). Le dérivé ainsi formé  $\text{MDA}(\text{TBA})_2$  possède un maximum d'absorption à la longueur d'onde 532 nm.



**Figure 14 :** Réaction de condensation du MDA avec l'acide thiobarbiturique (Aoun, 2009).

Puisque le malondialdéhyde (MDA) n'est pas le seul produit secondaire d'oxydation des acides gras polyinsaturés à réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA), nous parlons alors de substances réactives au TBA (TBARS).

Pour notre étude, l'extraction du MDA a été réalisée selon la méthode de Djenane *et al.* (2011). Pour cet effet, 20 g de sardine ont été broyées avec 20 ml d'acide trichloracétique "TCA" (20%, pH: 3,5). Après 20min de contact, l'homogénat est centrifugé à 4000 rpm/15min. A 2 ml du surnageant sont additionnés 2ml de TBA (0,02M préparé dans NaOH

1N). Le mélange est alors incubé à 95°C/15min ; la réaction est, ensuite, arrêtée par un refroidissement dans de l'eau froide. Pour l'extraction du chromogène, 5 ml de butan-1-ol sont ajoutés au mélange et l'ensemble est agité vigoureusement. Après 10 minutes de centrifugation à 1500 rpm, l'absorbance de la phase butanol est mesurée à 532 nm. L'eau distillée est utilisée pour étalonner le spectrophotomètre.

Les valeurs de TBARS sont exprimées en équivalent MDA par gramme de sardine (nmol MDA/g).

La concentration de MDA est calculée en utilisant son coefficient d'extinction molaire ( $\epsilon = 155 \text{ mM/L.cm}$ ), selon la formule suivante (Souguir, 2009) :

*Abs* : Absorbance ;

*V* : Volume de l'extrait (ml) ;

*P* : Poids de la sardine (g).

$$MDA \text{ (nmol/g)} = (Abs * V / 155 * P) * 1000$$

#### 4. Analyse statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. Les valeurs EC50 (concentration effective à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition =  $f$ (concentrations)]. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA suivi du test de Tukey pour les comparaisons multiples en utilisant le logiciel XLSTAT 2009. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

*Chapitre II :*  
*Résultats et discussion*

## Chapitre II : Résultats et discussion

### 1. Taux d'humidité, l'activité de l'eau et la teneur en cendres

Les taux d'humidité et de cendres, en pourcentage, des feuilles et bulbes frais d'*Allium triquetrum L.* ainsi que l'activité de l'eau des poudres correspondantes sont donnés dans le tableau suivant.

**Tableau V :** Teneurs en eau, en cendres et l'activité de l'eau d'*Allium triquetrum L.*

	<i>Teneur en eau (%)</i>	<i>Activité de l'eau</i>	<i>Teneur en cendres (%)</i>
<b><i>Feuilles</i></b>	92,62 ± 0,26	0,36 ± 0,12	2,24 ± 0,42
<b><i>Bulbes</i></b>	91,74 ± 0,15	0,35 ± 0,27	1,66 ± 0,57

L'eau présente la partie majoritaire des plantes. Elle leur assure la turgescence et leur permet le transport des substances minérales, nutritives, d'éléments issus du métabolisme, de facteurs de croissance et de déchets... La teneur en eau varie selon l'espèce et l'organe considérés (Guillaume, 2004).

D'après nos résultats ; la plante d'*Allium triquetrum L.* a des taux d'humidité très importants. La matière sèche ne représente que 7,38% et 8,26% pour les feuilles et les bulbes, respectivement. Nos résultats concordent avec ceux de Ketiku (1975) qui a trouvé des teneurs en eau allant de 91 à 92,3% pour les quatre cultivars d'oignon étudiés. Pour le taux d'humidité des bulbes, nous constatons qu'il est proche de celui obtenu (89,11%) par Dini et al. (2008) ayant travaillé sur l'oignon rouge. Toutefois nos résultats se rapprochent encore de ceux rapportés par Yin et Tsao (1999) ayant signalé des teneurs en eau de 74 à 92% pour les sept espèces du genre *Allium* analysées.

L'eau présente une source de dégradation des composés phénoliques par le phénomène d'oxydation. Par ailleurs, les cellules végétales renferment des enzymes, particulièrement les polyphénols oxydases, susceptibles de modifier ces composés par les réactions de brunissement enzymatique (Matuschek et Svanberg, 2005 ; Umi et Unal, 2005).

Pour prévenir de ce phénomène d'oxydation et pouvoir préserver nos échantillons ; nous avons effectué un séchage dans une étuve ventilée.

L'activité de l'eau nous indique la disponibilité de l'eau d'un milieu pour des réactions chimiques, biochimiques ou un transfert au travers d'une membrane semi-perméable. Sa valeur est comprise entre 0 et 1.

Ainsi, l'activité de l'eau de nos poudres a été mesurée pour s'assurer de l'élimination de l'eau libre qui inhibe la prolifération des microorganismes ; et assurer leur conservation dans de bonnes conditions.

Selon Jeantet et *al.* (2006), la croissance des microorganismes est très faible lorsque l'activité de l'eau est inférieure à 0,6. Il a été estimé qu'un domaine de stabilité existe pour des valeurs de l'activité de l'eau comprises entre 0,2 et 0,3. A travers le tableau V ; nous pouvons déduire que nous avons effectué le séchage des feuilles et bulbes dans de bonnes conditions (activités de l'eau de 0,35 et 0,36).

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans l'organe testé. Selon le tableau V, nous remarquons que les feuilles d'*Allium triquetrum L.* sont plus riches en minéraux (2,24%) comparativement aux bulbes avec une teneur de 1,66%.

Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Ketiku (1999) qui a trouvé des teneurs comprises entre 3,19 et 12,42 mg/100g de matière sèche des quatre cultivars d'oignons. Mais ils sont inférieurs à ceux de Hayder et *al.* (2004) qui ont trouvé une valeur de 2,30% pour l'ail cultivé.

## **2. Rendement en extraits et leurs teneurs en composés phénoliques**

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).

Généralement, divers solvants ont été utilisés pour l'extraction de ces principes actifs englobant l'eau, l'acétone, l'éthanol et le méthanol. Il a été corroboré que les solvants aqueux donnent les meilleurs rendements d'extraction que les solvants absolus (Koffi et *al.*, 2010 ; Boulekbache et *al.*, 2013 ; Tan et *al.*, 2013).

Dans la présente étude, l'extraction a été effectuée sur les poudres des feuilles et bulbes d'*Allium triquetrum L.* par trois solvants aqueux (70%) à savoir : l'acétone, l'éthanol et le méthanol ; par la méthode de macération et celle assistée par micro-ondes.

Le travail consiste à évaluer les extraits obtenus en terme de quantité phénolique par ces deux techniques ; puis faire une comparaison afin de pouvoir sélectionner la meilleure procédure d'extraction par rapport à la vitesse et au taux d'extraction de ces composés bioactifs.

### 2.1. Rendement d'extraction

Chacun de nos extraits a été caractérisé par sa couleur, son aspect et son rendement par rapport à la poudre utilisée. Ces éléments sont représentés dans le tableau ci-après.

**Tableau VI** : Aspects, couleur et rendements des extraits d'*Allium triquetrum* L.

		Feuilles			Bulbes		
		Extraits	Couleur/aspects	Rendement %	Extraits	Couleur/aspects	Rendement %
Extraction conventionnelle	FA		Vert foncé (pâte collante)	28,60	BA	Jaune (cristaux)	41,80
	FE		Vert (pâteux)	32,20	BE	Jaune (cristaux)	50,60
	FM		Jaune verdâtre (pâteux)	28,20	BM	Jaune (cristaux)	51,40
Extraction par micro-ondes	FA1		Vert foncé (pâte collante)	34,00	BA1	Jaune (cristaux)	45,6
	FA2		Vert foncé (pâte collante)	34,8	BA2	Jaune (cristaux)	46,00
	FA3		Vert foncé (pâte collante)	36,00	BA3	Jaune (cristaux)	46,40
	FE1		Vert (pâteux)	33,60	BE1	Jaune (cristaux)	46,80
	FE2		Vert (pâteux)	33,60	BE2	Jaune (cristaux)	48,00
	FE3		Vert (pâteux)	35,20	BE3	Jaune (cristaux)	49,20
	FM1		Jaune verdâtre (pâteux)	33,60	BM1	Jaune (cristaux)	48,00
	FM2		Jaune verdâtre (pâteux)	33,20	BM2	Jaune (cristaux)	48,40
	FM3		Jaune verdâtre (pâteux)	32,00	BM3	Jaune (cristaux)	49,60

F : Extrait de feuilles ; B : Extrait de bulbes ; A : Acétone, E : Ethanol ; M : Méthanol ; 1, 2, et 3 relatifs à 1, 2 et 3 minutes de chauffage aux micro-ondes.

✚ **Rendement d'extraction par macération** : il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction, du tableau IV, que l'éthanol donne le meilleur rendement pour les échantillons des feuilles, soit une valeur de 32,20% ; alors que pour les bulbes, c'est le

méthanol qui donne le taux le plus élevé, soit 51,40% suivi de l'éthanol avec une valeur de 50,60%.

**✚ Rendement d'extraction par micro-ondes :** les résultats des rendements obtenus par micro-ondes illustrés dans le tableau IV, montrent que l'acétone est le meilleur solvant d'extraction pour les feuilles (36%). Pour les bulbes, les meilleurs solvants d'extraction sont le méthanol et l'éthanol qui sont similaires, soient 49,60% et 49,20%, respectivement. Nous constatons que les rendements les plus élevés sont enregistrés pour les échantillons irradiés pendant 3 minutes par micro-ondes.

Nous remarquons que les rendements d'extraction obtenus par ces deux méthodes diffèrent en fonction des parties de la plante ; dont les taux en extraits de bulbes sont considérablement élevés par rapport à ceux des feuilles.

Les meilleurs rendements d'extraction, des deux méthodes utilisées, sont enregistrés en utilisant les radiations micro-ondes pour les feuilles, soit 36% versus 32,20% pour la macération. Par contre, les taux en extraits de bulbes obtenus par ces deux procédures d'extraction sont proches.

Ces différences en taux d'extraction sont dues à la différence de solubilité des composés phénoliques dans le solvant d'extraction, qui dépend de leur nature chimique dans la plante (composés simples à fortement polymérisés). Entre autre, la solubilité de ces composés est affectée par la polarité du solvant utilisé (Falleh et *al.*, 2008 ; Jokic et *al.*, 2010 ; Garcia-Salas et *al.*, 2010).

## **2.2. Teneurs en composés phénoliques**

Ci-après sont présentées les teneurs moyennes en composés phénoliques (polyphénols totaux : PPT, flavonoïdes, flavonols et tannins) de nos extraits obtenus par les deux procédures d'extraction.

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydante et antimicrobienne des plantes leur sont attribuées.

### **2.2.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)**

Les teneurs en PPT obtenus par les deux méthodes d'extraction sont présentées dans le tableau suivant.

**Tableau VII** : Teneur en PPT d'*Allium triquetrum* L. extraits par macération et par micro-ondes.

Partie de la plante	Solvant d'extraction	Extraits	Teneur en PPT (mg EAG/g)
Feuilles	Acétone	FA	14,512 ± 0,21
		FA1	15,999 ± 0,19
		FA2	16,377 ± 0,18
		FA3	16,587 ± 0,15
	Ethanol	FE	16,976 ± 0,26
		FE1	15,601 ± 0,19
		FE2	16,950 ± 0,09
		FE3	17,656 ± 0,13
	Méthanol	FM	16,811 ± 0,18
		FM1	15,409 ± 0,17
		FM2	15,450 ± 0,13
		FM3	15,688 ± 0,12
Bulbes	Acétone	BA	4,153 ± 0,06
		BA1	2,427 ± 0,11
		BA2	2,493 ± 0,09
		BA3	2,554 ± 0,12
	Ethanol	BE	3,926 ± 0,13
		BE1	3,580 ± 0,08
		BE2	3,762 ± 0,07
		BE3	4,038 ± 0,12
	Méthanol	BM	3,114 ± 0,07
		BM1	2,387 ± 0,16
		BM2	2,474 ± 0,12
		BM3	2,687 ± 0,09

**F** : Extrait de feuilles ; **B** : Extrait de bulbes ; **A** : Acétone, **E** : Ethanol ; **M** : Méthanol ;  
**1, 2, et 3** relatifs à 1, 2 et 3 minutes de chauffage aux micro-ondes.

Les résultats du tableau ci-dessus révèlent une différence significative ( $p > 0,05$ ) ; le chauffage par micro-ondes, pendant 3minutes, semble être la meilleure méthode d'extraction des PPT soit en moyenne 10,049 contre 9,810 mgEAG/g PS pour la macération. Ces résultats rejoignent ceux trouvés par Huma et *al.* (2011) qui constatent que l'extraction assistée par micro-onde des polyphénols de 4 variétés d'oignons (Rouge, Jaune, Blanc et rocambole) est plus efficace par rapport au chauffage conventionnel. Ils rapportent les valeurs,

respectivement, de 25,07 - 17,90 - 7,58 et 11,30 mg EAG/g PS pour la méthode aux micro-ondes contre 23,09 - 14,69 - 6,62 et 5,03 mg EAG/g PS pour la méthode conventionnelle.

La variation de la teneur en PPT en fonction de la partie de la plante est significative, dont les feuilles donnent les teneurs les plus élevées (16,167 mgEAG/g PS en moyenne). Cette teneur est environ 5 fois supérieure à celle enregistrée par les bulbes (3,204 mg EAG/g PS en moyenne). Nos résultats sont supérieurs à ceux des travaux conduits par Bernaert et *al.* (2012) sur les 30 cultivars de poireau indiquant les valeurs oscillant de 5 à 15,14 mg EAG/g PS et ceux de Bozin et *al.* (2008) rapportant une valeur de 0,18 mg EAG/g PS pour les bulbes d'ail étudiés.

Par ailleurs, les extraits acétoniques enregistrent les teneurs en polyphénols les plus élevées (10,311 mgEAG/g PS) suivis des extraits éthanoliques et méthanoliques qui donnent des teneurs proches estimées respectivement à 9,387 et 9,252 mgEAG/g PS.

### **2.2.2. Teneur en flavonoïdes et flavonols**

Les résultats de la teneur en flavonoïdes et flavonols des extraits irradiés par micro-ondes et des macérâtes des feuilles et bulbes d'ail triquêtré par les différents solvants (tableau VIII) montrent que le chauffage aux micro-ondes est préférable pour extraire ces substances bioactives, à savoir une moyenne de 8,359 (pour les flavonoïdes) / 7,836 (pour les flavonols) mg EQ/g PS contre 7,786 (pour les flavonoïdes) / 7,027 (pour les flavonols) mg EQ/g PS en moyenne pour la macération. En effet Huma et *al.* (2011) ont trouvé des résultats différents des nôtres et indiquent que les teneurs en flavonols obtenus par le chauffage conventionnel des 4 variétés d'oignon étudiées (319,7 – 214,7 – 5,2 – 1,9 mg EQ/100g PS) sont supérieures à celles obtenues par chauffage aux micro-ondes (134,7 – 114 – 2,4 et 1,2 mg EQ/100g PS).

Tableau VIII : Teneur en flavonoïdes et flavonols d'*Allium triquetrum* L.

Partie de la plante	Solvant d'extraction	Extraits	Flavonoïdes (mg EQ/g)	Flavonols	
Feuilles	Acétone	FA	14,721 ± 0,14	14,646 ± 0,12	
		FA1	14,897 ± 0,14	14,718 ± 0,31	
		FA2	15,014 ± 0,11	14,945 ± 0,24	
		FA3	16,127 ± 0,21	16,030 ± 0,28	
		FE	13,637 ± 0,25	12,921 ± 0,16	
	Ethanol	FE1	14,555 ± 0,15	14,354 ± 0,21	
		FE2	14,653 ± 0,17	14,060 ± 0,14	
		FE3	15,789 ± 0,18	15,245 ± 0,25	
		FM	13,215 ± 0,24	10,841 ± 0,17	
	Méthanol	FM1	12,988 ± 0,13	11,120 ± 0,13	
		FM2	13,086 ± 0,11	11,488 ± 0,22	
		FM3	13,098 ± 0,11	12,125 ± 0,25	
		BA	2,871 ± 0,12	2,180 ± 0,21	
	Bulbes	Acétone	BA1	1,558 ± 0,13	1,056 ± 0,13
			BA2	1,615 ± 0,06	1,090 ± 0,11
			BA3	1,691 ± 0,12	1,178 ± 0,14
BE			1,662 ± 0,15	1,164 ± 0,18	
BE1			1,524 ± 0,09	1,260 ± 0,23	
Ethanol		BE2	1,699 ± 0,15	1,385 ± 0,12	
		BE3	2,958 ± 0,11	2,032 ± 0,14	
		BM	0,614 ± 0,09	0,416 ± 0,13	
		BM1	0,381 ± 0,15	0,241 ± 0,16	
Méthanol		BM2	0,415 ± 0,23	0,364 ± 0,11	
		BM3	0,494 ± 0,18	0,431 ± 0,12	

Statistiquement la différence entre les teneurs en flavonoïdes et en flavonols est significative. Les feuilles enregistrent, en moyenne, 14,231 et 13,563 mgEQ/g PS en flavonoïdes et flavonols respectivement ; tandis que les bulbes renferment des teneurs 9 à 12 fois plus faibles (1,456 et 1,066 mgEQ/g PS en flavonoïdes et flavonols, respectivement). Bozin et *al.* (2008) rapportent des résultats supérieurs aux nôtres concernant la teneur en flavonoïdes totaux des bulbes de l'ail (5,78 mg EQ/g PS).

En ce qui concerne le solvant d'extraction, quel que soit le mode d'extraction, l'acétone et l'éthanol restent les meilleurs extracteurs des flavonoïdes et flavonols, soient des moyennes proches de 8,561/8,302 mgEQ/g PS en flavonoïdes et 8,230/7,802 mgEQ/g PS en flavonols respectivement.

Nous constatons que les flavonols représentent la majeure partie des flavonoïdes totaux des parties d'*Allium triquetrum L.* étudiées.

### **I.2.2.3. Teneur en tannins**

L'analyse des résultats de la teneur en tannins consignés dans le tableau IX indique que le chauffage aux micro-ondes pendant 3 minutes est plus efficace pour l'extraction des tannins (3,208 mg EAT/g PS en moyenne) que la macération (2,289 mg EAT/g PS en moyenne).

Quel que soit la procédure d'extraction, l'éthanol enregistre les teneurs les plus élevées en tannins (3,210 mg EAT/g PS en moyenne) suivi par le méthanol et l'acétone avec des valeurs proches de 2,137 et 2,068 mg EAT/g PS en moyenne, respectivement.

Nous remarquons que les moyennes obtenues en tannins des extraits des feuilles (3,988 mg EAT/g PS) sont plus importantes que celles des bulbes (0,957 mg EAT/g PS).

**Tableau IX :** Teneur en tannins d'*Allium triquetrum L.* extraits par macération et par micro-ondes.

Partie de la plante	Solvant d'extraction	Extraits	Teneur Tanins (mg EAT/g)
Feuilles	Acétone	FA	3,661 ± 0,16
		FA1	1,624 ± 0,19
		FA2	2,753 ± 0,23
		FA3	4,727 ± 0,16
	Ethanol	FE	4,709 ± 0,14
		FE1	4,803 ± 0,22
		FE2	4,969 ± 0,19
		FE3	6,791 ± 0,21
	Méthanol	FM	2,611 ± 0,14
		FM1	3,093 ± 0,18
		FM2	3,947 ± 0,11
		FM3	4,175 ± 0,17
Bulbes	Acétone	BA	1,069 ± 0,11
		BA1	0,872 ± 0,11
		BA2	0,891 ± 0,09
		BA3	0,949 ± 0,10
	Ethanol	BE	1,042 ± 0,09
		BE1	0,906 ± 0,11
		BE2	1,115 ± 0,14
		BE3	1,376 ± 0,09
	Méthanol	BM	0,643 ± 0,07
		BM1	0,648 ± 0,11
		BM2	0,750 ± 0,12
		BM3	1,235 ± 0,10

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

✚ Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (Ebrahimi *et al* 2008).

✚ Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al* 2004).

✚ La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des composés phénoliques (Lee *et al* 2003).

La synthèse des comparaisons multiples par paires (test de Tukey) de nos extraits par rapport aux moyennes estimées des dosages en composés phénoliques est représentée dans l'annexe n°4.

De cette partie de notre étude, il ressort que l'extraction assistée par micro-ondes par l'acétone et par l'éthanol sont les meilleures techniques d'extraction des composés phénoliques. Les résultats obtenus dévoilent aussi que les feuilles d'*Allium triquetrum L.* en renferment des quantités plus importantes que ses bulbes.

Ainsi, nous pouvons retenir les extraits (FE3, FA3, FA, FE, BA et BE3) pour étudier leurs activités biologiques à savoir l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne.

### **3. Activités biologiques des extraits**

#### **3.1. Activité antioxydante**

Pour estimer l'activité antioxydante des extraits sélectionnés, nous avons adopté trois méthodes à savoir : l'estimation du pouvoir réducteur (PR) qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques  $FE^{+3}$  en  $FE^{+2}$  ; l'évaluation du pouvoir antiradicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation du radical DPPH<sup>•</sup> puis l'estimation du pouvoir de dégradation du  $\beta$ -carotène en présence de l'acide linoléique.

##### **3.1.1. Pouvoir réducteur, FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)**

Le PR est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le Fer. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Bourgou *et al.*, 2008 ; Karagozler *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2009).

Les résultats du PR des extraits retenus sont illustrés sur la figure suivante

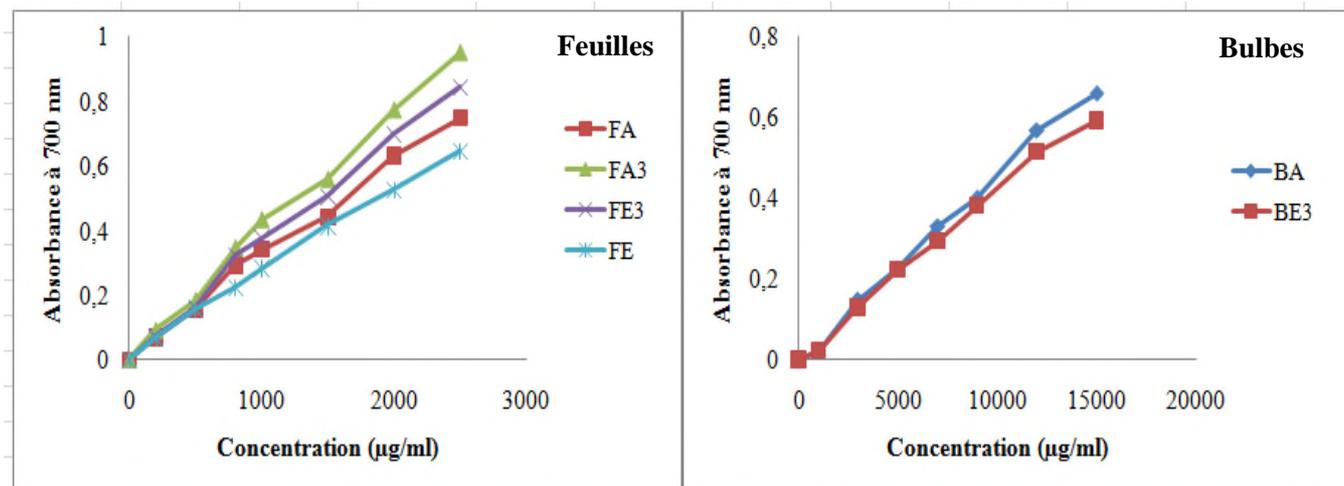


Figure 15 : Pouvoir réducteur des extraits des feuilles et bulbes d'*Allium triquetrum* L.

Nous remarquons, d'après la figure ci-dessus, que tous les extraits ont pu réduire le Fer avec des variations d'un extrait à un autre. Ces résultats indiquent que l'absorbance augmente au fur et à mesure que la concentration en extrait s'élève. Les extraits des feuilles enregistrent les absorbances les plus élevées à des concentrations moindres par rapport à ceux des bulbes. Ainsi, les absorbances obtenues pour les extraits des feuilles oscillent de 0,067 et 0,952 pour des concentrations de (0,2 – 0,5 – 0,8 – 1 – 1,5 - 2 et 2,5 mg/ml), tandis que celles des extraits des bulbes varient entre 0,022 et 0,662 pour des concentrations de (1 – 3 – 5 – 7 – 9 - 12 et 15 mg/ml).

L'analyse statistique a révélé une différence significative ( $p > 0.05$ ) à partir de laquelle nous avons pu classer les pouvoirs réducteurs des différents extraits selon l'ordre croissant suivant :  $BE3 < BA < FE < FA < FE3 < FA3$ .

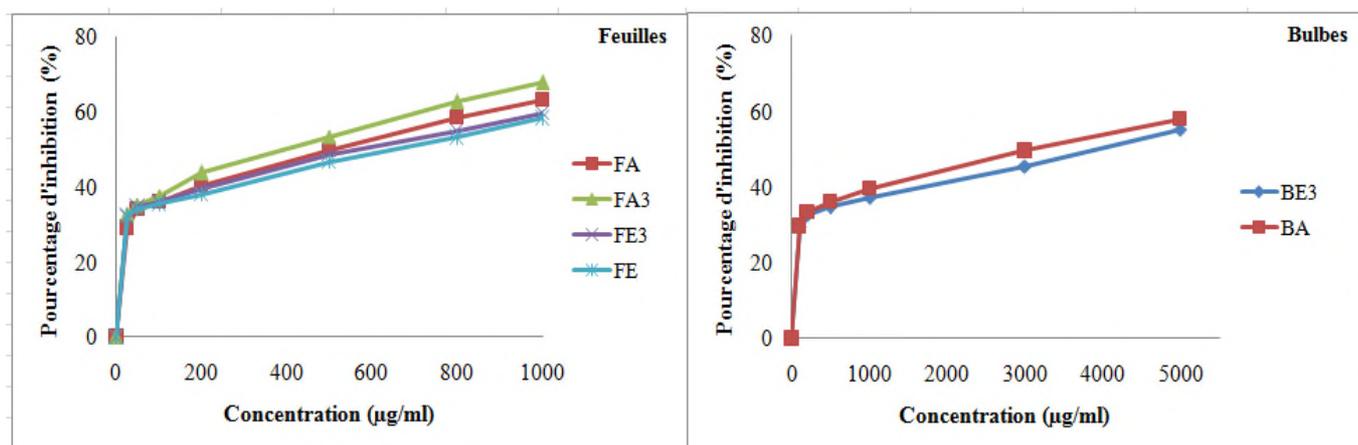
Les absorbances des extraits des feuilles varient significativement à partir de 800 µg/ml et celles des bulbes à partir de 7 mg/ml.

Afin de comparer l'activité antioxydante des extraits des deux parties de la plante, par cette méthode, avec le BHA, pris comme standard, nous avons calculé la capacité réductrice  $CR_{0.5}$  définie comme étant la concentration nécessaire pour réduire 50 % du Fer. Il s'avère que l'antioxydant de référence (BHA) est plus puissant que nos extraits et qui représente une capacité réductrice de 49,76 µg/ml. La capacité à réduire le Fer est plus importante dans l'extrait FA3 ( $CR_{0.5} = 1,20$  mg/ml) suivi par l'extrait FE3 ( $CR_{0.5} = 1,42$  mg/ml). Les autres extraits représentent une faible à très faible activité : FE, FA, BA et BE3 qui ont des capacités réductrices de 1,76 – 1,92 – 11,13 et 11,92 mg/ml, respectivement.

### 3.1.2. Test au DPPH

Le test au DPPH est souvent utilisé pour la rapidité des résultats comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activité antioxydante des extraits végétaux (Yi et *al.*, 2008).

Les résultats de ce test des différents extraits, exprimés en pourcentage, sont illustrés sur la figure 16.



**Figure 16 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH-en fonction des différentes concentrations des extraits d'*Allium triquetrum L.*

Les courbes tracées montrent que le pourcentage de l'activité antiradicalaire est proportionnel à la concentration des extraits. Cela a été vérifié par plusieurs auteurs tels que Wang et *al.* (2007) et Demirtas et *al.* (2013), ayant travaillé sur des espèces du genre *Allium*.

Au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , nous avons remarqué une différence significative entre les extraits des feuilles à partir de 200 µg/ml et à partir de 500 µg/ml pour ceux des bulbes. Les extraits FA3 et BA ont enregistré les meilleurs taux d'inhibition du radical DPPH.

La valeur  $IC_{50}$  représente la concentration d'inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres.

La figure 17 regroupe les valeurs d' $IC_{50}$  de nos extraits et celle du BHA pris comme antioxydant de référence.

D'après le classement croissant des différentes valeurs d' $IC_{50}$  (figure 17), on constate que le BHA a un pouvoir antioxydant supérieur à celui des extraits ; les extraits phénoliques des bulbes ont le pouvoir antioxydant le moins important.

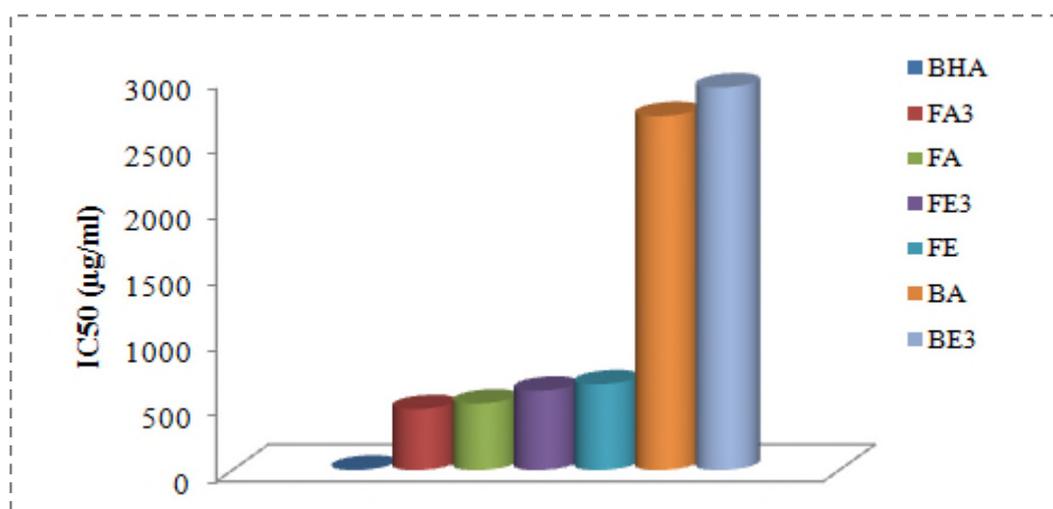


Figure 17: Classement croissant des extraits avec le standard (BHA) selon leur IC50 (Test de DPPH).

En se basant sur les résultats obtenus et l'analyse statistique ( $p > 0.05$ ), nous pouvons classer l'effet antiradicalaire selon l'ordre décroissant suivant : BHA > FA3 > FA > FE3 > FE > BA > BE3.

### 3.1.3. Blanchissement du $\beta$ -carotène

Le changement d'absorbance à différents intervalles de temps (figure 18) du  $\beta$ -carotène nous montre que parmi tous les extraits testés, l'extrait FA3 semble être le meilleur inhibiteur de l'oxydation de l'acide linoléique.

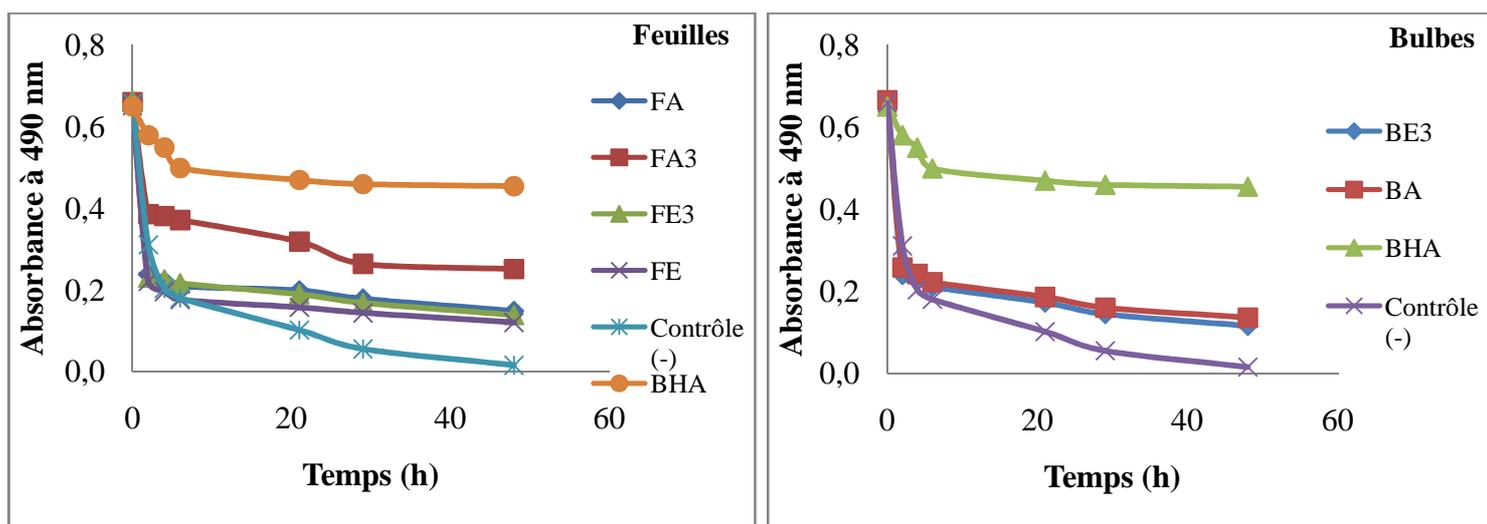
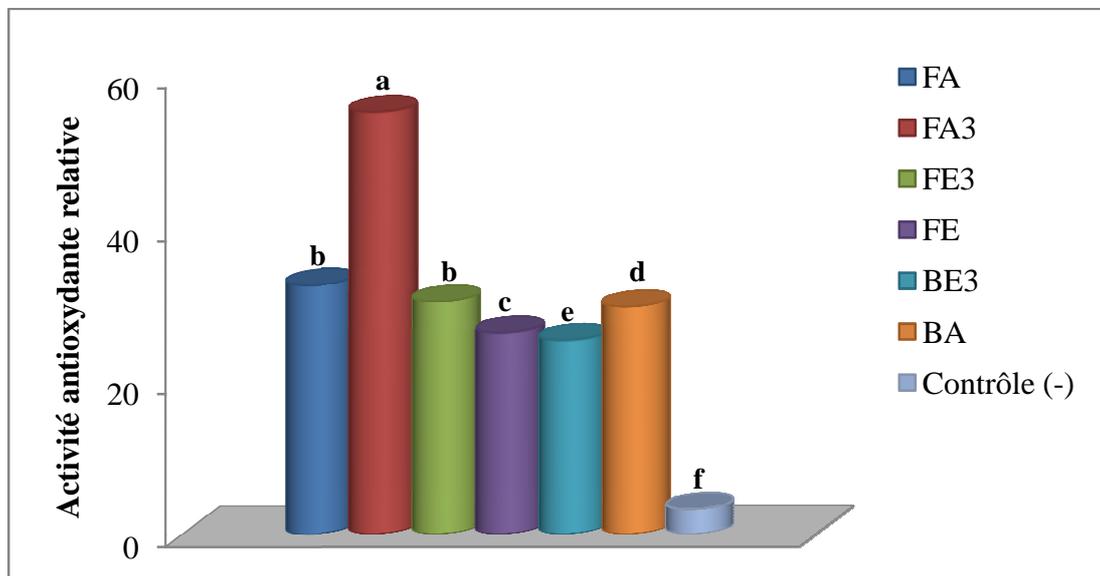


Figure 18 : Cinétique de décoloration du  $\beta$ -carotène d'extraits des feuilles et bulbes d'*Allium triquetrum* L.

Nous constatons, d'après les résultats illustrés sur la figure 19, que tous les extraits phénoliques testés ont inhibé significativement ( $p < 0,05$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène par rapport au contrôle négatif.



**Figure 19** : Activité antioxydante relative d'extraits des feuilles et bulbes d'*Allium triquetrum* L.

(Les lettres différentes indiquent des activités significativement différentes ( $p < 0,05$ )).

L'inhibition la plus élevée a été notée par l'extrait FA3 (55,23%) suivi par FA (32,67%) et FE3 (30,47%) puis en dernier par l'extrait FE (26,40%). Pour les extraits obtenus à partir des bulbes, l'extrait BA enregistre l'activité antioxydante relative plus importante par rapport à l'extrait BE3 (29,81% contre 25,41%) ; ce dernier correspond à l'extrait le moins actif.

Malgré cette inhibition l'activité de nos extraits reste significativement inférieure par rapport au contrôle positif (BHA).

Selon Liyana-Pathriana et Shahidi (2006), un extrait qui inhibe ou retarde le blanchissement du  $\beta$ -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire.

📊 Nous avons essayé de trouver une corrélation linéaire entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante (PR et DPPH) des différents extraits étudiés ; les graphes avec les coefficients de corrélation ainsi obtenus sont représentés sur la figure 20.

La corrélation entre la teneur des extraits d'*Allium triquetrum L.* en flavonoïdes avec l'activité antioxydante est fortement significative ( $R^2 = 0,978$  et  $R^2 = 0,956$  pour les tests du PR et DPPH, respectivement) et même plus importante que celle avec les teneurs en phénols totaux ( $R^2 = 0,909$  et  $R^2 = 0,877$  pour les tests du PR et DPPH, respectivement). D'autre part, on remarque qu'il y'a une bonne corrélation entre les teneurs en tanins et les deux tests de l'activité antioxydante ( $R^2 = 0,773$  et  $R^2 = 0,648$  pour les tests du PR et DPPH, respectivement). Ceci pourrait être expliqué par la présence des molécules actives responsables de l'effet antioxydant et qui appartiennent à la famille des flavonoïdes mais aussi aux acides phénols. Ces résultats sont confirmés par certain groupes de recherche, qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu en flavonoïdes et/ou phénols totaux et l'activité antioxydante (Djeridane et *al.*, 2006 ; Abdel-Hameed, 2009 ; Ksouri et *al.*, 2009).

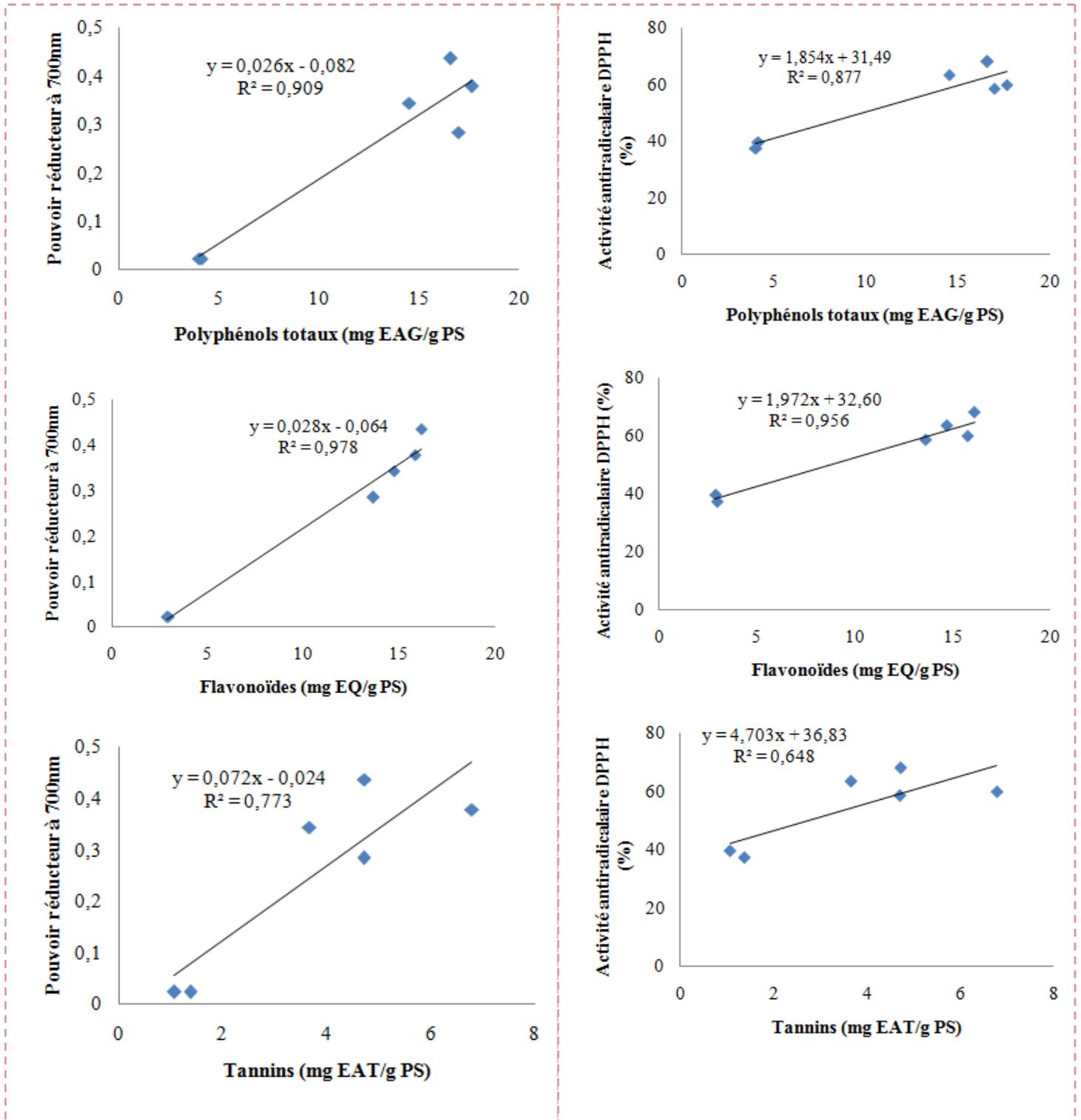


Figure 20 : Courbes de corrélation établies entre les tests de l'activité antioxydantes (PR, test du DPPH) et les composés phénoliques des différents extraits.

### 3.2. Activité antibactérienne

Pour l'évaluation du potentiel antibactérien de nos extraits, nous les avons testé vis-à-vis de deux bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) et deux autres à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ; et nous avons opté pour la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques).

Au regard des résultats obtenus (figure 21), nous avons observé que les extraits n'ont inhibé la croissance d'aucune souche bactérienne à une charge de 750 µg/disque (à la concentration de 75 mg/ml). Par contre, nous avons constaté une activité antibactérienne modérée des extraits acétoniques des feuilles (FA3, FA) à la charge de 1000 µg/disque (à la concentration de 100 mg/ml) ; cet effet antibactérien a été exercé sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec des zones d'inhibition respectives de 9 et 8 mm pour l'extrait FA3 et de 8 et 7,5 mm pour l'extrait FA.

Il a été rapporté par Najjaa et al. (2007), que les extraits de chloroforme et de l'éther de pétrole d'*Allium roseum* ont inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 11mm (100 µg/disque) supérieure à celle que nous avons trouvé ; ces auteurs n'ont révélé aucune activité vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Escherichia coli*. En revanche, les travaux de Dziri et al. (2012) sur des extraits méthanoliques de cette même espèce (*Allium roseum*) n'ont enregistré aucun effet antibactérien à l'égard des quatre souches que nous avons testées. Les sources de variations des résultats peuvent provenir de la procédure d'extraction, l'origine de la plante et la concentration de l'inoculum (Dziri et al., 2012). Selon Najjaa et al. (2007), ce manque d'activité pourrait être dû à l'absence d'allicine ou à sa conversion en d'autres formes n'ayant pas ou ayant une faible activité antimicrobienne.

D'autres part, l'inefficacité de l'activité antimicrobienne des espèces d'*Allium* est légèrement dépendante des solvants d'extraction utilisés (Kyu, 2012).

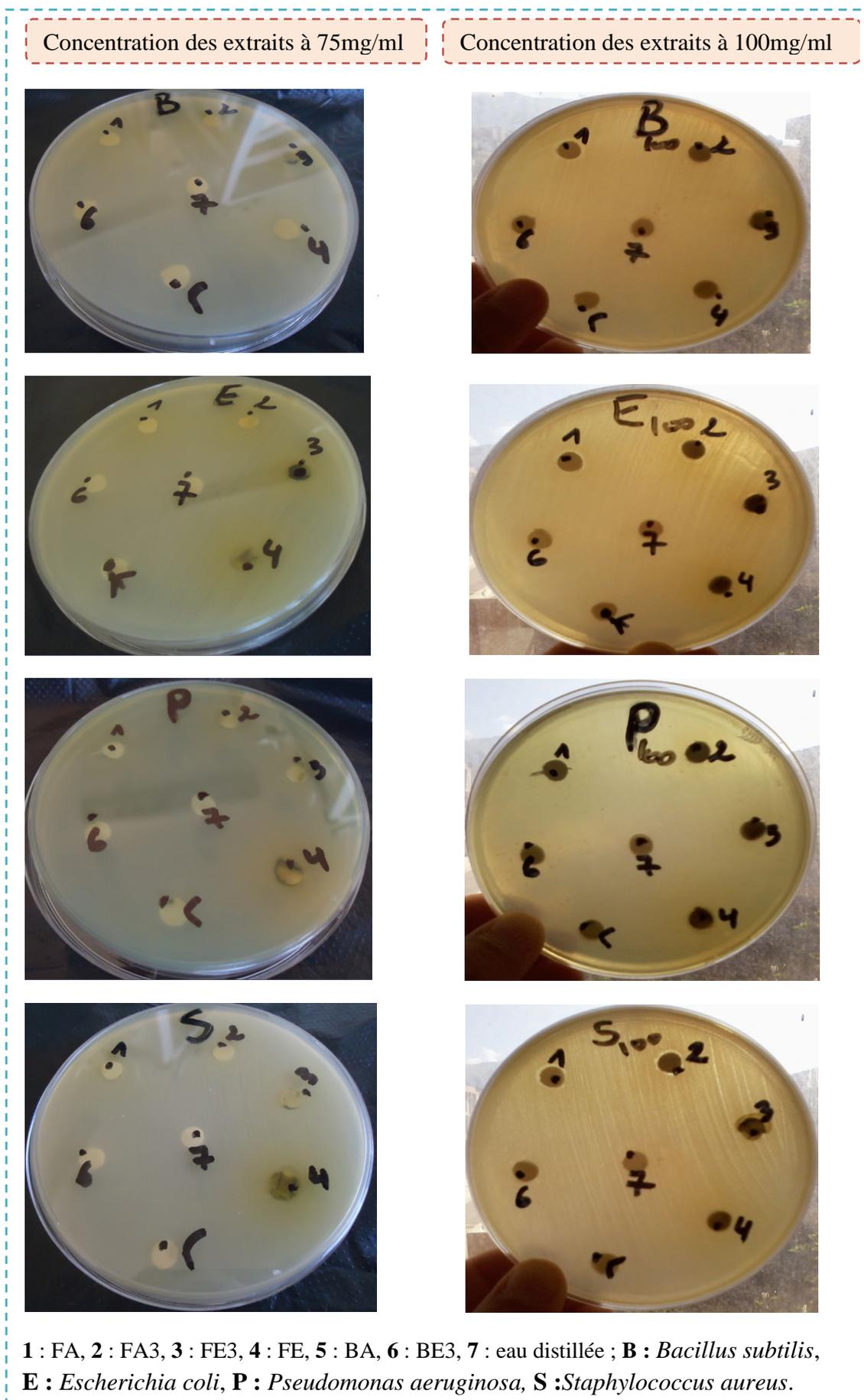


Figure 21 : Activité antibactérienne des extraits d'*Allium triquetrum* L. sur la croissance des souches testées.

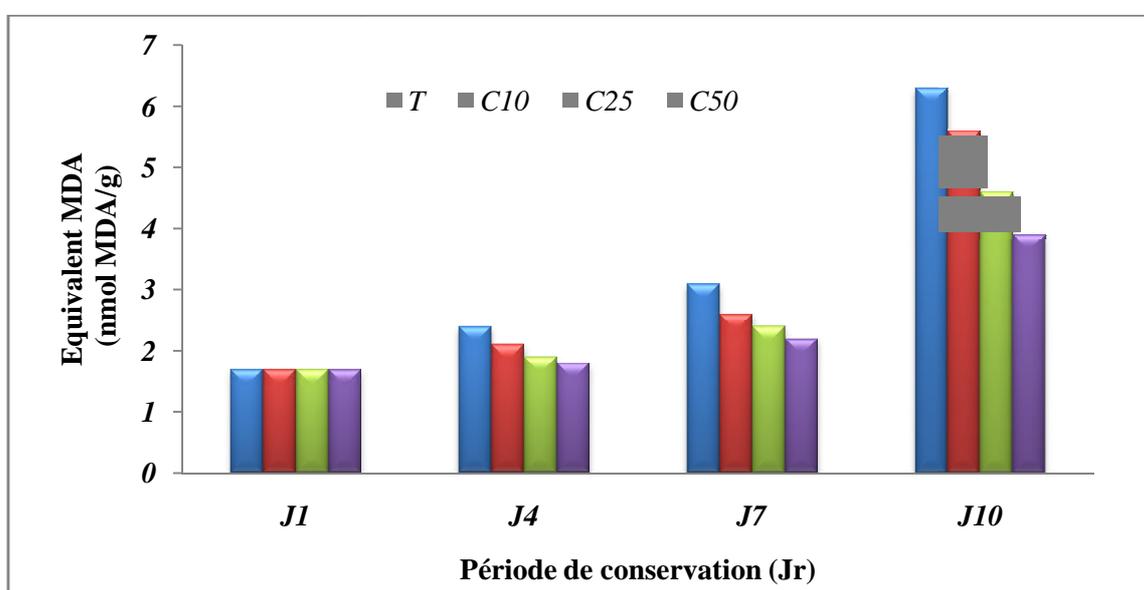
#### 4. Activité antioxydante de l'extrait phénolique appliqué sur la sardine

Compte tenu des résultats des activités biologiques obtenus, l'extrait FA<sub>3</sub> a été retenu en vue de son application sur la sardine commune.

La teneur en malondialdéhyde (MDA), issu de la dégradation des matières grasses de la sardine, a été déterminée en utilisant l'acide thiobarbiturique (TBA).

L'accumulation du MDA a été suivie durant 10 jours de conservation de la sardine à 6°C, avec ou sans l'extrait phénolique (FA<sub>3</sub>).

La figure 22 nous montre clairement que l'accumulation de MDA varie selon la concentration en extrait et le temps de conservation.



**Figure 22 :** Effet antioxydant de l'extrait phénolique appliqué sur la sardine durant le stockage.

En effet, les niveaux d'oxydation des échantillons témoins sont relativement élevés par rapport à ceux traités par l'extrait phénolique (FA<sub>3</sub>).

L'analyse statistique a révélé une différence significative à partir du 7<sup>ème</sup> jour, où l'effet protecteur antioxydant de l'extrait phénolique est plus marqué par comparaison au témoin et cet extrait à la concentration de 10 mg/ml.

Par cela, nous pouvons récapituler que l'extrait acétonique des feuilles d'*Allium triquetrum L.* (FA<sub>3</sub>) présente des propriétés antioxydantes permettant la préservation de la sardine de la peroxydation lipidique.

# *Conclusion*

Dans cette présente étude, la méthode d'affrontement par les solvants appliquée dans l'extraction des polyphénols d'*Allium triquetrum L.* indique que :

- ♣ L'extraction assistée par micro-onde par l'acétone et par l'éthanol sont meilleures que l'extraction conventionnelle ;
- ♣ Les feuilles renferment des quantités en composés phénoliques plus importantes que les bulbes.

L'évaluation de l'effet antioxydant des extraits phénoliques par les trois méthodes (Pouvoir réducteur, test au DPPH<sup>•</sup> et le blanchiment du  $\beta$ -carotène) a confirmé que les extraits des feuilles possèdent des propriétés plus puissantes que celles d'extraits des bulbes. L'extrait acétonique des feuilles obtenu par micro-ondes (FA3) s'est avéré le plus puissant.

Les résultats obtenus de l'étude de l'activité antibactérienne ont révélé que seuls les deux extraits acétoniques des feuilles (FA3 et FA) ont exercé une faible activité à l'encontre d'*Escherichia coli* (ATCC25922) et *Staphylococcus aureus* (ATCC43300). En revanche, les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) et *Bacillus subtilis* (ATCC6633) ont manifesté une résistance à l'égard de tous les extraits testés.

Quant aux résultats de l'application des polyphénols sur la sardine, test des TBARS, l'extrait acétonique FA3 a révélé un pouvoir antioxydant intéressant.

Nous pouvons conclure que cet extrait semble être plus approprié comme agent antioxydant dans la préservation de la sardine.

A la suite de ces résultats, il serait donc intéressant de mener une étude des polyphénols des autres parties (tige et fleurs) de cette plante spontanée alimentaire en vue d'identifier l'espèce chimique responsable de ses activités. Un essai d'extraction de ces substances bioactives de cette plante à l'état frais serait plus intéressant.

Une étude plus poussée de l'activité antimicrobienne vis-à-vis des moisissures peut être envisagée. Cette étude antifongique devrait être confirmée par un suivi *in Vivo*.

Il serait également important de pouvoir substituer les antioxydants utilisés dans les conserves par ces polyphénols et d'effectuer un test de stabilité pour pouvoir confirmer la valorisation d'*Allium triquetrum L.* comme plante antioxydante.

*Références*  
*bibliographiques*

**Abdel-Hameed E.-S. S. (2009).** Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chemistry*, 114, pp: 1271-1277.

**AFNOR (1982).** Recueil de Normes Françaises des produits dérivés des fruits et légumes et jus de fruits. Ed. AFNOR. pp : 1-325.

**Amenzoui K., Tachinanate F.F., Yahyaoui A., Kifani S. and Mesfioui H. (2006).** Analysis of the cycle of reproduction of *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) off Moroccan Atlantic coast, C.R.Biologies 329 pp. 892-901.

**Aoun M. 2009.** Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne [*Brassica juncea* (L.) Czern] néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines. *Thèse Doct. Université de Bretagne occidentale*

**Aruoma O. I., Spencer J. P. .E, Butler J. et Hlliwel B. (1995).** Commentary reaction of plant derived and syntitic antioxidants whith trichloromethylperoxyl radicals. *Free rad. Res.* 22, 187-190 p.

**Aursand M., Bleivik B., Reinuzzo J., Jorgensen L. and Mohr V. (1994).** Lipid distribution and composition of commercially farmed atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Sci. Food Agric.*, 64.239-248.

**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.

**Bandarra, N.M., Batista, I., Nunes, M.L., Empis, J.M. and Christie, W.W. (1997).** Seasonal changes in lipid composition of sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Science* 62 40-42.

**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.

**Bernaert N., De Paepe D., Bouten C., De Clercq H., Stewart D., Van Bockstaele E., De Loose M. and Van Droogenbroeck B. (2012).** Antioxidant capacity, total phenolic and

ascorbate content as a function of the genetic diversity of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*). *Food Chemistry* 134, 669–677.

**Bernal M., Caneco Coombs S., Costas G., Franco Hallidary N., Stratoudakis Y., Lago de Lanzos A.B.C., Conway D., Satos M. and Salva A. (2006).** Sardine (*Sardina pilchardus*) Spawning Seasonality in European Waters of the northeast Atlantic, *Mar Sard Bio.*, 152. 201-212.

**Bhanu Prakash, Prashant Kumar Mishra, Akash Kedia, N.K. Dubey (2014).** Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant potential of chemically characterized *Boswellia carterii* Birdw essential oil and its in vivo practical applicability in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. *LWT - Food Science and Technology* 56, 240-247.

**Biaye Mamadou (2002).** Action pharmacologique des tanins. *Thèse de Doctorat, Université de Dakar.*

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

**Bock B. (2013).** *Allium triquetrum* L., eFlore, la flore de Tela Botanica.

**Bonaccorsi P., Caristi C., Gargiulli C. & Leuzzi U. (2008).** Flavonol glucosides in *Allium* species. A comparative study by means of HPLC–DAD–ESI–MS–MS. *Food Chemistry* 107; 1668–1673, *Analytical Methods.*

**Boulekbache Makhlof L., Slimani S. and Madani Kh. (2013).** Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products* 41, 85– 89.

**Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H. and Marzouk B. (2008).** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and root. *C. R. Biologies*, 331, pp: 48–55.

**Boutour Mélanie (2011).** Protection contre le stress photo oxydant chez des feuilles d'érable argenté (*acer saccharinum*l.) grâce à l'oxydation de composés phénoliques caractérisée par voltammétrie cyclique. *Mémoire de maîtrise en science de l'environnement, Université de Québec.* 75p.

**Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A. and Igc R. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry* 111, 925–929.

**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, pp. 393-394.

**Cheftel J.C. et Cheftel H. (1984).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. *Ed. Tech & Doc, Lavoisier. Paris . 381p.*

**Chéret R. (2005).** Effet des hautes pressions sur les indicateurs de maturation de la viande et d'altération du muscle de poisson. *Thèse de Doctorat, Université de Nantes . 176p.*

**Coombs S.H., Smyth T.J., Conway D.V.P., Halliday N.C., Bernal M., Stratoudkis Y., and Alvarez P. (2006).** Spawning season and temperature relationships for sardine (*Sardina pilchardus*) in the eastern North Atlantic. *J.Mar.Biol.Ass. U.K.*, 86. 1245-1252.

**Corea G., Fattorusso E. and Lanzotti V. (2003).** Saponins and Flavonoids of *Allium triquetrum*. *Journal of Natural Products, Vol. 66, N°11.*

**Cruz J.M., Dominguez J.M. and Parajo JC. (2001).** Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials. *J. Agric Food Chem.*49(5).2459-64.

**Da Silva S.L., Da Silva A., Honório K.M., Marangoni S., Toyama M.H. et Da Silva A.B.F. (2004).** The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure, 684.1-7.*

**Daglia M (2011) .** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology, 23, 1-8.*

**Dangles O. and Dufour C. (2006).** Flavonoids. chemistry, biochemistry and applications. *Eds O. Andersen and K. Markham, CRC Press, Boca Raton. Chapter 9, p 443-469.*

**Dangles O. and Dufour C. (2008).** Recent advances in Polyphenol Research. *Chapter 3, 67-87.*

**Deby C. et Deby-Dupont G. (1999).** L'oxygène et la vie . Tome 1- Initiation au métabolisme de l'oxygène. *Centre de l'Oxygène, Recherche et Développement (CORD), Univ. de Liège*

**Degenhardt A., Knapp H. and Winterhalter P. (2000).** Separation and purification of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 48(2) .338-43.

**Demirtas I., Erenler R., Elmastas M. and Goktasoglu A. 2013.** Studies on the antioxidant potential of flavones of *Allium vineale* isolated from its water-soluble fraction. *Food Chemistry* 136: 34-40.

**Deroeck V. (2014).** Ail à trois angles, *Allium triquetrum L.*, Herba Flore, Plantes Comestibles, herbes gourmandes.

**Didry N., Pinkas M. et Torck M. (1982).** La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *gaindelia*. *PI med. Phytother.* XVI. 7-15 p.

**Dini I., Tenore C. T. and Dini A. (2008).** Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium caepa L.* Var. *tropeana* (red onion) seeds. *Food Chemistry* 107, 613–621.

**Djenane Dj., Yangüela J., Gómez D. and Roncalés P. (2011).** Perspectives on the use of essential oils as antimicrobials against *campylobacter jejuni* cect 7572 in retail chicken meats packaged in microaerobic atmosphere. *Journal Of Food Safety ISSN 1745-4565.*

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, pp: 654-660.

**DPI (2008).** Victorian Resources Online, Present Distribution-Angled Onion. [http://www.land.vic.gov.au/DPI/Vro/map\\_documents.nsf/pages/pre\\_dist\\_angled\\_onion.](http://www.land.vic.gov.au/DPI/Vro/map_documents.nsf/pages/pre_dist_angled_onion.)

**Dugravot S. (2004).** Les composés secondaires soufrés des *Allium*. rôle dans les systèmes de défense du poireau et actions sur la biologie des insectes. *Thèse de Doct en Science de la vie, Université de Tour.* 197P.

**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 s* 4.423 –432.

**Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefzadi M. 2008.** Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry.*, 110 : 927-931.

**Edmond R. (2007).** Bases théoriques du stress oxydant et mécanismes d'action des antioxydants. *INRA, Centre de Recherche en Nutrition Humaine*, 63, 122.

**Eichii K. & Genjiro M. (2000).** Effect of storage temperatures on flowering of *Allium triquetrum* L. *Environment Control in Biology* 38, 47-50.

**Ekoumou C. (2003).** Etudes phytochimiques et pharmacologiques de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. *Thèse pharmacie, Bamako*, 145 p.

**El-Atyqy M. (2010).** Tout sur les aliments . <http://www.azaquar.com/doc/r%C3%A9actions-alt%C3%A9ration-chimique-des-aliments>

**Eymard Sylvie (2003).** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) . choix des procédés. *Thèse de Doctorat en Génie des procédés de l'université Nantes* . 143p.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331 : 372–379.

**FAO (2001).** Sardine otolith workshop.FAO Fisheries Report, 685, 49p.

**FAO (2003).** Assurance de la qualité dans les produits de la mer. Italie, Rome 95p.

**Fauconneau B., Corraze G., Lebail P.Y. et Vernier J.M. (1990).** Les lipides de dépôt chez les poissons d'élevage . contrôle cellulaire, métabolique et hormonal. *INRA Prod. Anim.*, 1990, 3(5), 369-381.

**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.

**Fleuriet A., Jay-Allemand C. et Macheix J.J. (2005) .** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.

**Franceschini P. (1994).** La peau et son vieillissement. *Ed Flammarion Dominos*, Paris, 125p.

**Furnestin J. (2007).** Contribution à l'étude biologique de la sardine atlantique (*Sardina pilchardus* Walbaum). 227-385p.

**Gandemer G., Pichou D., Bouguennec B., Caritez J.C., Bergé P., Briand E. et Legaul C. (1990).** Influence du système d'élevage et du génotype sur la composition chimique et les qualités organoleptiques du muscle long dorsal chez le porc. *Journées Rech. Porc. France*, 22 .101-10.

**Garcia-Salas P., Morales-Soto A. and Segura-Carretero A. 2010).** Fernández-Gutiérrez. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*. Vol. 15. pp. 8813-8826.

**Garrido S., Cunha M.E., Oliveira P.B. and Vander lingen C.D. (2006).** Diet composition and feeding behaviour of Iberian sardine (*Sardina pilchardus*). *ICES Document C.M . 17*, 33p.

**Gatellier Ph., Gomez S., Gigaud V., Berri C., Le Bihan-Duval E. et Santé-Lhoutellier V. (2007).** Utilisation d'une méthode rapide et non destructive de mesure de l'oxydation des lipides dans la viande de poulet. Comparaison des génotypes standard, certifiée et label. *Septièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 28 et 29 mars 2007*.

**Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes . structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4 .162-169.

**Gill T.A. (1992).** Biochemical and chemical indices of seafood quality. In. H.H. Huss, M. Jacobsen and J. Liston (eds.) *Quality Assurance in the Fish Industry*. Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, August 1991. Elsevier, Amsterdam, 377-388.

**Guillaume Calu (2004).** L'eau et les plantes. *Mémoire bibliographique en Sciences Végétales*. P.19.

**Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. *Ed. Dunod, Paris*.

**Gurbuz I., Yesilada E. and Ito S. (2009).** An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology* 121. 360 -365.

**Haard, N.F. (1992).** Technological aspects of extending prume quality of seafood. A review. *J. Aqua. Food Prod. Technol.* 1. 9- 27.

**Hadi M. (2004).** La quercétine et ces dérivés. molécules à caractères pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. *Thèse Doct Univ. Louis Pasteur*.

**Hagerman A. E. and Butler L. G. (1978).** Protein precipitation method for quantitative determination of tannins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 26, pp: 809-812.

**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.

**Hayase F. et Kato M. (1984).** Antioxydant compounds of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. vetaminol.* 30, 37-46 p.

**Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie ; 1 : 3-6*.

**Hitara T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M. and Hongo D. (2009).** Identification and physiological evaluation of the components from *Citrus* fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17. 25-28.

**Hseu Y. C., Chang W. H., Chen C. S., Liao J.W. , Huang C. J., Lu F. J., Hia Y. C., Hseu H. K., Wu J. J. and Yang H. L.(2008).** Antioxidant activities of *Toona sinensis* leaves extracts using different antioxidant models. *Food and Chemical Toxicology*, 46, pp: 105-114.

**Hughes R.B. and Jones N.R. (1966).** Measurement of hypoxanthine concentration in canned herring as an index of the freshness of the raw material, with a comment on the flavour relations. *J. Sea Food Agree. 17.* 434-436.

**Huma Z., Vian M. A., Fabiano-Tixier A. S., Elmaataoui M., Dangles M. and Chemat F. (2011).** A remarkable influence of microwave extraction: Enhancement of antioxidant activity of extracted onion varieties. *Food Chemistry 127,* 1472–1480.

**Huss H.H. (1999).** La qualité et son évolution dans le poisson frais. *Laboratoire de technologie , Archives de Documents de la FAO, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, 17,* 213-334.

**Hyder, N , Abdelwahed, A , Kilani, S , Ben Ammar, R , Mahmoud, A , Ghedira, K and Chekir-Ghedira, L. (2004).** Anti-genotoxic and free- radical scavenging activities of extracts. *Journal of Clinical Nutrition, 74.* 418-425.

**Ito C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruabgrungsi N., Okuda T.,Tokuda H., Nishino H. and Furukawa H. (2005).** Chemical constituents of *Murraya siamensis*. three coumarins and their anti- tumor promoting effect. *Phytochemistry 66.* 567 -572.

**Jeanet R., Croguennec T., Schck P. et Brulé G. (2006).** Science des aliments. Biochimie-Microbiologie-Procédés-Produits. *Edition Tec & Doc, Lavoisier-Paris, 379p.*

**Jokić S., Velić D., Bilić M., Bucić-Kojić A., Plan inić M. and Tomas S. (2010).** Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *J. Food Sci. vol. 28. pp.* 206-212.

**Kablan B. J., Adiko M. et Abrogoua (2008).** Evaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie, 6,* pp: 282–288

**Karagozler, A, Erdag, B, Calmaz Emek, Y. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, *Food Chemistry*, 111: 400-407.

**Karou D., Dicko M.H., Simpore J. and Traore A.S. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4 (8) . 823-828.

**Kaushik S. J. (1997).** Nutrition-Alimentation et composition corporelle chez le poisson. *Cahier de Nutrition et de Diététique*, Vol. 32 (2), P. 100-106.

**Ketiku A. O. (1975).** The chemical composition of Nigerian onions (*Allium cepa*, Linn). *Nutrition Centre, Ibadan University, Ibadan, Nigeria.Fd. Chem.* 1, 41-47.

**Koffi E., Sea T., Dodehe Y. and Soro S. 2010.** Effect of solvent type on extraction of polyphénols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal & Plant Sciences. Vol. 5, Issue 3: 550- 558.*

**Koohmaraie M. (1992).** The role of Ca<sup>2+</sup>-dependent proteases in post mortem proteolysis and meat tenderness. *Biochimie* 74, 239-245.

**Ksouri R.; Falleh H.; Megdiche W.; Trabelsi N.; Mhamdi B.; Chaieb K.; Bakrouf A.; Magné C. and Abdelly C. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 47, pp: 2083-2091.

**Kubata BK., Nagamune K., Murakami N, Merkel P., Kabututua Z., Martin SK., Kalulug TM., Mustakuk H., Hoshida M., Ohnishi-kameyama M., Kinoshita T., Duszenko M. and Uradea Y. (2005).** *Kola acuminata* proanthocyanidins. a class of anti-trypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology* 35. 91- 103.

**Kurc G. (2009).** La biologie et la pêche des sardines en relation avec l'hydrologie. *Science et Pêche, Bull. Insf. Pêches marif.*, no 178.

**Kyu H. K. 2012.** Antimicrobial properties of *Allium* species. *Science Direct*, 23: 142-147.

**Lahouel M., Boulkour S., Segueni N. et Fillastre J.P. (2004).** Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par

inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52 . 314–322.

**Lall S. and Parazo M.P. (1995).** Fish and fishery products, *Ed. Ruiter A. CAB International, Oxon UK. Pp.157-186.*

**Lanzotti V. (2006).** The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A*, 1112,3–22.

**Lavoué S., Miya M., Saitoh K., Ishigur N.B. and Nishida M. (2007).** Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (Clupeiformes), inferred from whole mitogenome sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 43. 1096-1105.

**Lee J., Koo N. et Min D.B. (2004).** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safty*, 3. 21-33.

**Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., et Lee C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food Chemistry*. 51 : 7292-7295.

**Leonard T. R., Gregory W. T., Michael L. C., Gerald C, Bar-Or R. and Bar-Or D. (2004).** Lipid Peroxidation and the Thiobarbituric Acid Assay: Standardization of the Assay When Using Saturated and Unsaturated Fatty Acids. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 37, No. 6, pp. 749-752.

**Letaconnoux R. (1954).** Observation sur la Sardine des Açores et nouvelle contribution à l'étude du genre *Sardina*. *Vie et Milieu Tome IV, fasc. I.*

**Li H., Wang X., Li Y., Li P. et Wang H. (2009).** Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, 112 : 454–460.

**Liyana-Pathriana, C.M., 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.

**Lugasi A., Hovari J., Sagi, K. V. et Biro L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegedensis 1-4*, 119-125 p.

**Maas-van Berkel B., Van der Boogaard B. et Heijnen C. (2005).** La conservation du poisson et de la viande. *Agrodok 12*.

**Macheix J. J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Lavoisier Paris*, 1-28.

**Maillard M. N. (1996).** Antioxydant activity of barely and Malt, relationship with phenolic content. *Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris*.

**Marouf M. et Reynaud J. (2007).** La botanique de A à Z. *Ed. Dunod Paris 177p*.

**Matuschek E. and Svanberg U. (2005).** The effect of fruit extracts with polyphenol oxidase (PPO) activity on the in vitro accessibility of iron in high-tannin sorghum. *Food Chemistry*, 90 : 765-771.

**Meyer A., Deiana J. et Leclerc H. (1999).** Cours de microbiologie générale. *Ed. DOIN*. pp. 212-213.

**Michel Thomas (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification. Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). *Thèse Doct de l'université d'Orléans*.

**Mikkonen T.P., Määttä K.R., Hukkanen A.T., Kokko H.I., Törrönen A.R., Kärenlampi S.O. and Karjalainen R.O. (2001).** Flavonol content varies among black currant cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 49(7).3274-7.

**Miliauskas. G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*. 85 : 231-237.

**Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*, 26 (2) : 211-219.

**Monfort M.C. (2008).** Guide des espèces à l'usage des professionnels. *Seafood Choices, Alliance Produits de la mer.*

**Monpon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M. (2009) .** Extraction des polyphénols. Du laboratoire à la production industrielle. *Ed INRA-Paris.*

**Morelle-Lauzanne E. (2006).** L'alimentation, le stress oxydatif. Sources de lipoperoxydation, comment s'en protéger. *Phytothérapie, 5 . 234-240.*

**Morita, R.Y. (1975).** Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev. 39, 144-167.*

**MPO. (2013).** Sardine du Pacifique-examen des règles de contrôle des prises, biomasse et migration saisonnière en Colombie-Britannique pour 2013. *Secr.can.de consult.sci.du MPO, Avis Sci. 2013/037.*

**Murray J. and Burt J.R. (1969).** The composition of fish. *Torry Advis. Note 38, Torry Research Station, Aberdeen.*

**Najjaa H., Neffati M., Zouari S and Ammar E. (2007).** Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *C. R. Chimie 10, 820e826.*

**Najjaa H., Zouari S., Arnault I., Auger J., Ammar E. et Neffati M. (2011).** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Bot. Gallica, 158 (1), 111-123, 2011.*

**Nsemi Muanda François (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs activités biologiques. *Thèse Doct. de l'université de Paul Verlaine-Metz.*

**Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M. et Takahara Y. (1993).** Antioxydant activity of tannins and flavonoids in eucalyptus rostrata. *Phytochimie. 33, 557-561 p.*

**Okuda T., Kimura Y., Yoshida T., Hatano T., Okuda H. et Arichi S. (1983).** Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal and drugs. Inhibitory effects of lipid peroxydation in mitochondria and microsomes of liver. *Chem. Pharm. Bull. 31, 1625-1631 p.*

**Olivar M.P., Salat J., Palomera I. (2001).** Comparative study of spatial distribution patterns of the early stages of anchovy and pilchard in the NW Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series* 217. 111-120.

**Othman A., Ismail A., Abdul Ghani N. and Adenan I. (2007).** Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*, 100, pp: 1523-1530.

**Pelloté Fabrice (2008).** L'ail à tige triquètre (*Allium triquetrum*). <http://www.bretagne-environnement.org/especes-invasives>

**Pereira B-L., Cruz J. M., Sendón R., Bernaldo A-R., Quirós D., Ares A., Castro-López M., Abad M. J., Maroto J and Paseiro-Losada P. (2013).** Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. *Food Control* 31, 236-243.

**Peronny S, 2005.** La perception gustative et la consommation des tannins chez le Maki (Lemure Catta). *Thèse de doctorat en éco-éthologie, Muséum national d'histoire naturelle, France.* 22 p.

**Pietta, P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63. 1035-1042.

**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*, Tome I, PP. 558.

**Ravrn H., Andary C., Kovacs G. et Molgard P. (1984).** caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochimie. Syst. Ecol.* 17, 175-184 p.

**Refsgraard H.H.F., Brockhoff P.M.B. and Jensen B. (2000).** Free polyunsaturated fatty acids cause laste deterioration of Salmon during frozen storage. *Journal of Agricultural and Chemistry*, 48.3280-3285.

**Ribeiro S.M.R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knodler M. et Schieber A. (2008).** Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, 110 : 620–626.

**Ribereau G P (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. *Ed Dunod, Paris*, 254 p.

**Rodriguez-Vaquero M.J., Alberto M.R. and Manca de Nadra M.C. (2007).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18. 93-101.

**Saidana D., Mahjoub M.A., Boussaada O., Chriaac J., Chéraif I., Daami M., Mighri Z., and Helal A.N. (2008).** Chemical composition and antimicrobial activity of volatile compounds of *Tamarix boveana* (Tamaricaceae). *Microbiological Research*, 163. 445-455.

**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.

**Samuel A., Boyer J., Carbonneau M.E., Coulombe F., Coulombe N., Desbiens M., Leclerc L., Martin C. and Morin R. (2002).** Guide d'élevage des Salmonidés, fascicule12, Transformation. *Ministère de l'Agriculture Québec, des Pêcheries et de l'Alimentation*. ISBN, 133p.

**Sandhar H. K., Kumar B. , Prasher S., Tiwari P., Salhan M. and Sharma P. (2011).** A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1,25-41.

**Sannomiya M., Fonseca V B., Da silva M A., Rocha LRM. Dos Santos L C, Hiruma-Lima C A., Britoc A R M S and Vilegas W. (2005).** Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 97. 1- 6.

**Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** les polyphénols en agroalimentaire. *Collection Sciences et Techniques agroalimentaires. Lavoisier Tec & Doc, 2006, XX+398P. ISBN . 2-7430-0805-9.*

**Sato K., Ohashi C., Ohtsuki K. and Kawabata M. (1991).** Type V collagen trout (*Salmogairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. *J. Agric. Food Chem*, 39. 1222-1225.

**Schofeild P., Mbugua D. M. and Pell A. N. (2001).** Analysis of condensed tannins. a review. *Animal Feed Science and Technology* 91. 21-40.

**Shahidi F. et Naczk M. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054. 95-111.

**Shi H., Noguchi N. et Niki E. (2001).** Introducing natural antioxidants. Natural antioxidants. In "Antioxidants in food", ISBN: 0-8493-1222-1, PP: 147-155.

**Simin N., Orcic D., Cetojevic-Simin D., Mimica-Dukic N., Anackov G., Beara I., Mitic-Culafic & Bozin B. (2013).** Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of small yellow onion (*Allium flavum* L. subsp. *flavum*, Alliaceae. *LWT - Food Science and Technology* 54 . 139e146.

**Singh Brahma N., Singh B.R., Singh R.L., Prakash D., Singh D.P, Sarma B.K., Upadhyay G. & 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.

**Smyth T, Ramachandran V. N. and Smyth W. F. (2009).** A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents* 33. 421 - 426.

**Souguir Dalila (2009).** Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le Cadmium chez *Vicia faba*. *Thèse de Doctorat en Sciences biologiques, Université Tunisie ; 175p.*

**Stanojević L., Stanojević M., Nikolić V., Nikolić L., Ristić D., Čanadanovic-Brunet J. and Tumbas V. (2009).** Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Hieracium pilosella* L. Extracts. *Sensors*, 9, pp: 5702-5714.

**Tan, M. C., Tan, C. P. and Ho, C. W. (2013).** Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *International Food Research Journal* 20(6): 3117-3123.

**Tepe B., Sokmen M., Askin Akpulat H. and Sokmen A. (2006).** Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry* 95, 200–204.

**Tim Cushnie T.P. et Lamb A.J. (2005).** Review Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26 . 343–356.

**Toliara M. (1997).** *Guide pour le Traitement et la Valorisation du Poisson.* Projet intégré de la pêche traditionnelle sur la cote sud. Disponible sur . [www.fao.org/docrep/field/379683.html](http://www.fao.org/docrep/field/379683.html)

**Tripoli E., Guardia M. L., Giammanco S., Di Majo D. and Giammanco M. (2007).** Review Citrus flavonoids. Molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food chemistry* 104. 466 - 479.

**Tuara Patricia (1999).** Méthodes pratiques de conservation des produits de la mer, salage et séchage. Manuel de formation ; ISBN : 982-203-658-2.

**Umi T. et Unal M. (2005).** Properties of polyphenol oxidase from Anamur banana (*Musa cavendishii*). *Food Chemistry*, 100: 909–913.

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

**Yin M. and Tsao S. (1999).** Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* Species. *International Journal of Food Microbiology* 49, 49–56

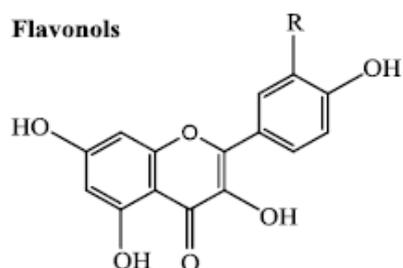
**Zouari S., Ketata M., Boudhrioua N. and Ammar E. (2013).** *Allium roseum* L. volatile compounds profile and antioxidant activity for chemotype discrimination–Case study of the wild plant of Sfax (Tunisia). *Industrial Crops and Products* 41, 172– 178.

# *Annexes*

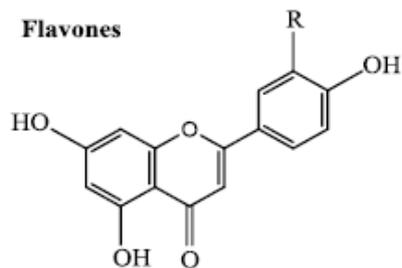
Les principales classes de composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2006).

Squelette carboné	Classe	Exemple
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques, Phenylpropenes	Acide caféique, acide férulique
	Coumarines	Myristicin, eugénol
	Isocoumarines	Scopolétine
	Chromones	Myristicine, eugénol
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Eugenine
	polyphénols	Juglone, plumbagine
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiférine
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol
	Anthraquinones	Anthraquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, daidzéine
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol
	Neolignanes	Eusiderine
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes	Amentoflavone
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines	
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés	

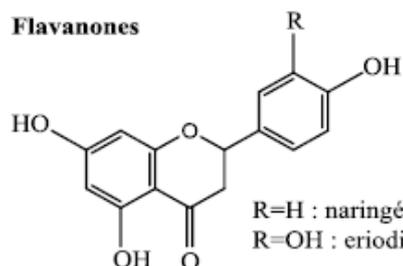
## Structures chimiques des flavonoïdes

**Flavonols**

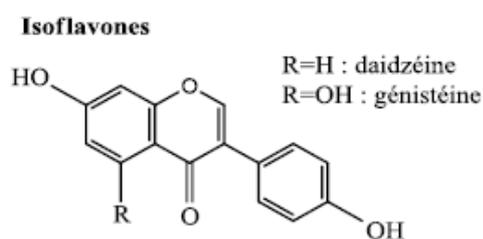
R=H : kaempférol  
R=OH : quercétine

**Flavones**

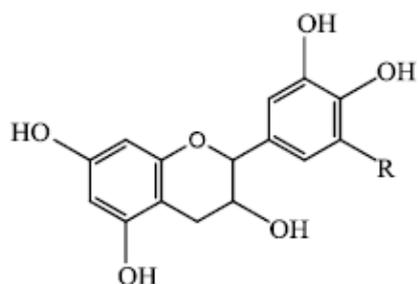
R=H : apigénine  
R=OH : lutéoline

**Flavanones**

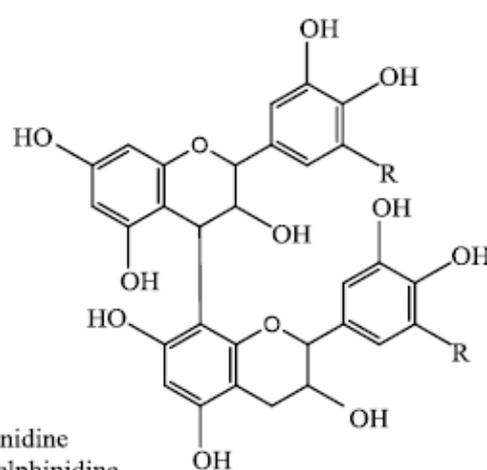
R=H : naringénine  
R=OH : eriodictyol

**Isoflavones**

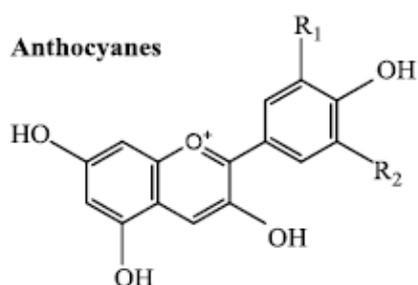
R=H : daidzéine  
R=OH : génistéine

**Flavanols**

R=H :  
catéchine, épicatechine  
R=OH :  
gallocatéchine

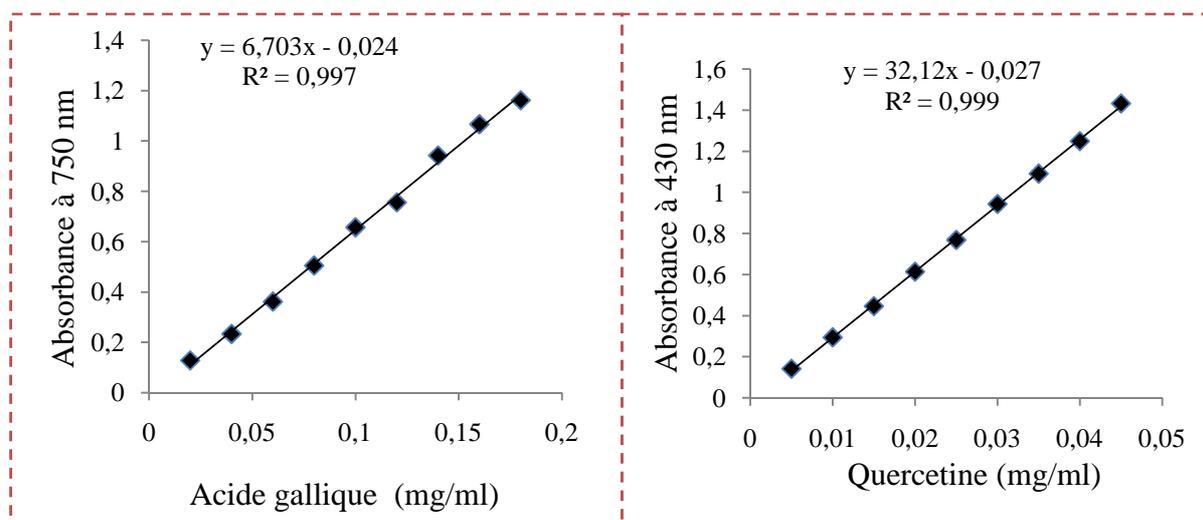


R=H : procyanidine  
R=OH : prodelphinidine

**Anthocyanes**

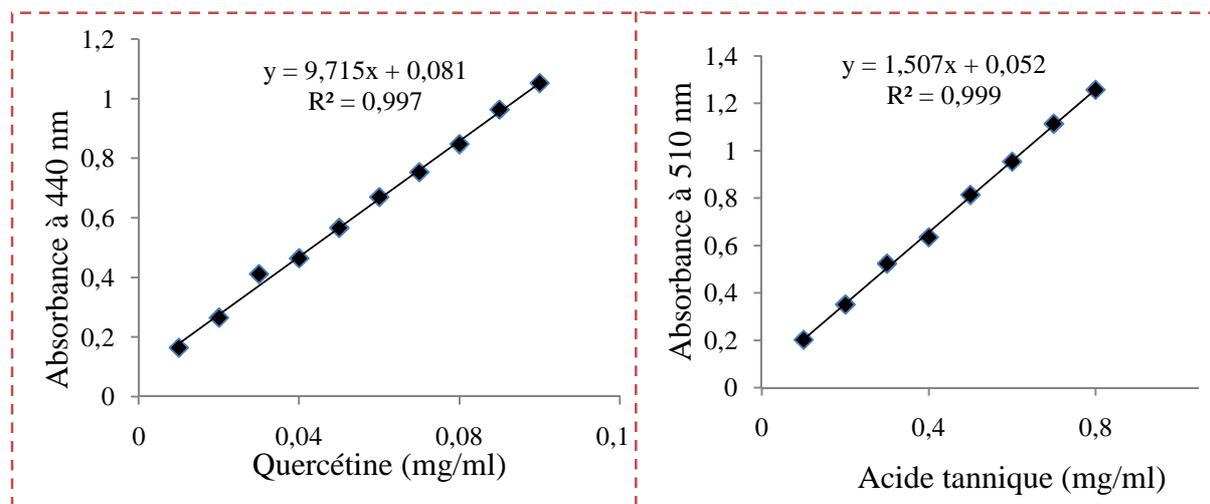
R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H : pélargonidine  
R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H : cyanidine  
R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=OH : delphinidine

Les courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.



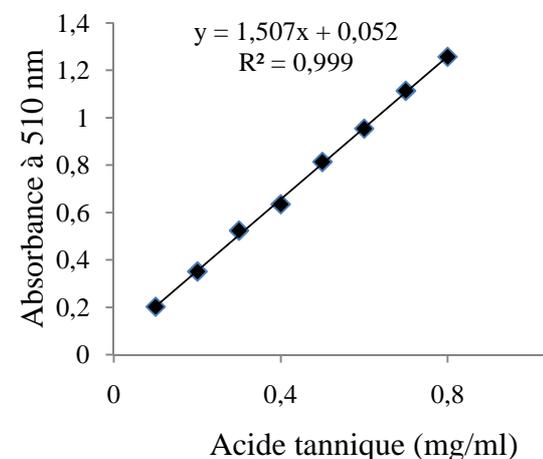
**Figure 1:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.

**Figure 2:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.



**Figure 3:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonols.

**Figure 4:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des tannins.



Préparation des solutions pour le dosage des tannins

- Un gramme (1 g) de BSA dans un litre (1 L) de tampon acétate

Tampon acétate à pH = 5 { Acide acétique : 0,20 M  
Chlorure de sodium : 0,17 M  
pH ajusté à 5

- Pour la solution SDS/TEA : Mettre 50 ml de TEA et 10g de SDS dans une fiole de 1000 ; ajuster au trait de jauge avec l'eau distillée en agitation continue (pour éviter d'avoir des bulles de détergent qui vont fausser l'ajustement).









## Composition des milieux préparés

### Gélose nutritive

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	15 g
	pH = 7,2

### Bouillon nutritif

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
	pH= 7,2

### Eau physiologique

Chlorure de sodium.....	9 g/l
-------------------------	-------

Répartir dans les tubes à essais, les mettre dans un autoclave pendant 20 minutes à 120°C.

# *Glossaire*

**Actinomorphe** : Symétrie axiale des pièces d'une fleur (sépalés, pétales, étamines).

**Analgésique** : Qui calme ou atténue les douleurs.

**Androcée** : Organes mâles de la fleur (étamines, anthères).

**Angiosperme** : Sous-embranchements groupant les plantes dont les ovules sont enfermés dans un ovaire clos (dans un fruit). En principe il englobe les plantes à fleurs, excepté les conifères.

**Anthère** : Partie terminale de l'étamine qui renferme le pollen.

**Anthèse** : La période pendant laquelle une fleur est complètement ouverte et fonctionnelle.

**Anti-carcinogène** : Anti-cancérogène.

**Antispasmodique** : Qui agit contre les spasmes, les convulsions, les crampes...

**Athérome** : Dépôt lipidique jaune, qui se forme sur les parois internes des artères et qui se calcifie ou s'ulcère.

**Bactéricide** : Qualificatif attribué aux antibiotiques qui agissent sur les bactéries en les détruisant.

**Bactériostatique** : Agent qui inhibe la croissance et la reproduction des bactéries sans les détruire.

**Barochore** : Par gravité, à proximité de la plante mère.

**Bractée = Spathe** : Petite feuille qui recouvre la fleur avant son développement, située à la base du pédoncule floral.

**Caduc** : Se dit des feuilles qui tombent chaque année.

**Chasmogamie** : Comportement d'une fleur qui s'ouvre au moment où s'opère la pollinisation, rendant ainsi possible la fécondation croisée.

**Friches** : Terrains non cultivés.

**Hydroxyproline** : Acide aminé jouant un rôle déterminant dans la résistance mécanique du tissu conjonctif.

**Inflorescence** : Ensemble de fleurs groupées en capitule, en épi, en ombelle, en grappe ...

**Monocotylédones** : Plantes dont la graine n'a qu'un seul cotylédon.

**Phytoalexines** : Substances de défense que les plantes vertes synthétisent en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou des bactéries.

**Pistil** : Organe femelle de la fleur (gynécée), constitué d'un ou de plusieurs carpelles, et comprenant l'ovaire, le style et le stigmate.

**Poisseuse** : Gluante, collante.

**Provitamine** : Précurseur d'une vitamine qui se transforme en vitamine dans l'organisme.

**Spathe** : Bractée enveloppant une inflorescence ou parfois une simple fleur.

**Supère** : L'ovaire est placé au dessus des pétales, sépales et étamines.

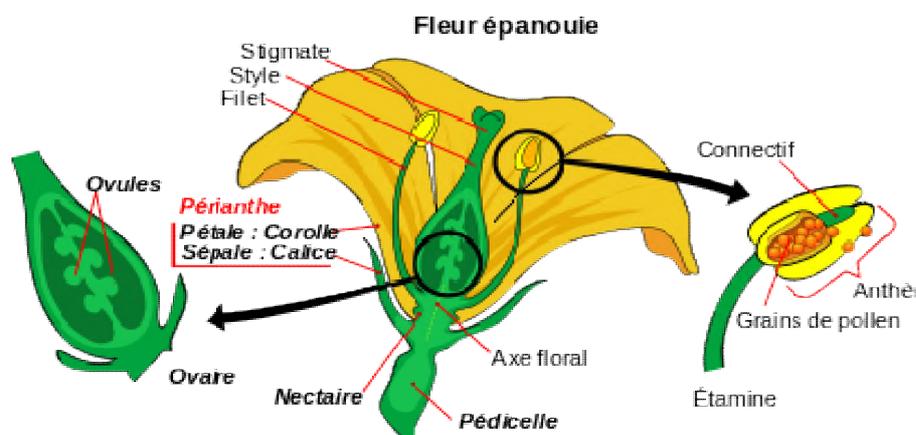
**Symbiose** : Association biologique, durable et réciproquement profitable, entre deux organismes vivants.

**Téléostéens** : Superordre de poisson osseux dont le squelette est complet.

**Tépale** : Une pièce florale externe et interne du périanthe, dont on ne peut pas dire s'il s'agit de pétale ou de sépale, lorsque les deux ont la même apparence. L'ensemble des tépales d'une fleur est appelé périgone.

**Thrombose** : Formation d'un caillot dans un vaisseau sanguin.

**Voie végétative** : Multiplication asexuée, comme bouturage (bouture) et marcottage (racines).



## Résumé

✚ Ce travail vise à la valorisation d'*Allium triquetrum L.* par la quantification de ses composés phénoliques ainsi que l'étude de leurs effets antioxydant et antimicrobien. Le meilleur extrait phénolique a été retenu et appliqué sur la sardine commune pour prévenir, ainsi, sa dégradation.

✚ L'extraction des polyphénols des feuilles et des bulbes a été effectuée par une méthode conventionnelle (macération) et une autre innovante (micro-ondes), en utilisant trois systèmes de solvants à 70% (acétone, éthanol, méthanol). Nous avons constaté que les échantillons irradiés pendant trois minutes ont donné les meilleurs rendements.

✚ A des fins comparatives sont quantifiés les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tannins des différents extraits. Il s'est avéré que les feuilles en renferment des quantités plus importantes que les bulbes. De même, l'extraction assistée par micro-ondes, en utilisant l'acétone et l'éthanol, était la meilleure procédure d'extraction de ces composés bioactifs.

✚ L'activité antioxydante des extraits retenus (FA, FA3, FE, FE3, BA, BE3) a été évaluée par trois méthodes : la méthode FRAP, la méthode au DPPH et celle du blanchissement du  $\beta$ -carotène. Les résultats ont prouvé que les extraits des feuilles exercent un effet antioxydant notable par rapport à ceux des bulbes. L'extrait FA3 semble être le meilleur mais moins puissant que le BHA, pris comme standard.

Une corrélation entre la teneur de ces extraits en flavonoïdes et l'activité antioxydante est fortement significative ( $R^2 > 0.95$  ;  $p < 0.05$ ) et même plus significative que celle obtenue avec les phénols totaux et les tannins.

✚ Le potentiel antibactérien de ces extraits (FA, FA3, FE, FE3, BA, BE3) a été testé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ; vis-à-vis de *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus* ATCC43300, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853. Une activité antibactérienne modérée des extraits acétoniques des feuilles, vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* a été notée ; à une charge de 1000  $\mu\text{g}$ /disque.

✚ Pour tester l'efficacité de l'extrait FA3, nous l'avons appliqué sur la sardine (*Sardina pilchardus*) à des concentrations de 10, 25 et 50 mg/ml durant 10 jours de conservation à 6°C, en utilisant la méthode des TBARS. Les résultats ont montré que cet extrait a significativement réduit l'oxydation des lipides de la sardine.

---

**Mots clés :** *Allium triquetrum L.*, activité antioxydante, activité antimicrobienne, polyphénols, *Sardina pilchardus*.

## **Abstract :**

✚ This work aims at the valorization of *Allium triquetrum L.* by quantification of its phenolic compounds to study their antioxidant and antibacterial effects. The best phenolic extract was tested to prevent sardine deterioration.

✚ The extraction of polyphénols from leaves and bulbs was carried out by a conventional method (maceration) and the innovative one (microwave), using three solvent systems (acetone, ethanol, methanol) at 70%. We found that samples irradiated for three minutes gave the best yields.

✚ For comparative purposes, total phenolics, flavonoïds and tannins are quantified from the different extracts. It found that leaves content is higher than that of bulbs. Extraction assisted by microwave, using acetone and ethanol, was best procedure of extraction of these bioactive compounds.

✚ The antioxidant activity of selected extracts (FA, FA3, FE, FE3, BA, BE3) was evaluated by the means of three methods: FRAP method, DPPH essay and the  $\beta$ -carotene bleaching method. Results displayed that leaves extracts exercise notable antioxydant effect than the bulbs ones. The extract FA3 appears the best but less powerful than BHA which is used as standard.

A correlation between these extracts content's of flavonoïds and antioxidant was highly significant ( $R^2 > 0.95$ ;  $p < 0.05$ ) and even more significant than that obtained with total phenols and tannins.

✚ Antibacterial potential of these extracts (FA, FA3, FE, FE3, BA, BE3) was tested by the Agar-well diffusion method against *Bacillus subtilis ATCC6633*, *Staphylococcus aureus ATCC43300*, *Escherichia coli ATCC25922* and *Pseudomonas aeruginosa ATCC27853*. A moderate antibacterial activity of acetone extracts of leaves against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was noted with a load of 1000  $\mu\text{g/disk}$ .

✚ The extract FA3 has been tested for its efficacy upon sardine with a concentration of 10, 25 and 50 mg/ml during 10 days of conservation at 6°C, using the TBARS method. The results showed that this extract reduce significantly the oxidation of sardine's lipids.

---

**Keywords:** *Allium triquetrum L.*, antioxidant activity, antimicrobial activity, polyphenols, *Sardina pichardus*.

## الملخص

يتركز هذا العمل على إبراز قيمة نبتة "ثوم الغابة" عن طريق قياس المركبات الفينولية و دراسة فعاليتها المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا. تم استخراج أفضل مستخلص فينولي لاستعماله في وقاية السردين الشائع من الفساد.

تم استخراج المستخلصات الخامة من أوراق و بصل هذه النبتة بطريقة النقع و الطريقة المبتكرة (الميكروويف) ، و هذا باستعمال ثلاث أنظمة من المذيبات (الأسيتون، الايثانول، الميثانول). سجلنا بأن العينات المشعة لثلاث دقائق أعطت أفضل مردودا.

لغرض المقارنة، تم تعيين كمية كل من الفينول الاجمالي، الفلافونويدات و التانينات من مختلف المستخلصات. وجدنا أن الأوراق تحتوى على كميات هائلة من هذه المركبات أكثر من بصلات هذه النبتة. من جهة أخرى، الاستخراج بالطريقة المبتكرة، و بإستعمال الأسيتون و الايثانول، كانت أفضل طريقة لاستخلاص هذه المركبات النشطة بيولوجيا من هذه النبتة.

تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الستة المختارة FA, FA3, FE, FE3, BA, BE3 بالطرق التالية قوة إرجاع الحديد، قوة تثبيط الجدر الحر DPPH و اختبار تبييض ال  $\beta$ carotène.

أظهرت النتائج أن لمستخلصات الأوراق تأثير مضاد للأكسدة أكبر من البصلات . يبدو أن FA3 أفضل مضاد للأكسدة لكنه أقل قوة من BHA المستخلص الذي أخذ كمعيار.

لقد وجدنا ارتباط قوى بين محتوى هذه المستخلصات من الفلافونويدات و النشاط المضاد للأكسدة ، هذا الارتباط أكثر أهمية من الذى تم الحصول عليه مع الفينول الاجمالي و التانينات.

تم تقييم الفعل المضاد للبكتيريا، للمستخلصات الستة، عن طريق النشر فى وسط اغار، ضد أربع سلالات بكتيرية (*Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus* ATCC43300, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas aerogenosa* ATCC27853)

لوحظ أن هناك نشاط مضاد للبكتيريا معتدل لمستخلصات الأسيتون للأوراق ضد سلالتين *Escherichia coli aeruginosa* *Staphylococcus aureus*

وذلك عند التركيز 100ملغ مل.

درسنا فعالية المستخلص FA3 على السردين الشائع بالتركيزات 10، 25 و 50 ملغ مل خلال 10 أيام من حفاظه في 6°م. أظهرت النتائج أن هذا المستخلص قادر على إرجاع أكسدة دهنيات السردين.

---

## الكلمات الدالة

*Allium triquetrum* L.، الفعل المضاد للأكسدة، الفعل المضاد للبكتيريا، الفينولات الخامة، السردين الشائع.