

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb de Blida1
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire présenté par

RAMDANE Ghania

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : **Chimie des Substances Naturelles**

Titre

**Extraction et étude des activités antioxydante et
antimicrobienne des composés phénoliques de
l'espèce « *Allium cepa. L* »**

Soutenu publiquement en 27 Juin 2016 devant le jury composé de :

| | | | |
|-------------|------|--------------|---------------------|
| A.BADIS | Prof | Président | Université de Blida |
| N.BOUZIDI | MCB | Examinatrice | Université de Blida |
| K. BOUTEMAK | MCB | Promotrice | Université de Blida |

Promotion 2015-2016

Remerciements

En premier lieu, je remercie Allah de m'avoir donné la volonté, la santé pour réaliser ce travail.

Tout d'abord je tiens surtout à adresser mes plus vifs remerciements à Mme BOUTEMAK Khalida, ma promotrice durant cette année qui m'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, Merci pour votre encadrement efficace, votre disponibilité. Merci pour votre compréhension, votre grande gentillesse

Je tiens particulièrement à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail :

- Monsieur A.BADIS, d'avoir accepté de juger ce travail et de me faire l'honneur de présider ce jury. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.
- Mme N.BOUZIDI d'avoir accepté de juger ce travail. Soyez assurée de ma profonde gratitude.

Mes sincères remerciements s'adressent plus spécialement à Mr M. EL-HATTAB à Mr A.BADIS, Mme O.TOUAFEK, Mme Y. DAGHBOUCHE, Mme N. BOUZIDI et Mme S. KASMI qui ont fournis beaucoup d'efforts durant tout le long du cycle Master.

J'exprime ma profonde gratitude à tous les ingénieurs du Laboratoire de Chimie notamment Madame Asma, Monsieur Issa ainsi que Melle Boudjemaa Amina pour m'y avoir accueillie durant la réalisation de ce travail.

Je réserve une attention toute particulière à toute l'équipe de Laboratoire d'hygiène/ Blida notamment Monsieur J. Tafahi de m'avoir donné toutes les facilitations durant la réalisation de l'étude de l'activité antimicrobienne au sein de leur laboratoire d'analyse.

A tous les étudiants de Master de la promotion 2016.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents

A mes très chers parents, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études.

Que dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A ma très chère sœur Amina et son époux Amine

A mon frère Said Ahmed, Pour leurs soutiens tout le long de mes études

A mes chers nièces Raounake et Yasmine

Que j'aime profondément, que dieu les protège.

A mes amies ainsi que les étudiants de ma promotion de Master

A tous ceux qui m'aiment

Ghania

ملخص

هذا العمل يهدف الى استخراج البوليفينولات العامة من البصل الأحمر ودراسة اثر بعض العوامل كالحموضة، التجفيف، طريقة الطهو وكيفية الاستخلاص على مردود و كمية البوليفينولات العامة و النشاط الضد تأكسدي والميكروبي للمستخلصات الفينولية للبصل الاحمر. هذه المستخلصات تختلف عن بعضها البعض نظرا إلى الطريقة التي استخلصت بها ونوعية المعالجة التي خضعت لها عينات البصل الأحمر قبيل الاستخلاص، تحليل هذه المستخلصات عن طريق (CCM) اوضح وجود مركبات فينولية و هذا ما تم تأكيده بعد تقدير البوليفينولات العامة بواسطة طريقة (Folin Ciocalteu) حيث سجل E.O.F اعلى كمية 11.2 مغ مكافئ حمض الغال /غ من المستخلص. نشاط المستخلصات المضاد للأكسدة تم قياسه بواسطة اختبار. DPPH و النتائج المتحصل عليها اوضحت ان المستخلص E.O.F يملك نشاط ضد الاكسدة مرتفع. تأثير مستخلصات البصل الأحمر للمضاد للميكروبات درس بواسطة تقنية الانتشار في الاوساط الصلبة (Méthode Des Disques) و النتائج بينت ان المستخلصات تملك نشاط ضد الميكروبات يختلف على حسب البكتيريا او الفطر المدروس.

الكلمات المفتاحية: البصل الاحمر، البوليفينولات العامة، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات.

Résumé

Ce travail a pour objectif l'extraction des polyphénols à partir de l'espèce *Allium cepa* et étudier l'effet de certains paramètres tel que l'acidité, le séchage, le mode de cuisson et la méthode d'extraction (aqueux, hydro alcoolique par macération et hydro alcoolique assisté à l'ultrason) sur le rendement, la teneur des poly phénols totaux, l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques d'*Allium cepa*. Ces extraits sont différents les uns des autres par rapport à la méthode d'extraction et les traitements appliqués sur les échantillons (l'oignon rouge) avant l'extraction. L'extrait hydro alcoolique assisté par ultrason (E.U.s) a donné le meilleur rendement d'extraction (10,1%) L'analyse de ces extraits par CCM a révélé la présence des composés phénoliques. La teneur des polyphénols totaux mesurée par la méthode de Follin Ciocalteu a montré que l'extrait d'oignon frais présentait la teneur la plus élevée (11.2 mg EAG/g d'extraits). L'activité antioxydante des extraits a été mesurée par la méthode .du test DPPH, Les résultats montrent que l'extrait hydro alcoolique d'oignon frais présente le pouvoir anti radicalaire le plus fort. L'effet antimicrobien des extraits est évalué par la technique de diffusion sur les milieux solides (méthode des disques). Les résultats montrent que les extraits d'oignon possèdent une activité anti microbienne vis-à-vis la souche étudiée

Mots clés : *Allium cepa*, polyphénols totaux, l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne.

Abstract

This work aims extracting polyphenols from the species *Allium Cepa* and study the effect of some parameters such as acidity, drying, cooking method and the method of extraction (aqueous, hydro-alcoholic maceration and hydro alcoholic attended ultrasound) on Performance, the content of poly total phenols, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic extracts of *Allium Cepa*. These extracts are different from each other with respect to the extraction method and the treatments applied to the samples (red onion) before extraction. The extract hydro-alcoholic assisted by ultrasound (E.U.s) gave the best extraction efficiency (10.1%) The analysis of these extracts by TLC revealed the presence of phenolic compounds. The content of total polyphenols measured by the method of Follin Ciocalteu showed that the extract of fresh onions had the highest content (11.2 mg EAG / g extracts). The antioxidant activity of the extracts was measured by the DPPH test method; the results show that the extract hydro-alcoholic fresh onion shows the anti-radical power stronger. The antimicrobial effect of the extracts was evaluated by diffusion technique on solid media (disc method). The results show that the onion extracts possess anti-microbial activity vis-à-vis the strain studied

Keywords: *Allium Cepa*, total polyphenols, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Liste des abréviations

PH : Potentiel Hydrogène.

°C : Degré Celsius.

% : Pourcentage.

E.O.CV : Extrait hydro alcoolique d'Oignon Cuit à la Vapeur.

E.O.AC : Extrait hydro alcoolique d'Oignon Acidifié.

E.O.B : Extrait hydro alcoolique d'Oignon Bouillie.

E.O.F : Extrait hydro alcoolique d'Oignon Frais.

E.O.S : Extrait hydro alcoolique d'Oignon Sec.

E.Aq : Extrait Aqueux.

E.Us : Extrait hydro alcoolique assisté au Ultrasons.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

mg EAG/ g : Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

PPT : Poly Phénol Totaux.

ml : Millilitre.

min : Minute.

nm : Nanomètre.

Rf : Rapport frontal.

UV : Ultra-Violet.

Vis : Visible.

Vit C : Vitamine C.

g : Gramme.

IC₅₀ : Concentration d'Inhibition requise pour diminuer la concentration initiale de 50%.

mg : Milligramme.

DPPH : 2,2-Diphenylpicrylhydrazyl.

| | |
|--|----|
| Figure 20: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.S..... | 46 |
| Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.B..... | 46 |
| Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.CV..... | 47 |
| Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.Ac | 47 |
| Figure 24 : Représentation graphique des extraits et d'antioxydant standard selon leurs ARP « test DPPH »..... | 48 |
| Figure 25 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Staphylococcus aureus</i> | 51 |
| Figure 26 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 51 |
| Figure 27 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Escherichia coli</i> | 52 |
| Figure 28 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Bacillus</i> | 52 |
| Figure 29 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Candida albicans</i> | 54 |
| Figure 30: Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 54 |
| Figure 31 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Aspergillus</i> | 54 |
| Figure 32: Photographies explicatives des étapes des différentes extractions des composés phénoliques | 61 |
| Figure 33: Photographies représentatives du changement de couleur de l'acide gallique au dosage des PPT par la méthode de Follin Ciocalteu..... | 62 |
| Figure 34 : Photographies représentatives du changement de couleur de l'acide ascorbique au test de piégeage du radical libre DPPH..... | 63 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: Composition chimique d'huile essentielle d' <i>Allium cepa</i> | 8 |
| Tableau 2: Principaux producteurs mondiaux de l'oignon sec en 2003 en tonnes..... | 11 |
| Tableau 3: Les flavonoides d' <i>Allium cepa</i> L..... | 20 |
| Tableau 4: Les composés phénoliques dans <i>L'Allium cepa</i> L..... | 21 |
| Tableau 5: les conditions opératoires d'extraction assisté par ultrasons..... | 27 |
| Tableau 6 : les systèmes utilisé en CCM sur gel de silice | 28 |
| Tableau 7 : Relation entre le diamètre d'inhibition et la sensibilité des souches..... | 35 |
| Tableau 8 : Rendement d'extraction des composés phénoliques d' <i>Allium cepa</i> | 36 |
| Tableau 9: Les propriétés organoleptiques des extraits d' <i>Allium cepa</i> | 38 |
| Tableau 10 : Les rapports frontaux R_f des différents CCM d'extrait et du témoin..... | 40 |
| Tableau 11 : Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique..... | 41 |
| Tableau 12 : les teneurs des poly phénols totaux des extraits d' <i>Allium cepa</i> | 42 |
| Tableau 13 : La variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'antioxydant standard..... | 43 |
| Tableau 14 : La variation les valeurs d' IC_{50} et ARP pour chaque extrait et pour l'antioxydant standard..... | 48 |
| Tableau 15 : Activité antibactérienne de l'extrait phénolique sur milieu Mueller Hinto (mm)..... | 50 |
| Tableau 16 : Activité antifongique de l'extrait phénolique sur milieu Sabouraud (mm)..... | 53 |
| Tableau 17: La variation des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits..... | 64 |

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

| | |
|--|----|
| Introduction générale | 1 |
| Chapitre 1 : Généralités sur l'<i>Allium cepa</i> L. | |
| 1. Historique | 2 |
| 2. Classification botanique..... | 2 |
| 3. Description botanique | 3 |
| 4. La culture d'oignon | 4 |
| 5. Composition chimique | 6 |
| 6. Activité biologique | 9 |
| 6.1 Activité hypoglycémiant | 9 |
| 6.2 Activité antibactérienne..... | 9 |
| 6.3 Activité antioxydante | 10 |
| 6.4 Activité anti-cancérigène et anti-muta génique..... | 10 |
| 6.5 Anti-agrégant plaquettaire | 11 |
| 6.6 Activité Anti-inflammatoire..... | 11 |
| 7. Situation économique | 11 |
| Chapitre 2 : Généralités sur les composés Phénoliques | |
| 1. Définition et structure | 12 |
| 2. Classes des composés phénolique..... | 12 |
| 2.1 Flavonoïdes | 12 |
| 2.2 Anthocyanosides..... | 13 |
| 2.3 Tannins | 13 |
| 2.4 Les non flavonoides | 14 |

| | |
|--|----|
| 2.4.1 Phénols simples et les acides phénoliques | 14 |
| 2.4.2 Coumarines | 14 |
| 2.4.3 Stilbène | 14 |
| 2.4.4 Lignanes | 15 |
| 2.8 Lignines | 15 |
| 3. Rôle des composés phénoliques | 15 |
| 3.1 Rôle physiologique | 15 |
| 3.2 Rôle technologique | 15 |
| 3.3 Rôle nutritionnel et thérapeutique | 16 |
| 3.4 Rôle antimicrobien | 16 |
| 3.5. Rôle antioxydant | 16 |
| 4. Propriétés chimiques des polyphénols | 17 |
| 4.1 Nucléophilie | 17 |
| 4.2 Propriétés réductrices | 18 |
| 4.3 Polarisabilité | 18 |
| 4.4 Liaison hydrogène | 18 |
| 4.5 Acidité | 19 |
| 5. Les composées Phénoliques d' <i>Allium cepa L</i> | 19 |
| 5.1 Les flavonoides | 19 |
| 5.2 Les Phénols simples et les acides phénoliques | 20 |
| 5.3 Anthocyanosides | 20 |

PARTIE EXPERIMENTALE**Chapitre 3 : Matériel et Méthodes**

| | |
|---|----|
| Introduction | 22 |
| 1. Matériel | 24 |
| 1.1 Matière végétale | 24 |
| 1.2 Réactifs chimiques | 24 |
| 2. Extraction hydro alcoolique classique (macération) | 24 |
| 2.1 Prétraitement de l'oignon rouge | 25 |
| 2.1.1 Traitement de l'oignon par macération dans un milieu acide pH=4 | 25 |
| 2.1.2 Séchage | 25 |
| 2.1.3. Cuisson à la vapeur | 25 |
| 2.1.4. Décoction | 25 |
| 2.2. Protocole expérimental de l'extraction hydro alcoolique classique | 25 |
| 3. Extraction assistée par ultrasons | 26 |
| 4. Préparation de l'extrait aqueux | 27 |
| 5. Caractérisation qualitative et quantitative des poly phénols totaux des extraits | 28 |
| 5.1. Caractérisation qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM) | 28 |
| 5.2 Caractérisation quantitative par la méthode de Follin Ciocalteu | 30 |
| 6. Evaluation de l'activité antioxydante | 32 |
| 7. Etude de l'activité antimicrobienne | 34 |
| Chapitre 4 : Résultats et Discussions | |
| 1. Extraction des polyphénols d' <i>Allium cepa</i> | 36 |
| 2. Caractérisation qualitative et quantitative des poly phénols totaux des extraits | 39 |

| | |
|---|----|
| 2.1. Caractérisation qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM) ----- | 39 |
| 2.2. Caractérisation quantitative par la méthode de Follin Ciocalteu ----- | 40 |
| 3. Evaluation de l'activité antioxydante ----- | 43 |
| 4. Etude de l'activité antimicrobienne ----- | 49 |
| | |
| Conclusion et perspectives ----- | 55 |
| Références bibliographiques ----- | 56 |
| Annexe ----- | 60 |

INTROUCTION



SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE



1. Historique

Le terme « oignon » est apparu dans la langue française en 1273. La forme définitive, « oignon », apparaîtra au XIV^e siècle. Le mot vient du latin populaire *unio*, *unionis*. Pourquoi *unio*. Tout simplement parce que l'oignon est l'une des rares alliées dont le bulbe ne se divise pas et est donc uni [1]. Bien qu'on n'ait pas trouvé l'ancêtre sauvage de l'oignon, son premier centre de domestication pourrait être le sud-ouest asiatique. C'est d'ailleurs certainement l'un des légumes les plus anciennement cultivés (depuis 5000ans). On en fait mention dans des textes de l'Égypte antique datant de plus de 4 000 ans, ainsi que dans la Bible où l'on rapporte que, durant leur exode (1 500 ans avant notre ère). En Grèce et à Rome, on en cultivait déjà de nombreuses variétés. Les Romains lui consacraient même des jardins particuliers, les *cepinae*. Malgré tout, même si on en cultivait déjà quelques variétés au IX^e siècle, l'oignon ne sera vraiment populaire en Europe qu'au Moyen Âge. Ce sera l'une des premières plantes européennes à être cultivées en Amérique, d'abord dans les Caraïbes, où Christophe Colomb l'y introduira. Au XVII^e siècle, il est établi dans le nord des États-Unis de même qu'au Canada. Pour l'ancienne Chine il était le symbole de l'intelligence. Aujourd'hui, on le produit dans toutes les régions tempérées du globe et des essais visant à l'implanter dans les régions semi-désertiques sont en cours [2,3].

2. Classification botanique

- Royaume : *Plante*.
- Sous royaume : *Trachéophyte*.
- Embranchement : *Spermatophytes ou Phanérogames*.
- Sous embranchement : *Angiosperme*.
- Classe : *Monocotyledonae*.
- Sous classe : *Liliidae*.
- Ordre : *Liliales*.
- Famille : *Liliaceae ou Liliacées*.
- Genre : *Allium*.
- Espèce : *Allium cepa* L. [4].



Figure 1 : Plante de l'oignon et sa fleur

Dénomination vernaculaire

- Nom en Français: Oignon.
- Nom en Anglais: Onion.
- Nom en Arabe: بصل

3. Description botanique

Plante herbacée, glabre, d'environ 80cm de haut (peut atteindre 1,2m) [5]. Vivace caractérisée par une bulbe volumineux, charnu [6], ordinairement simple, parfois avec des caïeux, arrondi plus ou moins déprimé ou ové, gros ou très gros, à tuniques membraneuses non lacérées, blanches, jaunes, rousse ou violacé [7]. C'est une espèce à tige florifère dressée et creuse, fortement renflée fusiforme. À feuilles généralement cylindriques d'un vert bleuâtre, creuses également, aiguës au sommet. Les fleurs (inflorescence) sont blanches ou rose-violacées. Elles sont groupées en une très grosse ombelle, atteignant 10 cm de diamètre, ronde subglobuleuse munie de 2 à 4 bractées [6, 7], elles sont recouvertes initialement par une spathe membraneuse [8]. Périanthe à 6 sépales blanchâtres ou verdâtres en étoile soudées à la base et 6 étamines [9]. Le fruit est une capsule, les graines noires $n = 8$ [9,7]. L'oignon est caractérisé par son odeur et son goût fort, surtout lorsqu'il est écrasé ou coupé, en plus il stimule la lacrymation [10]. Comme pour la plupart des légumes et des fruits, il existe beaucoup de variétés chez l'oignon. Les oignons sont généralement de trois couleurs différentes : les oignons rouges (var. Rouge Amposta), les oignons blancs (var. Blanc), Les oignons jaunes (var. Jaune d'Espagne) [21].

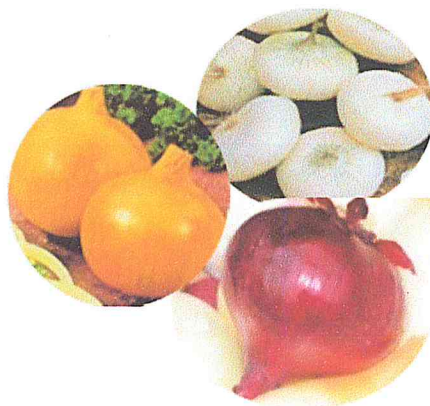


Figure 2: Les variétés d'Allium cepa L

4. La culture de l'oignon

4.1 Développement de la plante

L'état de développement de la plante au moment de la bulbification intervient de manière sensible dans le volume définitif du bulbe. La partie supérieure des graines ne s'élargit pas, une sorte d'étranglement ou "collet" constituant le sommet du bulbe. De par sa densité et sa forte teneur en eau cette zone est extrêmement sensible à l'attaque des champignons. Le grossissement du bulbe se poursuit activement durant 6 à 8 semaines puis le collet se ramollit, ses limbes perdent leur turgescence et se couchent.

Une série de critères, constituant les bases d'une classification des types variétaux :

*couleur : oignons blancs ou de couleur (jaune, rouge, rose)

*forme

*époque de semis et de bulbification [11].

Facteurs de l'environnement

Climat : Cette plante de climat tempéré [12], demande une période de chaleur et de lumière au moment de la tubérisation. C'est aussi à ce moment que ses besoins en eau sont les plus élevés. Une certaine sécheresse est ensuite nécessaire à l'arrêt de la végétation ; elle permet la maturation du bulbe [13].

La bulbification est essentiellement commandée par la longueur du jour ; l'espèce est dite de jour long pour sa tubérisation ; signifie qu'il existe une limite de durée d'éclairement en deçà de laquelle le phénomène ne peut s'accomplir. Les températures élevées favorisent la bulbification, le grossissement et la maturité ainsi que l'installation de la dormance [11].

Sol et nutrition minérale : L'oignon préfère des sols légers et fertiles [12], peu profond, bien drainés, ayant une bonne capacité d'échange, du fait de son système racinaire peu développé. Il est peu liant à l'acidité du sol à $\text{PH} > 6-6,5$ [13, 11]. Il doit satisfaire ses besoins à partir d'un volume d'eau relativement réduit. [11]. En cours de bulbification, une synthèse importante de glucides simples est indispensable, elle est favorisée par le potassium (métabolisme de l'eau) et par le phosphore (transfert d'énergie) [11]. En revanche, l'azote nécessaire à la formation du bulbe, provient en grande partie des feuilles : les composés protéiques des feuilles sont progressivement hydrolysés ; les produits migrant vers le bulbe [11].

Production : Le calibre moyen de l'oignon est : 30/50 mm. Les pratiques culturales favorisent le plus possible le taux de matière sèche tout en préservant un rendement pondéral élevé ; irrigation strictement limitée aux besoins et suspendue dès la fin du grossissement du bulbe [11].

4.2 Récolte, conservation et conditionnement

Récolte : La récolte de l'oignon de couleur se fait de juin à septembre à maturité lorsque les feuilles sont sèches [12]. Pour les oignons destinés à la conservation, ils sont d'abord arrachés, ils séchent plusieurs jours sur le sol, puis ils sont conservés après équeutage et séchage, à 65% d'humidité relative (HR %) et à température de -3 à 0°C [13]. Pour la vente en sec, le stade optimal est atteint quand le feuillage est aux 2/3 secs, ce qui correspond à l'arrêt de croissance et que les racines plus ou moins sèches ne retiennent plus le bulbe au sol [11].

Conservation : Ils sont soumis à un séchage complet immédiatement après récolte. Par temps sec et chaud, les oignons sont laissés au sol pendant quelques jours jusqu'à ce que les tiges vertes, la pelure et les racines soient complètement séchées [14].

La nécessité de sécher l'oignon se fait pour plusieurs raisons. Entre autres le col des oignons est très sensible à la décomposition, s'il reste humide, surtout si les tiges vertes sont coupées avant la récolte [14].

5. Composition chimique

L'étude la plus ancienne sur l'oignon, concernait la distillation de son huile essentielle, c'est Semmler, en 1892 qui a trouvé qu'elle est constituée surtout de sulfures organiques, il a isolé le constituant majeur qui était un *disulfure*. En 1910 Kooper, examinant le jus frais pressé de l'oignon commun, a identifié: *l'acide thiocyanique* et *l'allylthiocyanate*. Après, d'autres recherches sur l'oignon viennent, mais les plus importantes sont celles de Wilkens en 1961 et de Virtanen dans la même année, Wilkens a postulé que le *facteur lacrymogène* est le *sulfoxyde de propènethial*. [4].

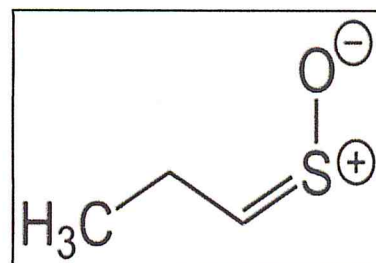


Figure 3: Le facteur lacrymogène

Le Finlandais Virtanen, a montré que le *sulfoxyde de propényl cystéine* qui est présent en quantité de 0.2 % par poids d'oignon est le précurseur du facteur lacrymogène [4]. C'est *l'isoalliine*, l'isomère de *l'alliine*, sous l'action de l'alliinase donne le facteur lacrymogène [8].

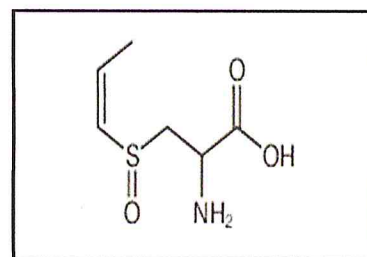


Figure 4: Précurseur du facteur lacrymogène.

Les bulbes d'oignons contiennent de l'eau (89 %) , une faible teneur en matière sèche (7–18%) ; les protéines (1,3%), les lipides (0,2 %), les glucides (7,1 %), les fibres (2.1%), les minéraux tels que : K (170 mg), Ca (25 mg), Mg (10 mg), Fe (0,3 mg), Les glucides comprennent du glucose, du fructose, du saccharose et des fructanes [4].

Globalement, le bulbe d'oignon frais renferme des fructanes de faible degré de polymérisation (10 à 40 %), et des polysaccharides hétérogènes, des flavonoïdes (principalement des glucosides du quercétol, dans les oignons colorés: 2.5-6.5 %), des saponosides (glycosides de furostanols), des stérols (cholestérol, stigmastérol, β -sitostérol,...)[8], et les vitamines (E, A, C, B1 et B2,) , pectine, anthocyanines et plusieurs composés soufrés "labiles" [6], qui sont: trans-S-(1- propenyl) cystéine sulfoxyde (précurseur du facteur lacrymogène), S-méthyl cystéine sulfoxyde, S-propyl cystéine sulfoxyde (Ces trois composés sont des amino acides soufrés non protéiniques du métabolisme secondaire et la cycloalliine. A l'exception de cette dernière, ces cystéines sulfoxydes sont convertis à d'autres composés plus simples, sous

l'action de l'enzyme alliinase - présente dans le bulbe intact- lorsque l'oignon est coupé ou haché [4, 5, 10].

Alors il y a libération de l'acide pyruvique et des alkylthiosulfonates –composés simples- instables [8], parmi ces thiosulfonates: méthyl méthanthiosulfonate, alkyl (E)-1-propène thiosulfonates, (E,Z)-1-propenyl alkanethiosulfonates, propylpropane et thiosulfonates, ces thiosulfonates avec le facteur lacrymogène contribuent au goût et arôme de l'oignon [4], qui subissent après un temps plus ou moins court, une décomposition (transformation) en sulfures; di-, tri-, tetrasulfures [8] et autres constituants responsables de l'odeur de l'oignon spécialement méthyl propyl disulfure, méthyl propyl trisulfure et dipropyl trisulfure [5].

D'autres composés ont également été caractérisés dans les extraits: cépaènes (α sulfinyl disulfures), zwibelanes (dérivés disoufrébicycliques), di- et tripeptides soufrés [8].

Il existe aussi des traces d'huile volatile: (5000 kg d'oignon ont été distillés pour donner 233 g d'huile soit 0.005%) [4]. Elle est constituée essentiellement de composés soufrés, avec le *dipropyl disulfure* comme constituant majeur, mais ne contribuant pas à l'odeur [5].

L'huile essentielle est obtenue par distillation, sous vide, des bulbes, avec un rendement allant de 0.005 à 0.02 %. Ses propriétés physicochimiques varient largement et dépendent de l'origine de la plante. C'est un liquide jaunâtre avec une odeur caractéristique de l'oignon. Les constituants les plus importants sont: d-n-propyl disulfure et méthyl n propyl disulfure, propanal, 1 propanethiol, SO₂, H₂S [4].

L'arôme de l'oignon est dû à un ensemble de composés soufrés. Frais, il possède une saveur provenant des thiosulfonates et thiosulfonates [4], ces derniers surviennent en concentrations faibles seulement si l'oignon est fraîchement coupé ou haché [10]. Lorsque le végétal est bouilli, l'odeur est due aux trisulfures de propyl et propèn-1yle [4].

Tableau 1: composition chimique de l'huile essentielle d' *Allium cepa* [15].

| No. | Nom des composés | Surface de pic (%) |
|-------------------------------|---|--------------------|
| 1 | Disulfide, 1-méthyléthyl propyl | 0.98 |
| 2 | 2,4-diméthyl-thiophène | 0.52 |
| 3 | Méthyl propyl disulfide | 3.78 |
| 4 | Diméthyl trisulfide | 0.79 |
| 5 | Isopropyl dithioisopropane | 18.10 |
| 6 | Dipropyl disulfide | 8.83 |
| 7 | Méthyl propyl trisulfide | 8.10 |
| 8 | Diméthyl tétrasulphide | 0.19 |
| 9 | 3-Ethyl-5-méthyl-1,2,4-trithiolane | 1.60 |
| 10 | Méthyl-1-(méthylthio) propyl disulfide | 0.29 |
| 11 | 2-Undécanone | 2.50 |
| 12 | Diisopropyltrisulfide | 20.69 |
| 13 | <i>trans</i> -Propényl propyl trisulfide | 4.96 |
| 14 | 9- <i>t</i> -Butyl-9,10-dihydroanthracène | 0.56 |
| 15 | Ethyl-2-(formylamino)-4- méthylthiazole-5-carboxylate | 1.70 |
| 16 | 2-Méthyl-2-méthylthiopropional | 0.70 |
| 17 | 2-Hexyl-5-méthyl-(2H)-furan-3-one | 3.48 |
| 18 | 2-Tridécanone | 10.45 |
| 19 | Acide 4,4-Diméthoxy-2-buténoïque | 0.44 |
| 20 | 5-Méthyl-2-octyl-(2H)-furan-3-one | 2.21 |
| 21 | Méthyl 1,2,3,4-tétrahydro-1, 1-diméthyl-2-naphthoate | 0.70 |
| 22 | Propyl-1-(propylthio)-éthyl- disulfide | 2.90 |
| 23 | Méthyl- 2,6-anhydro-3,4,7-tridesoxy -1-érythro-hept-2-énulonate | 0.66 |
| 24 | 6,10,14-triméthyl-2-Pentadécanone | 0.08 |
| 25 | 1,3-bis (propylthio) – Propane | 0.88 |
| 26 | 3,5-diéthyl-1,2,4-Trithiolane | 0.50 |
| 27 | Acide Hexadécanoïque | 0.34 |
| 28 | Tricosane | 0.08 |
| 29 | Méthyl- 2,6-anhydro-3,4,7-tridesoxy -1-érythro-hept-2-énulonate | 0.66 |
| 30 | 6,10,14-triméthyl-2-Pentadécanone | 0.08 |
| 31 | 1,3-bis (propylthio) – Propane | 0.88 |
| 32 | 3,5-diéthyl-1,2,4-Trithiolane | 0.50 |
| 33 | Acid Hexadécanoïque | 0.34 |
| Total des composés identifiés | | 99.47 |

6. Activités biologiques

6.1 Activité hypoglycémiante

L'évaluation de l'activité hypoglycémiante chez les patients diabétiques de type 1 et de type 2, ayant reçu de l'extrait brut de l'*Allium cepa* (100 g) a entraîné : Chez les patients diabétiques de type 1 une baisse de la glycémie à jeun par environ 89 mg / dl par rapport contre 145 mg / dl pour l'insuline. Chez les patients diabétiques de type 2 une baisse la glycémie à jeun de 40 mg / dl contre 81 mg / dl au glibenclamide. Donc il pourrait être utilisé comme un supplément diététique en matière de gestion de type 1 et / ou le diabète de type 2 [16]. L'extrait éthanolique de pelure d'oignon a donné une forte activité inhibitrice α -glucosidase. L'activité inhibitrice de α -glucosidase de l'extrait l'oignon est corrélé à la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de l'extrait. Ces résultats suggèrent que l'oignon qui a une haute teneur en quercétine a le potentiel de contribuer en tant que complément alimentaire pour contrôler l'hyperglycémie et les complications du diabète lié au stress oxydatif [17].

6.2 Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne a été attribuée à la capacité d'inhiber la synthèse de l'ARN et de perturber les membranes cellulaires par l'allicine. L'activité antimicrobienne de l'oignon et ses extraits est connue depuis longtemps ; le premier qui a noté cette activité des extraits d'oignon était Louis Pasteur en 1858 [4]. Virtanen a étudié aussi en 1958 l'activité antibactérienne de l'oignon haché [4]. Le jus est antimicrobien in vitro : bactériostatique et antifongique [6, 8], l'huile essentielle est antibactérienne et antifongique [18], L'effet antimicrobien du méthyl méthanethiosulfinate, propylpropanethiosulfinate et les thiosulfinate trouvés dans les extraits d'oignon, est plus faible que celui de l'allicine [4]. Les extraits d'oignon ont donné une activité inhibitrice sur *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, les principales bactéries causales de la carie dentaire, et *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*, considérés comme les principales bactéries causales de parodontite de l'adulte *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* et trois champignons, *Aspergillus niger*, *Penicillium* et *Cyclospora Fusarium oxysporum* [17, 19].

L'huile d'oignon a complètement inhibé la croissance de *Microsporium canis*, *Trichophyton* et *M. gypseum*, *Aspergillus versicolor* et *Penicillium rubrum* tandis que la croissance de *Chrysosporium queenslandicum* et *Trichophyton mentagrophytes* a été complètement inhibée par 500 ppm d'huile l'oignon [17].

6.3 Activité anti –oxydante

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement [20].

Les principales classes d'antioxydants de l'oignon sont les anthocyanines et les flavonols (plus spécifiquement la quercétine). Les anthocyanines donnent la couleur rouge à certaines variétés d'oignon, et les flavonols colorent les oignons jaunes [21]. Il est à noter que ces composés antioxydants se logent surtout dans les couches externes des oignons [22]. Les oignons blancs contiennent peu d'antioxydants comparativement à ceux de couleur jaune et rouge [23]. De plus, les variétés d'oignons rouges ont en général une teneur plus importante en antioxydants [21,24] et une activité antioxydante supérieure aux variétés d'oignons de couleur pâle [25]. L'oignon particulièrement, le jaune est une source majeure de quercétine [26,27]. Ce flavonoïde ainsi que d'autres composés antioxydants de l'oignon pourraient contribuer à diminuer l'incidence de certains cancers [21]. De plus, il est maintenant bien démontré que les flavonoïdes, dont la quercétine, ont une action protectrice contre l'oxydation du cholestérol-LDL (« mauvais » cholestérol) [28].

6.4 Activité anti-cancérogène et anti-mutagénique

L'extrait méthanolique de l'oignon blanc en concentration de 1000 mg /ml a donné une activité anti-proliférative sur les cellules cancéreuses humaines [17].

6.5 Anti-agrégant plaquettaire

L'extrait aqueux de l'oignon a induit un effet antithrombotique chez le rat diabétique. Il a été indiqué que les polysulfures, trisulfures particulièrement diméthyle et diallyle, trouvés dans des extraits d'oignon ont inhibé la synthèse de thromboxane dans les plaquettes. [17].

6.6 Activité Anti-inflammatoire

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de la fraction butanolique d'oignons séchés ALC-02 selon la méthode de l'œdème de la patte de souris. L'injection de la carraghénane sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti inflammatoire. Cette étude permet de comparer la réaction de l'œdème plantaire après administration du produit anti inflammatoire à tester et du produit de

référence (l'ibuprofène). L'ibuprofène, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien, exerce son effet anti-inflammatoire en inhibant la synthèse et la libération de prostaglandines. Une dose de 200 mg / kg de ALC-02 a produit une réduction de 34% en volume de la patte à 1 heure, ce qui a progressivement diminué après 2-3 prochaines heures. En revanche, l'ibuprofène (100 mg / kg) a montré une faible (13%) d'inhibition de volume de la patte à 1 heure, qui ont augmenté de 38-41% après 2-3 heures. La normalisation chimique de cette fraction active particulière a été faite sur la base de la quercétine (6,97%) et la lutéoline (0,65%) Ces conclusions indiquent qu'une propriété antihistaminique pourrait être responsable de l'effet anti-inflammatoire d'ALC-02 [17].

7. Situation économique

La production mondiale de 2004 était de 53 591 283 tonnes. La Chine étant le 1^{er} producteur avec 18 503 500 tonnes, vient l'Inde avec 5 500 000 tonnes en deuxième position, et l'ex URSS avec 3 323 600 tonnes [29].

La production nationale, en Algérie de 2002, de l'oignon est 0,31 million de tonne. Dans la wilaya de MILA, elle a été de 49 932 quintaux en 2004-2005 pour une surface de 362 hectare et de 53 145 quintaux en 2005-2006 pour une surface cultivée de 543 hectare [29].

Les variétés les plus cultivées en Algérie : Jaune paille de vertus, Jaune de valence, jaune d'Espagne, Rouge d'Amposta, de Barletta...

La production mondiale de 2003 est présentée dans le tableau 2 des Oignons secs avec les principaux producteurs.

Tableau 2 : Principaux producteurs mondiaux de l'oignon sec en 2004 en tonnes [29].

| Pays | Production en 2004 (tonnes) |
|---------------------|-----------------------------|
| Production mondiale | 52 546 545 |
| Chine | 17 544 660 |
| Inde | 5 000 000 |
| Etats-Unis | 3 162 750 |
| Turquie | 1 800 000 |
| Russie | 1 560 590 |
| Iran | 1 500 000 |
| Pakistan | 1 400 000 |

1. Définition et structure

Les polyphénols ou les composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. [30]. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires [31]. L'expression de « composés phénoliques » 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 diffèrent 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 fixées [32]. La plupart des composés phénoliques sont présents conjugués avec un mono ou poly saccharides, liés à un ou plusieurs groupes phénols, ça peut être aussi des dérivations fonctionnelles comme des esters et des méthyles esters [33]. A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés. Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000. La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile une présentation globale des méthodes qui permettent leur extraction et leur isolement [30].

2. Classes des composés phénoliques

2.1 Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels que le thé. Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques, dans la régulation du gène et dans le métabolisme de croissance. Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C₆-C₃-C₆ de type phényl-2-benzopyrane, La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C₂-C₃, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo.

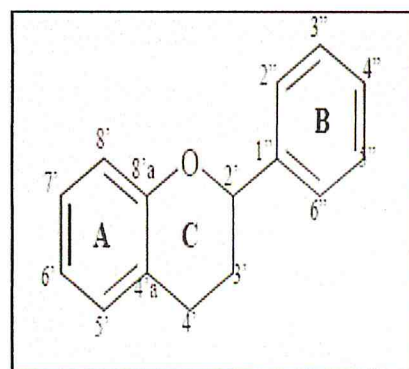


Figure 5 : Structure générale des flavonoïdes

En se basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes [30].

2.2 Anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits. Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) [30].

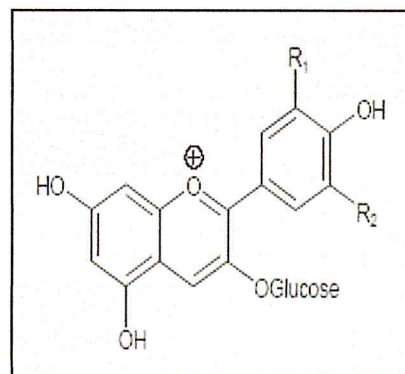


Figure 6 : Structure des Anthocyanosides

2.3 Tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines. On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique [30].

. **Tannins hydrolysables:** ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase).

. **Tannins condensés ou tannins proanthocyanidol:** les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 [34].

2.4 Les non flavonoïdes

2.4.1 Phénols simples et les acides phénoliques

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique [30].

. Acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique [30].

. Acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique

La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides *p*-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large. Les acides cinnamiques et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation [30].

. Phénols simples

Tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montré pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes [30].

2.4.2 Coumarines

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres [30].

2.4.3 Stilbène

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, le soja et les arachides [30].

2.4.4 Lignanes

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C6-C3)₂ l'unité (C6 - C3) est considérée comme un propylbenzène. Ce sont des composés phénoliques bioactifs, non-nutritifs, non caloriques. On les trouve en plus forte concentration dans le lin et les graines de sésame et en faibles concentrations dans les fruits et les légumes [35]. Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3) [30].

2.3.5 Lignines

La lignine est un polymère fortement ramifié, formés par trois alcools phénoliques simples (Alcool *p*-coumarylique, Alcool coniférylique, Alcool sinapylique). Les alcools sont oxydés en radicaux libres par une enzyme ubiquiste. Chez les plantes ; la peroxydase. Les radicaux libres réagissent ensuite spontanément et au hasard pour former la lignine. La lignine est localisée dans les parois cellulaires et plus spécialement dans les parois secondaires des éléments conducteurs, contribuant à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées [36].

3. Rôle des composés phénoliques

3.1 Rôle physiologique

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaires, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation. Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV [37].

3.2 Rôle technologique

Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits murs, ils confèrent aux fruits et légumes leurs teinte rouge ou bleuté, ils sont aussi responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de leurs teneurs [37].

3.3 Rôle nutritionnel et thérapeutique

Certains auteurs avancent des apports alimentaires journaliers en composés phénoliques chez l'homme compris entre 100 et 1000 mg. Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments, certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines (avec lesquelles les tanins se combinent), ...etc. Les décès dus au infarctus du myocarde ou par athérosclérose coronarienne sont à associés au taux élevé des cholestérols du type LDL (Low Density Lipoprotéines) circulant dans le sang. Des études ont démontré qu'une consommation importante d'antioxydants phénoliques (vitamine E, quercétine...) pouvait être corrélée avec une baisse significative des décès par athérosclérose, en diminuant l'oxydation des LDL [37].

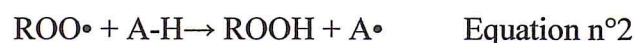
3.4 Rôle antimicrobien

Plusieurs études in vitro et in vivo sont focalisées pour l'évaluation des propriétés antibactériennes, et antifongiques des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne était étudiée par et démontre que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*...) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*...) [37].

3.5 Rôle antioxydant

Les polyphénols neutralisent les radicaux libres vecteurs de stress oxydatif responsable de la détérioration et du vieillissement cellulaire qui est à l'origine de l'Alzheimer, le Parkinson, l'athérosclérose, la polyarthrite chronique ou encore le cancer.

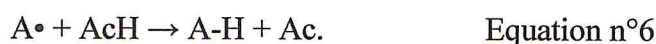
Dans le cas particulier des lipides, les polyphénols (A-H) réagissent avec un radical libre lipidique pour le convertir soit en acide gras de départ R-H soit en hydro peroxyde ROOH ou en dérivé hydroxy lipidique de type R-OH. Simultanément, un radical A• issu de l'antioxydant est formé. Celui-ci est plus stable que le radical lipidique.



En règle générale, les formes radicalaires de l'antioxydant peuvent soit subir des réactions de réarrangement interne, soit réagir entre elles pour donner des dimères ou encore réagir avec un second radical lipidique pour stopper la chaîne radicalaire.



De plus, le radical phénolique $A\bullet$ peut être régénéré par un synergisant comme l'acide citrique (AcH), qui en plus, est un chélateur des métaux, largement utilisé en technologie des corps gras [35].



4. Les propriétés chimiques des polyphénols

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques, particulièrement des substituants à effet mésomère attracteur d'électrons (-M) et substituants à effet mésomère donneur (+M). La conjugaison d'une des deux paires libres de l'atome oxygène avec le cycle traduit l'effet (+M) du groupe OH. Ce phénomène augmente la délocalisation électronique et produit une charge négative partielle sur les atomes C_2 , C_4 , C_6 [38].

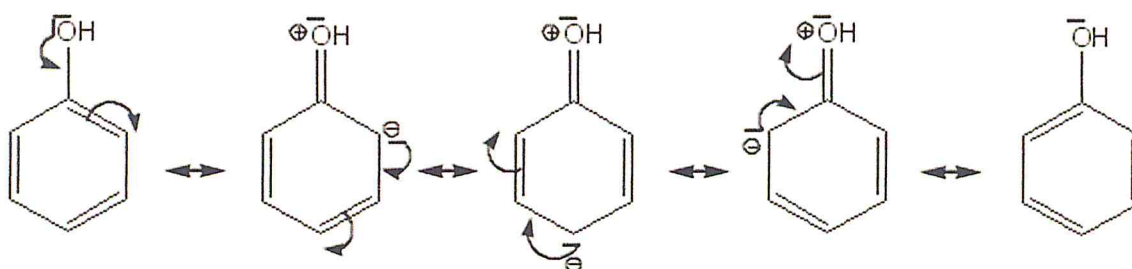


Figure 7 : Formes mésomères du phénol.

On constate qu'une charge négative apparaît en position *ortho* et *para* du phénol (figure 7), ce sont donc les positions susceptibles de recevoir un électrophile [39]. De ces caractères de base découlent les différentes propriétés physico-chimiques suivantes :

4.1 Nucléophilie

La nucléophilie des composés phénoliques est portée par l'atome d'oxygène et les atomes de carbone en *ortho* et *para* du groupement OH (suite à l'effet (+M)). Cette propriété est à l'origine des réactions de substituants électrophiles aromatique (alkylation, acylation,... etc.)

régiosélectives des positions ortho et para. Les substituants de type 1,3-dihydroxy (résorcinol) et 1,3,5-trihydroxy (phloroglucinol) permettent une accumulation de densité électronique sur les sommets C2, C4 et C6 (tous *ortho* ou *para* des groupements OH), accentuant ainsi le caractère nucléophile. Le cycle A des flavanols possède deux centres C6 et C8 fortement nucléophiles car en *ortho* et en *para* de trois groupements OH ou OR à effet (+M). Le noyau A est également activé par le groupement carboné saturé en C4. Cette nucléophilie permet des réactions de substitutions électrophiles aromatiques [38].

4.2 Propriétés réductrices

Le potentiel d'ionisation (PI) d'une molécule est l'énergie minimale qu'il faut lui fournir pour lui arracher un électron. Plus un composé aromatique est substitué par des groupements donneurs d'électrons, plus son PI est faible et plus son caractère réducteur est grand. Il peut alors subir une oxydation mono-électronique qui conduit au radical correspondant. Dans le cas d'un phénol ArOH, le radical-cation formé est un acide fort qui se déprotone aussitôt pour conduire à un radical phénoxy ou aryloxy ArO [38].

Le radical aryloxy (ArO.) peut être formé directement par transfert d'hydrogène phénolique vers un radical de haute énergie tel que les radicaux oxyl (RO.) et peroxy (ROO.) formés par exemple au cours de l'autoxydation des lipides. Ces réactions de transfert d'atome H et/ou d'électrons avec conversion d'un radical très réactif en radical aryloxy stabilisé par résonance sont l'un des principaux mécanismes d'actions antioxydantes des phénols [38].

4.3 Polarisabilité

La polarisabilité des phénols leur permet de développer de fortes interactions moléculaires de dispersion (composante attractive des interactions de Vander Waals) avec autres composés polarisables. Ce phénomène résulte du couplage entre les fluctuations électroniques de deux molécules voisines. Ainsi, en solution aqueuse, l'interaction du noyau benzénique apolaire du phénol avec une autre entité polarisable telle qu'un second cycle aromatique est favorisée par l'effet hydrophobe [38].

4.4 Liaison hydrogène

Les phénols sont des donneurs de liaison hydrogène (liaison H) en raison du caractère acide du proton du groupe OH. Ce sont aussi des accepteurs de liaison H. En fait, seule la paire libre de l'atome O qui n'est pas conjuguée avec le cycle est capable d'accepter une liaison H en provenance d'un donneur. Ainsi, un phénol est capable de donner une liaison H

et d'en recevoir une seulement. Notons que ces liaisons H se renforcent mutuellement (coopérativité). Par exemple, en donnant une liaison H, le phénol allonge sa liaison OH. Cet état de prédissociation accentue la densité électronique sur le centre O et donc son caractère accepteur de liaison H [38].

4.5 Acidité

La coupure hétérolytique de la liaison OH (déprotonation) entraîne la formation d'un ion phénate dans lequel la délocalisation électronique de l'atome O vers le cycle (effet +M) est fortement augmentée (figure 7). Ce phénomène et la forte solvatation de l'anion phénate par formation de liaison H avec l'eau permettent d'expliquer les propriétés acides faibles des phénols dans l'eau. Les propriétés caractéristiques des phénols (nucléophilie, caractère réducteur, polarisabilité) sont amplifiées lors de la formation des anions phénates correspondants. Les groupements OH en position para et ortho des noyaux phénoliques de polyphénols présentent un caractère acide renforcé, ce qui permet une dissociation au moins partielle à pH neutre. Cette exaltation de l'acidité est due à la stabilisation de l'ion phénate correspondant par délocalisation de la densité électronique vers le groupement à effet (-M). Elle peut être traduite en termes de formes mésomères [38].

5. Les composées Phénoliques d'*Allium cepa* L

5.1 Les flavonoïdes

Sont présents dans les feuilles ainsi que dans les bulbes d'*Allium. Cepa*. Dès 1896, Perkin et Hummel signalés quercétine dans les écailles sèches d'oignons jaunes. En outre, cette aglycone flavonol a été isolée à partir de feuilles, les peaux. Trois glycosides de quercétine, la 4'-glucoside (équivalente à Spiraeoside), la «7,4'-diglucoside et le 3,4'-diglucoside ont été trouvés dans l'intérieur et les écailles externes secs. Le contenu de la quercétine et ses glycosides est évidemment plus élevé dans les peaux d'oignons de couleur (2,5 -6,5 g / 100 g de poids sec) que dans les peaux de variétés d'oignon blanc (0,001 g / 100 g). En outre, la plus forte concentration de ces constituants a été trouvée dans les écailles externes sèches, diminuant progressivement vers les bagues intérieures Plus mono- et diglycosides de la quercétine et le kaempférol ont été isolés à partir d'oignon [40].

Tableau 3: Les flavonoides d' *Allium cepa* L [40].

| Constituants | References |
|---|--|
| Quercétine | Perkin et al. (1896) Kazmarek (19 61) |
| Quercétine-4' -glucoside = Spiraeoside | Herrmann (1956) Trammell and Peterson (1976) |
| Quercétine-7,4'-diglucoside | Harborne (1965) Tronchet (1971) |
| Quercétine-3,4' -diglucoside | Harborne (1965) Tronchet (1971) |
| Quercétine-3-glucoside | Panisset and Tissut (1983) |
| Quercétine-7-glucoside | Panisset and Tissut (1983) |
| Quercétine -3,7-diglucoside | Panisset and Tissut (198 3) |
| Quercétine-3-rutinoside = | Feldmann et al. (197 8) |
| Quercétine-3- rhamnoside = Quercitrin | Feldmann et al. (197 8) |
| Kaempferol | Sood and Joshi (1974) Bilyk et al. (1984) |
| Kaempferol -4'-glucoside | Panisset et al. (1983) Scheer and Wicht (198 7) |
| Kaempferol -7,4'-glucoside | Panisset and Tissut (1983) |
| Kaempferol-3-glucoside | Panisset and Tissut (1983) |
| Isorhamnetine-4'-glucoside | Tissut (1972) |

5.2 Les Phénols simples et les acides phénoliques

Les composés phénoliques des feuilles vertes, sèches et pulpe d'*Allium cepa* L. ont été examinés en détail (voir le tableau 4). Schmidtle et Hermann (1975) ont révélé des différences dans le contenu de l'acide protocatéchique entre les épidermes extérieures sèches (environ 4 mg / 100 g de poids sec) et le reste du tissu (0,05 mg / 100 g). En plus les acides carboxyliques comme l'acide p-coumarique et les dérivés de l'acide férulique ont été détectés dans les écailles d'oignon. En outre, les feuilles contiennent les acides (o-coumarique, sinapique, et p-hydroxybenzoïque, L'acide chlorogénique). *A. cepa* contient aussi les acides malique, citrique, succinique, fumarique et quiniques.

5.3 Anthocyanosides

Il y a 60 ans, Robinson (1932) ont signalé la présence d'anthocyanes dans *A. cepa*. Ces travaux ont décrit un cyanidine-3-glucoside présent dans les oignons rouges. En outre, les

anthocyanes (péonidine-3-glucoside, cyanidine-3-glucoside et cyanidienne 3-diglucoside) ont été identifiés dans la variété d'oignon rouge [40].

Tableau 4: Les composés phénoliques dans *L'Allium cepa* L [40].

| Les constituants | Les écailles sèches | Bulbe | Les feuilles vertes |
|--|---------------------|--------|---------------------|
| Acide Ferulique | - | Faible | Faible |
| Acide Cafféique | - | - | Faible |
| Acide Protocatechique | 0.45% | Faible | - |
| Méthyl ester d'acide protocatechique | 0.01% | - | - |
| Phloroglucinol | 0.01% | Faible | - |
| Phloroglucinol acide carboxylique | Traces | - | - |
| Méthyl ester phloroglucinol Acide carboxylique | 0.01% | - | - |
| Pyrocatechol | Traces | Faible | - |

PARTIE EXPERIMENTALE



Introduction

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des substances bioactives telles que les substances naturelles douées d'activité antioxydante et antimicrobienne qui présentent un intérêt dans le domaine de la bio pharmacologie. Ce travail a pour objectif l'extraction et le dosage des polyphénols totaux existants dans les bulbes d'oignon rouge « *Allium cepa* », en étudiant l'effet de certains paramètres (la méthode d'extraction, le séchage, la température des différentes méthodes de cuisson et l'acidité) sur la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante qui a été évaluée par la méthode de piégeage de radical libre DPPH et l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques de l'*Allium cepa*.

Notre expérimentation a été réalisée sur une période allant de mars jusqu'au juin 2016, aux niveaux des laboratoires du département de chimie de l'université Saad Dahlab –Blida1. Les tests d'activité antimicrobienne ont été effectués au sein du laboratoire d'hygiène du Blida.

Les étapes de notre étude expérimentale sont représentées dans le schéma suivant:

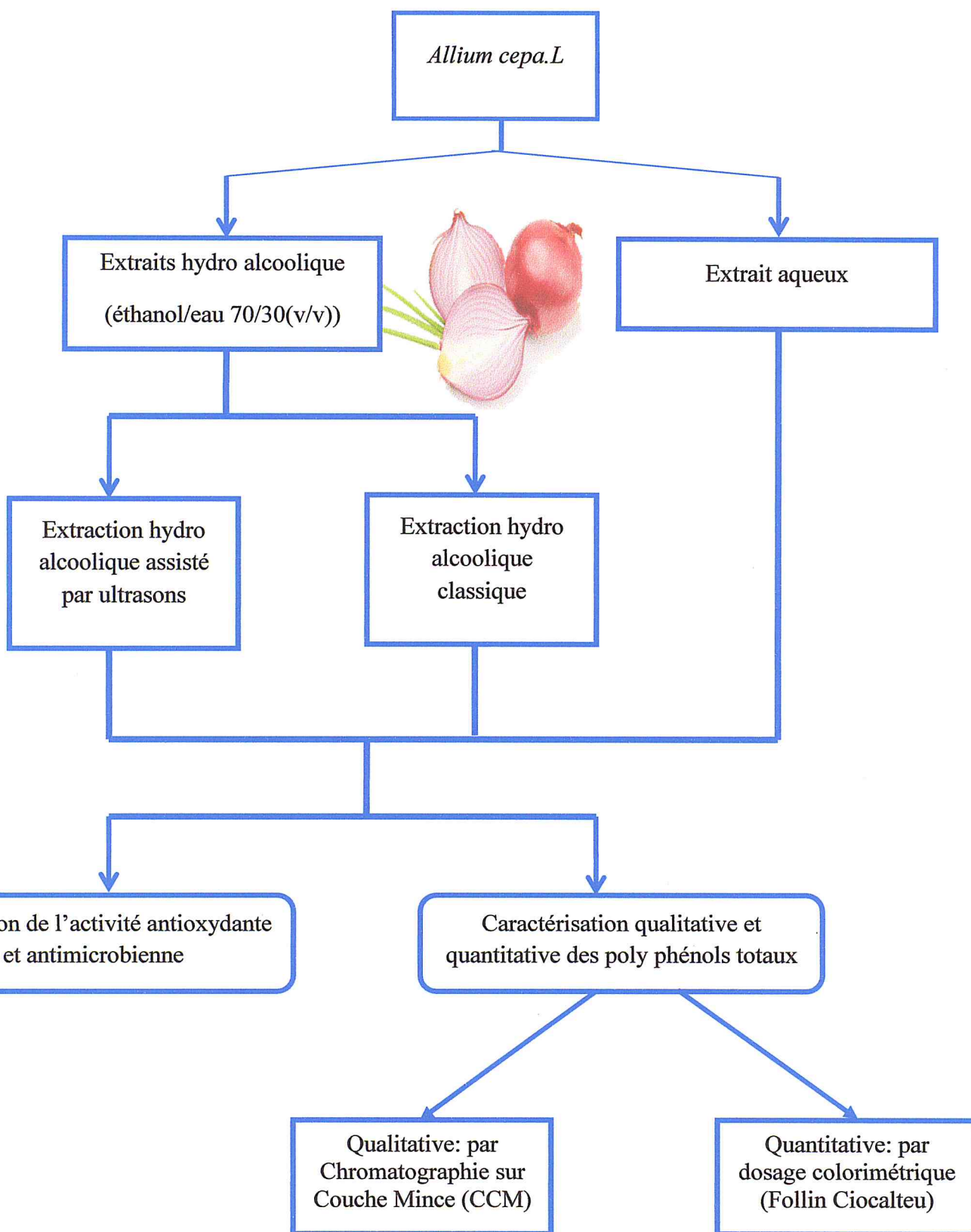


Figure 8 : Schéma des étapes de notre étude expérimentale

1. Matériel

1.1 Matière végétale

Le matériel végétal a été constitué des bulbes d'*Allium cepa* (oignon) (var. Oignon rouge). Cette variété est la plus cultivée en Algérie. Les oignons ont été récoltés dans le mois (septembre 2015) dans la région du (Médéa).

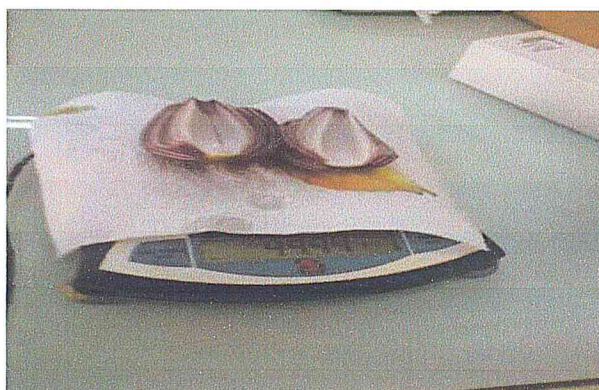


Figure 9 : la photo de la matière végétale (bulbe d'oignon rouge)

1.2. Réactifs chimiques

Les produits et réactifs chimiques utilisés sont: l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyl, l'acétone, l'acide acétique, DMSO, réactif Follin-Ciocalteu, DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) fournis par Sigma-Aldrich (Allemagne), le chloroforme, l'acide gallique, l'acide ascorbique, Carbonate de sodium Na_2CO_3 99%, par Panreac, Quimica (Espagne).

2. Extraction hydro alcoolique classique (macération)

Principe :

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est celle de l'extraction par solvant (macération) est une opération physique de transfert de matière entre une phase solide qui contient la substance phénoliques à extraire et une phase liquide (le solvant d'extraction). Suite au contact entre le solvant et le solide hétérogène, les substances ayant une affinité pour le solvant sont solubilisées et passent de la phase solide à la phase liquide. Le choix du solvant possède l'avantage d'être moins toxique, facilement éliminé sous vide et il donne en plus un meilleur rendement d'extraction. Dans certains cas, la matière végétale est prétraitée avant l'extraction pour améliorer le contact solide liquide [41].

Dans cette partie de notre travail expérimentale et afin d'étudier l'effet de quelques paramètres sur l'extraction des polyphénols de l'espèce *Allium cepa* .L, nous avons préparés des extraits hydro alcooliques à partir de l'oignon rouge frais et de l'oignon rouge soumis aux prétraitements suivants (le séchage, la décoction, la cuisson à la vapeur, l'acidification).

2.1 Prétraitement de l'oignon rouge

2.1.1 Traitement de l'oignon par macération dans un milieu acide pH=4

300ml d'eau distillée sont mélangés dans un bécher avec 100g d'oignon rouge (coupé), 2ml d'acide acétique 50% sont ajoutés goutte à goutte jusqu'à atteindre un pH égale à 4. Le mélange a été soumis à une agitation magnétique pendant 3 heures, ensuite il a été filtré à l'aide d'un papier filtre et le résidu a été récupéré pour une extraction hydro alcoolique.

2.1.2 Séchage

100 g d'oignon rouge (coupé) sont séchés dans un étuve pendant 1h à température T=80°C afin d'éliminer la quantité d'eau existant dans l'oignon. Après refroidissement, l'oignon sec a été soumis à une extraction hydro alcoolique.

2.1.3 Cuisson à la vapeur

L'expression « à la vapeur » signifie que l'oignon est cuit en étant entouré d'une vapeur d'eau, la durée de traitement est 30 min. Après refroidissement, l'oignon cuit à la vapeur a été soumis à une extraction hydro alcoolique.

2.1.4 Décoction

La décoction consiste à mélanger (100g d'oignon rouge) dans un liquide (400 ml eau distillée) puis porter le mélange à ébullition durant 30 min à température près du point d'ébullition (100°C). Après refroidissement, le mélange a été filtrée sur du papier filtre et l'oignon bouillée récupéré pour l'extraction hydro alcoolique.

2.2 Protocole expérimental de l'extraction hydro alcoolique classique

La méthode d'extraction utilisée dans notre cas est basée sur la macération. Chaque résidu d'oignons récupéré (après les 4 prétraitements précédents) et même l'échantillon d'oignon frais sont ajoutés à 200ml de solvants éthanol /eau avec une proportion de (70/30), le mélange a été soumis à une agitation magnétique pendant 24h, après une filtration à l'aide

d'un papier filtre, le filtrat a été évaporé sous pression réduite à l'aide d'un rota vapeur de type Heidolph à température de 50°C pour une élimination totale du solvant et l'obtention d'un extrait phénolique qui est conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

3. Extraction assistée par ultrasons

Principe

Actuellement, il y a une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction permettant des temps d'extraction plus courts, une réduction de la consommation d'énergie et de solvants et une réduction de la pollution. L'extraction assistée par ultrasons est un nouveau procédé d'Eco-extraction permettant d'extraire des biomolécules à partir de sources végétales [41]. Les ultrasons sont des ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. Elles ont la capacité de se déformer. La propagation des ondes sonores dans les liquides soumis aux ultrasons à hautes intensités induit en alternance des cycles de haute pression (compression) et des cycles de basse pression (à basse pression). Les séries de ces cycles créent une pression acoustique. Au cours du cycle de basse pression, les ondes ultrasonores créent des petites bulles de cavitation dans le liquide. Lorsque ces bulles atteignent un volume pour lequel elles ne peuvent plus absorber de l'énergie, elles éclatent violemment au cours d'un cycle de haute pression. Les effets sono chimiques de ces cavitations se traduisent entre autres par des accélérations de cinétique et/ou d'amélioration du rendement d'extraction solide-liquide [42].

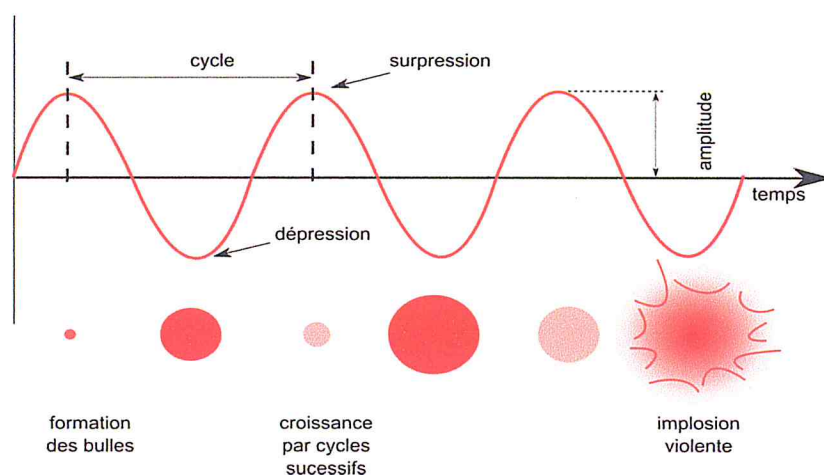


Figure 10 : phénomène de cavitation acoustique.

Protocole expérimental

Dans un bécher, 100 g d'oignon rouge frais (coupé) sont macérés avec 200ml de système des solvants suivants : éthanol/eau (70/30 : v/v). Afin d'extraire les polyphénols sous l'effet des ultrasons, Le mélange est plongé dans un bain d'ultrason de type Flac instruments sous les conditions opératoires déjà optimisés dans l'extraction des polyphénols [43].

Tableau 5: les conditions opératoires d'extraction assisté par ultrasons.

| | |
|-------------------------------|-------------|
| Puissance | 440 W (80%) |
| Fréquence d'impulsion | 40 kHz |
| Temps | 2h |
| La température de bain | 50°C |

4. Préparation de l'extrait aqueux

100 grammes d'oignon rouge frais (coupé) ont été portés à reflux pendant 2 heures dans 400 ml d'eau distillée pendant 2 heures, puis filtré. Ce filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à 70°C à l'aide d'un évaporateur rotatif de marque Heidolph. L'extrait aqueux est conservé à 4°C jusqu'à l'utilisation [44].

Expression des résultats :

Les rendements des extractions sont calculés suivant la formule ci-dessous:

$$R\% = (M_{\text{extrait}}/M_{\text{échantillon}}) * 100$$

Equation n°7

M_{extrait} = masse de l'extrait en gramme.

$M_{\text{échantillon}}$ = masse de l'échantillon en gramme ($M_{\text{échantillon}} = 100\text{g}$).

5. Caractérisations qualitative et quantitative des poly phénols totaux des extraits

5.1. Caractérisation qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM)

Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [45].

Protocole expérimental

Une concentration de 10 mg/ml est préparée dans le méthanol 50% pour le témoin utilisé (l'acide gallique) et pour chacun de nos extraits d'*Allium cepa*. Pour cette séparation nous avons utilisé des plaques CCM commerciales prêtes à être utilisées, de gel de silice de dimension 10x12cm. Après avoir déposé les échantillons sur des points repères à environ 1cm du bord inférieur de la plaque, les dépôts sont séchés et la plaque est introduite dans une cuve de migration dans l'enceinte est préalablement saturé.

Plusieurs systèmes du solvant « éluant » ont été essayés. Les systèmes sont cités dans le tableau 6:

Tableau 6 : les systèmes utilisés en CCM sur gel de silice

| Système | Eluant | Volume |
|-----------|--|----------------------|
| Système 1 | Chloroforme / Méthanol / Eau | (16/24/0.4) (v/v/v) |
| Système 2 | Acétone/Méthanol/Eau | (30/5.4/0.4) (v/v/v) |
| Système 3 | Acétate d'éthyle / Chloroforme/ Méthanol | (27/1.5/1.5) (v/v/v) |
| Système 4 | Eau /Méthanol | (8/32) (v/v) |

Seul le système (I) a montré une bonne séparation.

Révélation

Après développement, les plaques ont été séchées, la révélation chimique des composés séparés se fait par la méthode d'iode, puis visualisées séparément par une lampe UV à 365nm. Les tâches sont ensuite cerclées au crayon.

Expression des résultats

Les rapports frontaux des spots issus de la séparation ont été calculés et comparés à ceux des témoins permettant ainsi l'identification des constituants de différents extraits.

Calcul du rapport frontal (R_f) est donné par la relation suivante :

$$R_f = dc / ds$$

Equation n°8

Où : dc: la distance parcourue par le composé (mesuré au centre de la tâche) ;

ds: la distance parcourue par le front du solvant.

5.2 Caractérisation quantitative par la méthode de Folin Ciocalteu

Principe

Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin - Ciocalteu consiste en une solution jaune acide constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). En milieu alcalin, le réactif de Folin - Ciocalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro polyacides d'où la formation d'un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750-760 nm [46].

Protocole expérimental

On réalise une gamme étalon en milieu hydro alcoolique Eau /éthanol (50/50%) (9 points de concentrations à partir de 0, 0.03, 0.06 jusqu'à 1 mg/ml) avec un polyphénol témoin, en général de l'acide gallique.

Pour réaliser le dosage, 20 mg de chaque extrait d'*Allium cepa* a été dissout dans 10 ml de mélange de solvant éthanol/Eau (50/50%) afin d'obtenir une solution mère de concentration 2 mg/ ml. Après, on dilue la solution mère de nos extraits de manière à avoir différentes concentrations convenables des solutions filles. Ensuite dans un tube à essais 500 μ L de cette solution d'extrait dilué a été mélangée avec 5ml eau distillée. Puis on ajoute 0.5ml de Réactif de Folin (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) et on laisse reposer 3mn. On ajoute ensuite 0.5ml de la solution saturée de Na_2CO_3 à 10%. Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0 en $mg. ml^{-1}$. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 1heure à température ambiante et à l'obscurité une couleur bleu commence à apparaître et l'absorbance a été mesurée à 750 nm.

Expression des résultats

La concentration des composés phénoliques dans nos extraits est calculée à partir de la droite d'étalonnage linéaire ($A = a c + b$). La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations, le domaine choisi est de (0- 1 mg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

Puis les résultats la teneur des composés phénoliques T dans nos extraits sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par 1g poids sec d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

$$T = (cxv)/m$$

Equation n°9

T : Teneur en (mg d'acide gallique / g de matière sèche)

c : Concentration d'acide Gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

v : Volume de l'extrait éthanolique (ml)

m : Poids d'extrait (g).

6. Evaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des extraits. Ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Dans ce test, les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune, le DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu a donné des protons. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants [47].

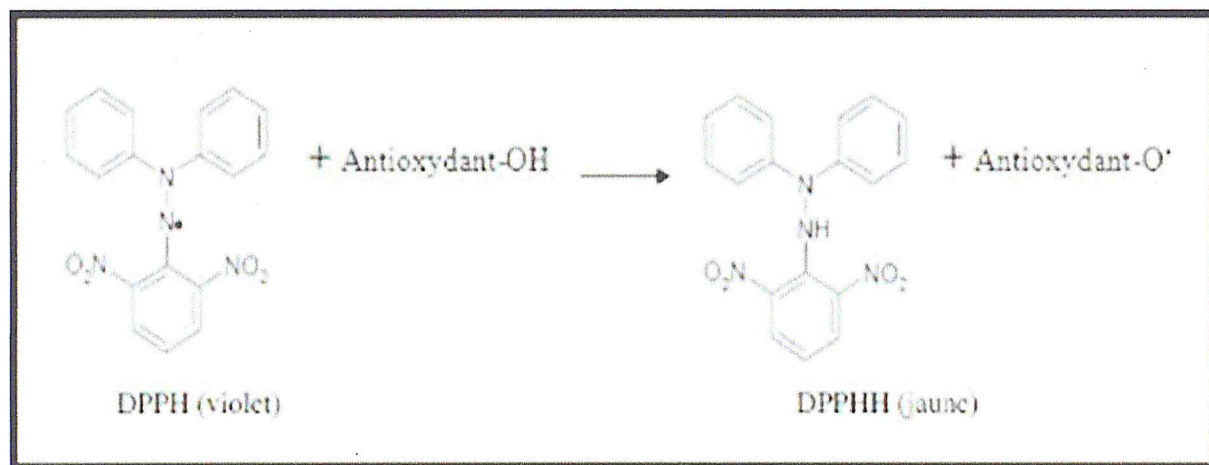


Figure 11 : Réduction du radical DPPH.

Protocole expérimental

Un volume de 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait ainsi exprimées en mg/ml (0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.14, 0.18, 0.2, 0.3, 0.4) ajoutées à 1ml de la solution méthanolique du DPPH (0.04mg/ml) fraîchement préparé. Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 517nm. Le blanc est représenté par un mélange de solvant méthanol/eau (50/50%) (v/v) puisque nous avons réalisé la dilution de notre gamme par ce mélange.

Le témoin négatif est composé de 1 ml de la solution méthanolique de DPPH et 1 ml de solvant méthanol 50%, le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard: l'acide ascorbique (vitamine C).

Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition (I%) est estimée selon l'équation suivante :

$$I\% = (\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle négatif}) \times 100 \quad \text{Equation n°10}$$

Détermination d'IC₅₀ :

IC₅₀ est inversement lié au pouvoir anti radicalaire ou la capacité antioxydante d'un composé (ARP= 1/ IC₅₀), car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés [48].

7. Etude de l'activité antimicrobienne

Le but de cette étude est d'évaluer qualitativement l'action de nos extraits d'*Allium cepa* vis-à-vis de l'inhibition de la croissance de certains microorganismes (Souches bactériennes et fongiques). Pour évaluer l'activité antimicrobienne de nos extraits la méthode de diffusion en milieu solide a été utilisée

Souches bactériennes

Quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi-résistance. Ce sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont activées à 37 °C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH).

Souches fongiques

L'activité antifongique a été évaluée à travers trois souches fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus*, *Saccharomyces cerevisiae*) dont la plupart de ces souches proviennent d'un laboratoire d'hygiène de Blida. Elles sont activées par repiquage sur la gélose de Sabouraud favorable à la croissance des espèces fongiques pendant 24 heures à l'obscurité à 28 °C.

Protocole expérimental

• Préparation des milieux de culture

Les géloses ont été coulées dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées avant l'emploi.

• Préparation des extraits

Les différents extraits ont été dissous dans le Diméthyl sulfoxyde ou DMSO. Les dilutions sont préparées de façon à obtenir des concentrations de 200mg/ml.

- **Ensemencement**

Des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la solution bactérienne, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

- **Depots des disques**

A l'aide d'un pince stérile, les disques stériles de papier de Wathman 8 mm de diamètre sont chargés par les dilutions des différents extraits et déposés sur la surface gélosée. Les boîtes sont incubées pendant 24 heures.

Expression des résultats

L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques pour les différents extraits peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches.

Tableau 7 : Relation entre le diamètre d'inhibition et la sensibilité des souches [49].

| Diamètre d'inhibition (mm) | Sensibilité des souches |
|----------------------------|-------------------------|
| 0-8 mm (-) | non sensible |
| 9-14 mm (+) | Sensible |
| 15-19 mm (++) | très sensible |
| > 20 mm (+++) | extrêmement sensible |

1. Extraction des polyphénols d'*Allium cepa*

Les rendements d'extraction de différents échantillons d'oignon sont reportés dans le tableau 8 et représentés par la figure 12.

Tableau 8 : Rendement d'extraction des composés phénoliques d'*Allium cepa*.

| L'extrait | M'extrait (g) | Le rendement R(%) |
|-----------|---------------|-------------------|
| E.O.S | 6.4 | 6.4 |
| E.O.CV | 6.2 | 6.2 |
| E.O.AC | 5.9 | 5.9 |
| E.O.B | 6.1 | 6.1 |
| E.O.F | 6.5 | 6.5 |
| E.Aq | 7.5 | 7.5 |
| E.Us | 10.1 | 10.1 |

D'une part, lorsqu'on compare les rendements selon la méthode d'extraction, nous constatons, comme le montre la figure 12 que l'extrait hydro alcoolique assisté par ultrason (E. Us) a donné le meilleur rendement d'extraction (10,1%) suivi de l'extrait aqueux (E.Aq) (7.5%). puis l'extrait hydro alcoolique classique (E.O.F) (6.5%).

En comparant, le rendement d'extrait hydro alcoolique d'oignon frais (E.O.F) avec celles des extrait d'oignon traité (E.O.S / E.O.C.V/ E.O.B/ E.O.Ac). Nous observons que l'extrait (E.O.F) a donné un rendement relativement élevé par rapport aux autres (6.5%).

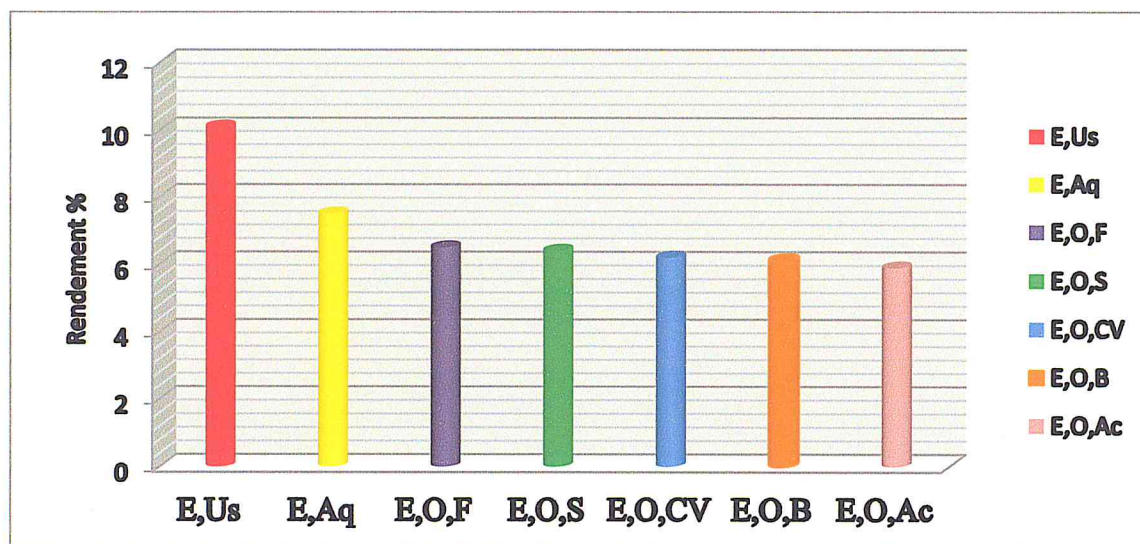









Figure 12 : Schéma graphique des rendements d'extraction des composés phénolique d'*Allium cepa*

A partir de ces résultats on peut dire que :

- L'extraction hydro alcoolique assistée par ultrasons est la meilleure méthode d'extraction des composés phénoliques présentant le meilleur rendement,
- L'effet de certains paramètres tel que (l'acidité, le mode de cuisson: à chaleur sèche ou humide) ont contribué à la réduction du rendement d'extraction des polyphénols.

Ces extraits sont caractérisés par des propriétés organoleptiques (aspect, couleur et odeur) qui sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Les propriétés organoleptiques des extraits d'*Allium cepa*.

| L'extrait | Les propriétés organoleptiques | |
|-----------|--|---|
| E.O.S | <ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : violet • Odeur : caractéristique |  |
| E.O.CV | <ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : violet • Odeur : caractéristique |  |
| E.O.AC | <ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : violet • Odeur : caractéristique |  |
| E.O.B | <ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : violet • Odeur : caractéristique |  |
| E.O.F | <ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : violet • Odeur : caractéristique |  |
| E.Aq | <ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : marron • Odeur : caractéristique |  |
| E.Us | <ul style="list-style-type: none"> • Aspect : pâteux • Couleur : violet • Odeur : caractéristique |  |

2. Caractérisation qualitative et quantitative des poly phénols totaux des extraits

2.1. Caractérisation qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique qualitative rapide, simple. Elle est utilisée dans la séparation et l'identification des molécules pures, des extraits et des échantillons biologiques.

Après quatre essais de système, nous avons adopté le système suivant : chloroforme/méthanol/eau (16/24/0.4) (v/v/v), qui a permis d'avoir une très bonne séparation chromatographiques des taches.

Après le développement dans une cuve en verre, la lecture a été faite par la méthode de révélation d'iode et les rapports frontaux des taches ont été calculés. Le profil chromatographique de l'extrait phénolique est représenté dans la figure 13 suivante :

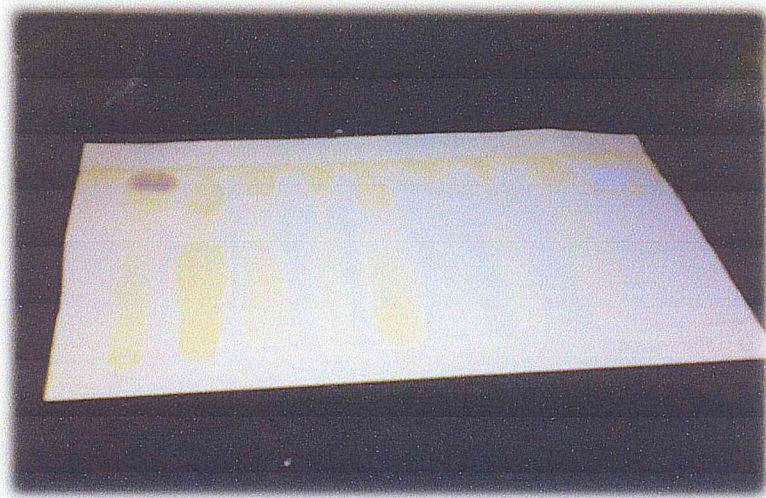


Figure 13: Profil chromatographique des extraits des composés phénoliques issus d'*Allium cepa*.

Il apparaît clairement sur ce chromatogramme que les extraits obtenus des bulbes d'oignon sont riches en polyphénols, montrant un nombre de spots avec des positions et d'intensité différentes.

Les rapports frontaux des spots issus de la séparation de l'extrait et même du témoin « acide gallique » sont donnés dans le tableau 10, sachant que le front du solvant est de l'ordre de 7.8 cm. Nous avons constaté que la tâche correspondante au témoin a un niveau de migration identique avec celle d'extraits. Cela confirme la présence des composés phénoliques dans nos extraits.

Tableau 10 : Les rapports frontaux R_f des différents CCM d'extrait et du témoin.

| Le système d'éluion | L'extrait | dc (cm) | R_f |
|---|-----------|---------|-------|
| chloroforme/méthanol/e au(16/24/0.4) (v/v/v) | E.Us | 5.7 | 0.73 |
| | E.Aq | 5.8 | 0.74 |
| | E.O.F | 5.8 | 0.74 |
| | E.O.S | 6 | 0.77 |
| | E.O.B | 6 | 0.77 |
| | E.O.CV | 5.9 | 0.75 |
| | E.O. Ac | 5.8 | 0.74 |
| | AG | 5.9 | 0.75 |

2.2 Caractérisation quantitative par la méthode de Follin Ciocalteu

La teneur des composés phénoliques a été déterminée par la méthode de Follin-Ciocalteu. Cette méthode est bien standardisée et largement pratiquée dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires.

Si le dosage de Follin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique aux phénols car cette méthode ne donne pas d'indication sur la nature des composés phénoliques présente dans l'extrait. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certaines substances, telle que la vitamine C, les caroténoïdes, les sucres réducteurs et les acides aminés aromatiques, peuvent en réduisant le complexe phosphotungstique-phosphomolybdénique interféré et conduit à une surestimation de la nature en composés phénoliques. En fait, cette méthode donne un aperçu sur la qualité réductrice d'un ensemble de composés en plus des composés phénoliques [50].

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations. Le tableau suivant enregistre les absorbances de l'acide gallique à chaque concentration:

Tableau n°11 : Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique

| | | | | | | | | | |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentration (mg/ml) | 0 | 0.03 | 0.06 | 0.09 | 0.12 | 0.25 | 0.5 | 0.75 | 1 |
| Absorbance (750nm) | 0.054 | 0.098 | 0.152 | 0.189 | 0.244 | 0.387 | 0.669 | 0.965 | 1.195 |

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée en prenant l'absorbance en fonction de chaque concentration (mg/ml)

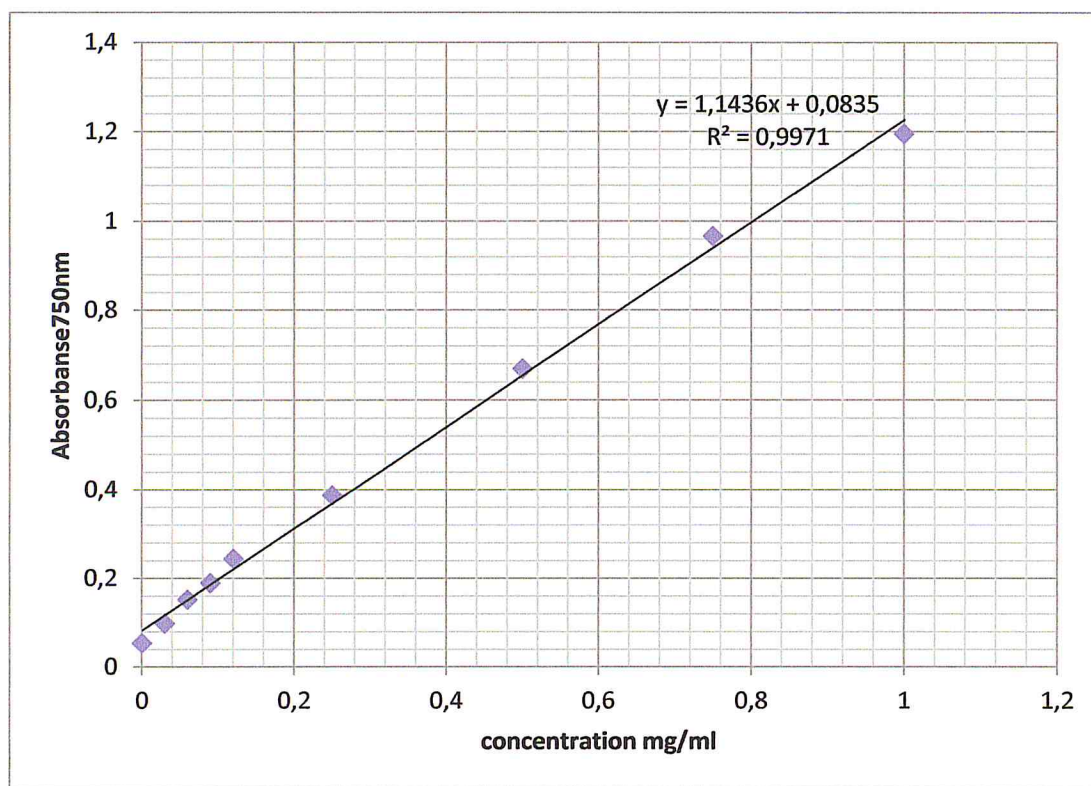


Figure 14 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ($y = 1.1436x + 0,0835$). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait (mg EAG/g d'extrait). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans les échantillons d'*Allium cepa* (les extraits hydro alcooliques et l'extrait aqueux).

Tableau 12 : les teneurs des poly phénols totaux des extraits d'*Allium cepa*

| Extrait | E.O.F | E.O.S | E.O.Ac | E.O.CV | E.O.B | E.Aq | E.Us |
|--------------------------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|------|
| Teneur PPT (mg EAG/g) | 11.2 | 9.08 | 6.88 | 6.32 | 4.875 | 4.775 | 3.67 |

D'après les résultats, on peut constater que tous les extraits des échantillons d'oignons étudiés, contiennent des polyphénols mais avec des quantités différentes (figure 15)

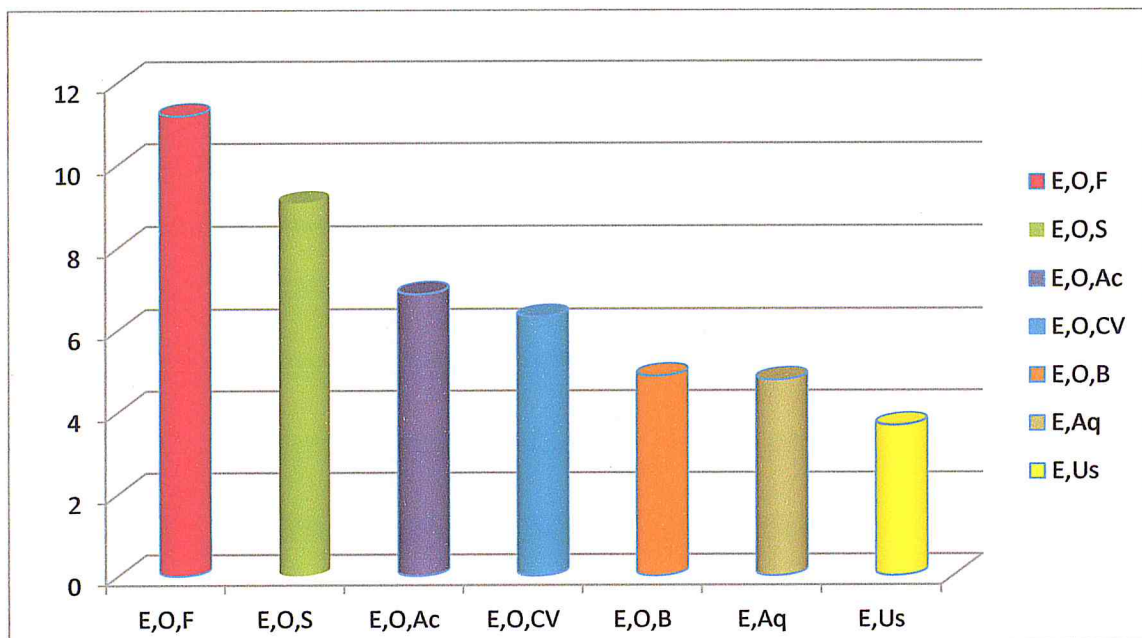


Figure 15 : Schéma graphique les teneurs des composés phénolique d'*Allium cepa*

La qualité et la quantité des polyphénols qui existent dans les bulbes d'oignon sont influencées par la méthode d'extraction, le solvant d'extraction et le type de traitement appliqué avant l'extraction.

D'après les valeurs des teneurs en polyphénols des échantillons d'*Allium cepa* étudiés (les extraits hydro alcooliques et l'extrait aqueux), qui sont représentées par la figure 15, on remarque que l'extrait hydro alcoolique d'oignon frais (E.O.F) possède la plus haute teneur en polyphénols (11.2 mg EAG/g), suivi par les extraits (E.O.S/ E.O.Ac/ E.O.CV/ E.O.B) avec les valeurs respectives de (9.08mg EAG/g), (6.88 mg EAG/g), (6.32 mg EAG/g), (4.875 mg EAG/g). Les plus faibles teneurs en polyphénols sont enregistrés aux extraits (E.Aq/E Us) avec les valeurs respectives (4.775 mg EAG/g) et (3.67mg EAG/g).

3. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de nos extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune pâle mesurable à 517 nm . Le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration des substances anti-radicalaires.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits a été faite en comparant avec celle des antioxydants standards : acide ascorbique « Vitamine C ». Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau n°13, suite d'une représentation graphique dans les figures 16.

Tableau 13 : La variation des absorbances et des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'antioxydant standard.

| Concentration mg/ml | 0 | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.14 | 0.18 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance | 0.213 | 0.139 | 0.101 | 0.078 | 0.064 | 0.043 | 0.031 | 0.029 | 0.020 | 0.017 |
| % d'inhibition | 0 | 34.7 | 52.58 | 63.38 | 69.95 | 79.81 | 85.44 | 86.38 | 90.61 | 92.01 |

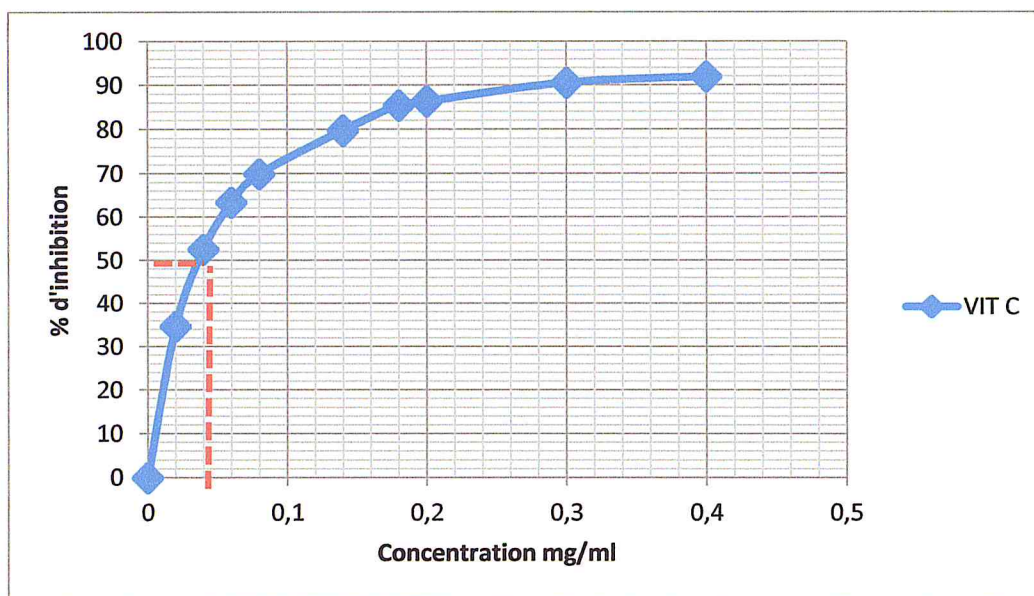


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration de vitamine C « Acide Ascorbique »

Afin de déterminer cette valeur pour chaque extrait, les résultats d'activité anti oxydante des extraits sont rassemblés dans le tableau 17 dans l'annexe3, et les courbes de la variation du pouvoir d'inhibition I% en fonction de la concentration sont représentées dans les figures suivantes :

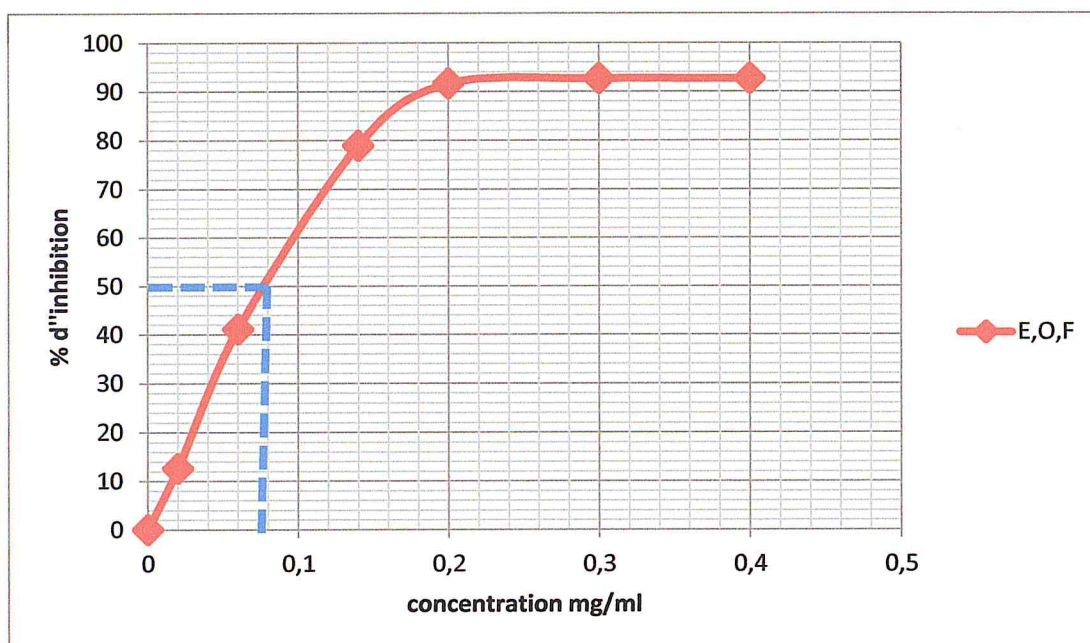


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.F

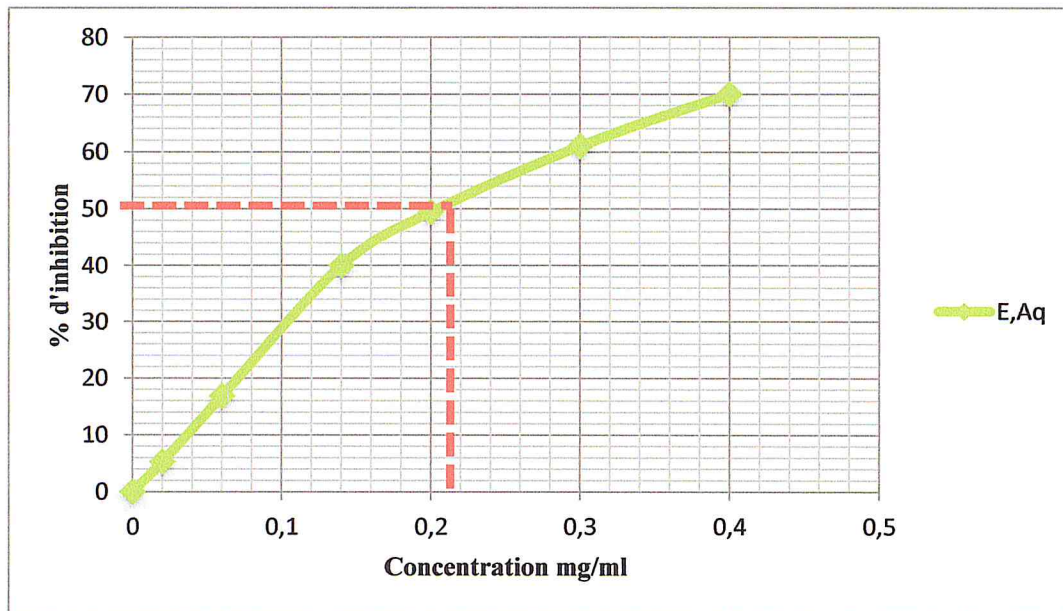


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.Aq

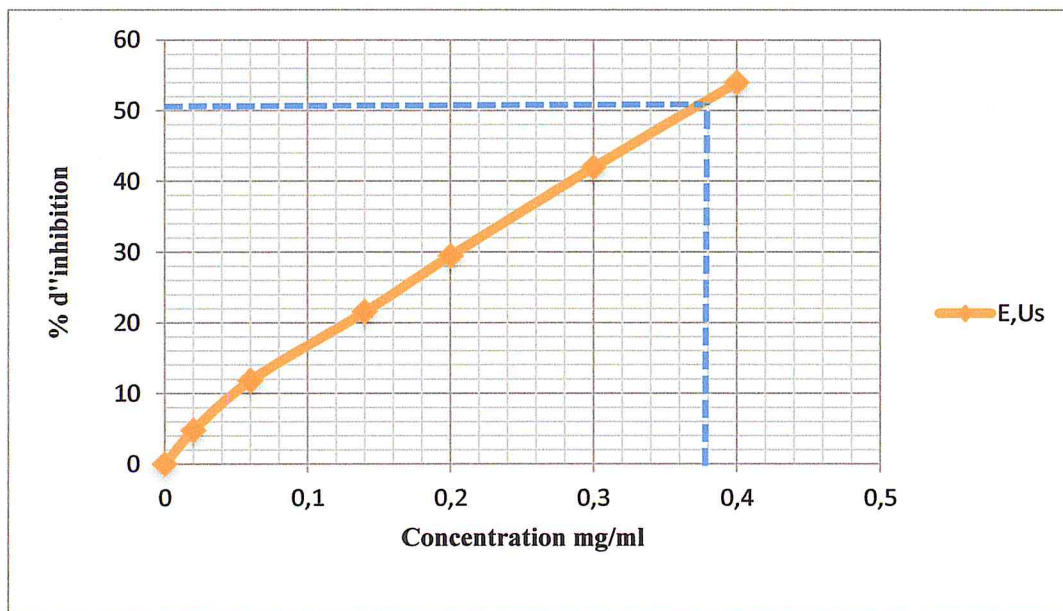


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.Us

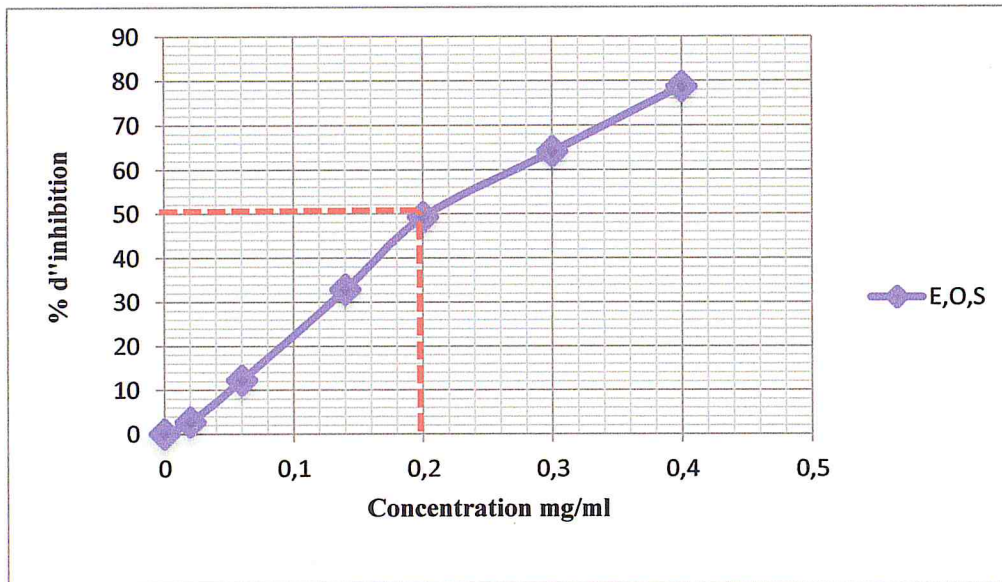


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.S

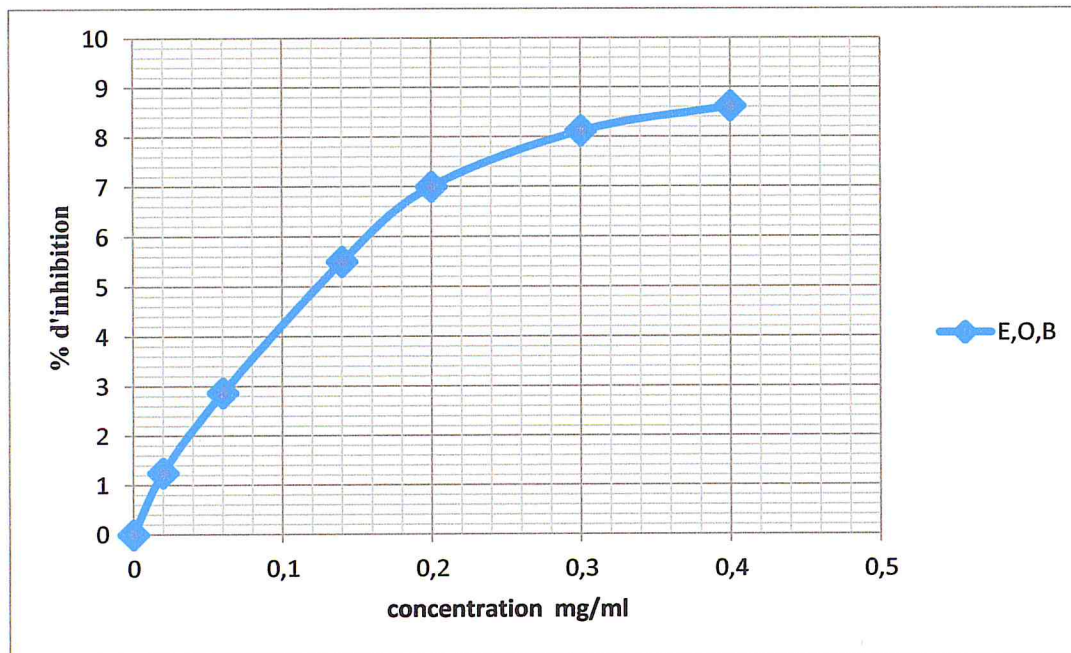


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.B

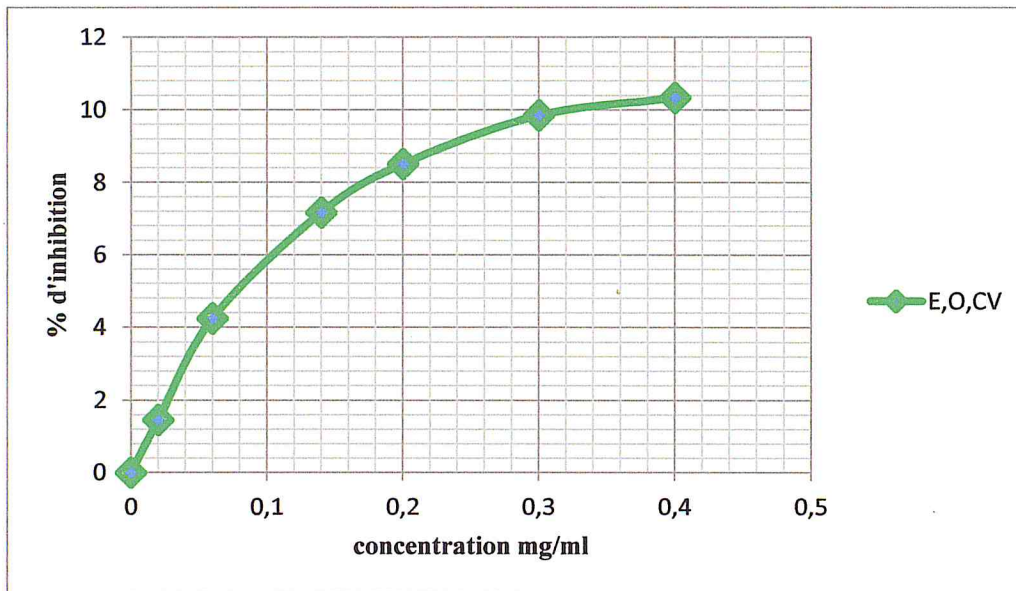


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.CV

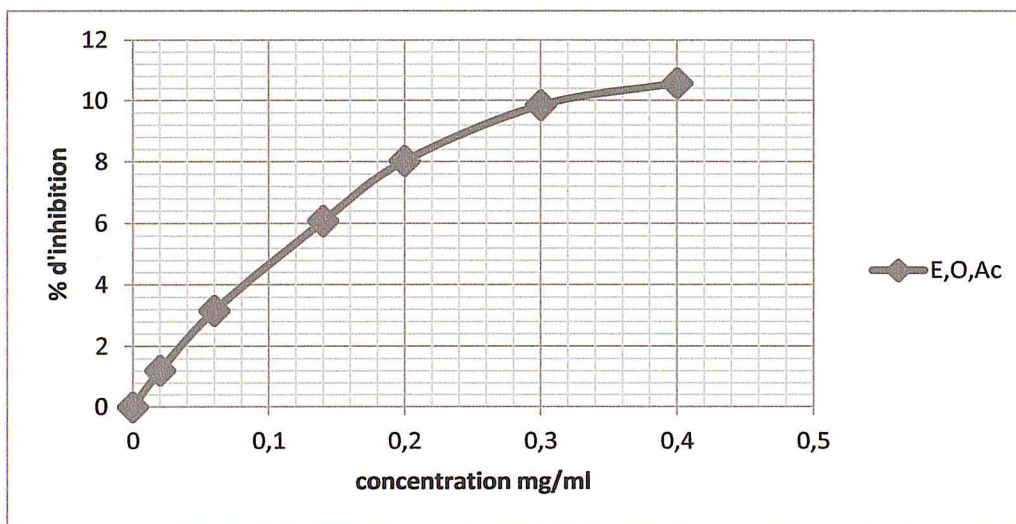


Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration d'E.O.Ac

Le paramètre IC_{50} qui est inversement proportionnel au potentiel d'anti radicalaire d'un antioxydant ($ARP = 1/IC_{50}$). Une valeur IC_{50} faible correspond à une activité élevée. Ces IC_{50} sont déterminées à partir des graphes (figure n°16-20). Pour caractériser le pouvoir anti-radicalaire ARP, nous avons calculé ce paramètre et illustré graphiquement afin de comparer et justifier nos résultats.

Tableau 14 : La variation des valeurs d' IC_{50} et ARP pour chaque extrait et pour l'antioxydant standard.

| IC_{50} (mg/ml) | VitC | E.O.F | E.O.S | E.Aq | E.Us | E.O.B | E.O.CV | E.O.Ac |
|----------------------|-------|-------|-------|------|------|-------|--------|--------|
| | 0.038 | 0.08 | 0.2 | 0.21 | 0.36 | - | - | - |
| ARP | 26.31 | 12.5 | 5 | 4.76 | 2.77 | - | - | - |

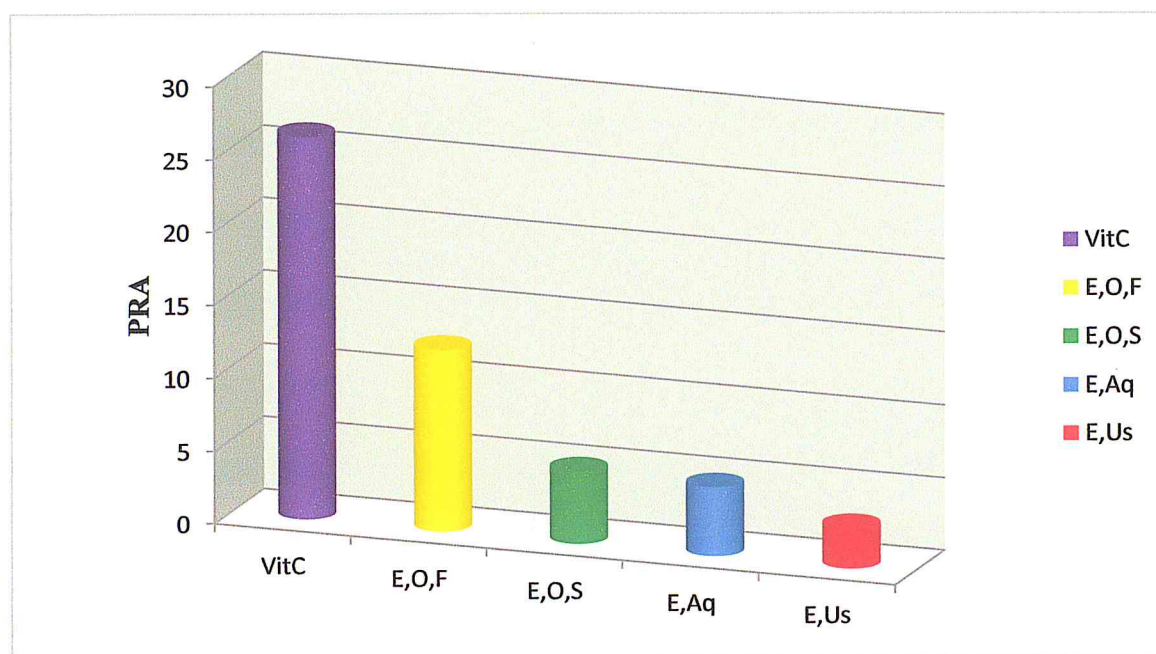


Figure 24 : Représentation graphique des extraits et d'antioxydant standard selon leurs ARP « test DPPH ».

Certains extraits d'*Allium cepa* traités (E.O.B/ E.O.CV/E.O.Ac) n'ont pas présenté une activité antioxydante. Au contraire d'autres extraits (E.O.F/ E.O.S/ E.Us/E.Aq) qui possédaient un pouvoir anti radicalaire, mais inférieur à celui de la vitamine C.

Les résultats montrent que l'extrait hydro alcoolique d'oignon frais présente le pouvoir anti radicalaire le plus fort, suivi par celui de l'extrait d'oignon sec et l'extrait aqueux, la plus faible activité antioxydante est observée chez l'extrait hydro alcoolique assisté aux ultrasons.

D'après ces résultats on peut dire que :

- L'oignon frais possède une teneur en PPT et une activité antioxydante plus fortes,
- Malgré que l'extraction aqueuse et hydro alcoolique assistée par ultrason ont donné les meilleurs rendements des composés phénoliques pendant l'extraction mais la teneur en PPT et l'activité antioxydante de ces extraits sont les plus faibles.

4. Etude de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des différents extraits de l'*Allium cepa* a été testée sur quatre souches bactériennes et trois souches fongiques. Le pouvoir antimicrobien de ces échantillons est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Les résultats des différents tests de l'activité antibactérienne des différents extraits phénoliques d'*Allium cepa* sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Activité antibactérienne de l'extrait phénolique et zone d'inhibition des souches b(mm).

| Extrait Souche | E.O.F | E.O.S | E.O.B | E.O.Ac | E.O.CV | E.Us | E.Aq |
|-------------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|------|------|
| <i>Escherichia coli</i> | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | - | ++ | - | + | - | + |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | + | - | - | + | + | - |
| Bacillus subtilis | - | - | - | + | - | - | - |

L'examen du tableau montre que presque toutes les souches bactériennes ne présentent pas une sensibilité vis-à-vis les extraits phénoliques avec une zone d'inhibition (<8 mm), sauf pour le cas de l'EO.B ; EOCV et l'extrait aqueux.

-La bactérie *Staphylococcus aureus* est sensible à l'extrait d'*Allium cepa* cuit à la vapeur et l'extrait aqueux avec une zone d'inhibition de 14 mm et Tan disque ; cette souche est très sensible à l'extrait brut présentant une zone d'inhibition de 15 mm.

- *Pseudomonas aeruginosa* est sensible à E.O.S, E.O .CV et E.US avec une zone d'inhibition de 12 mm et 11 mm de diamètre.

- Bacillus subtilis : présente une sensibilité uniquement pour l'E.O.Ac avec un diamètre de 10 mm.

- *Escherichia coli* : ne présente aucune sensibilité avec les extraits d'*Allium cepa*

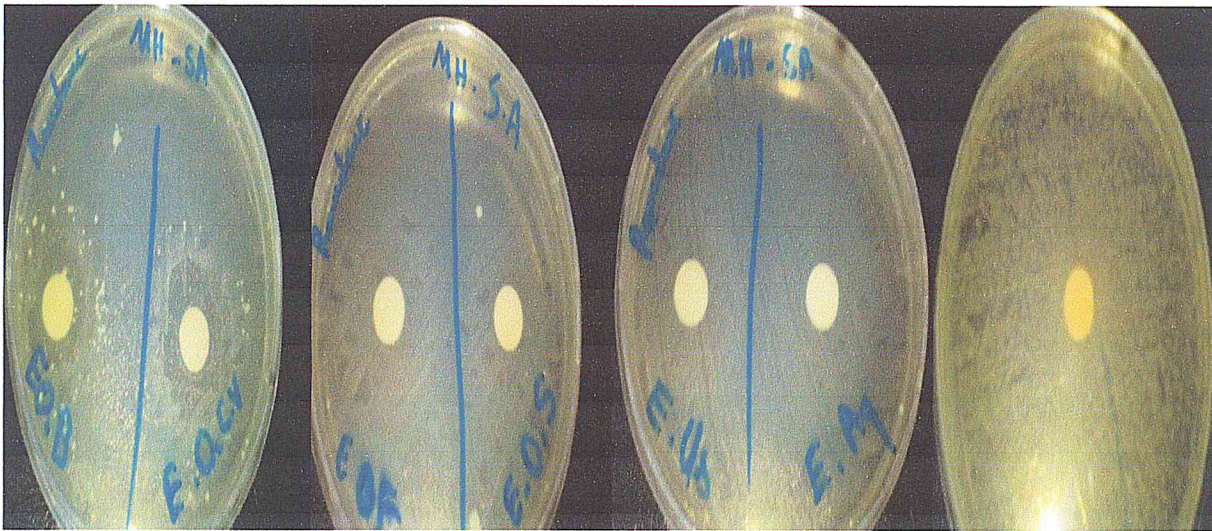


Figure 25 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas *Staphylococcus aureus*

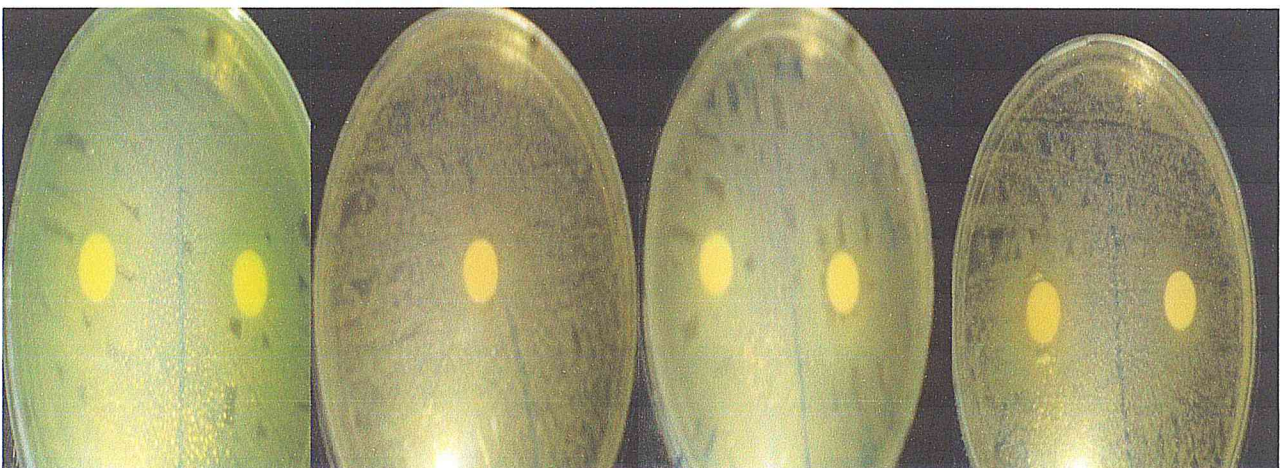


Figure 26 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas *Pseudomonas aeruginosa*

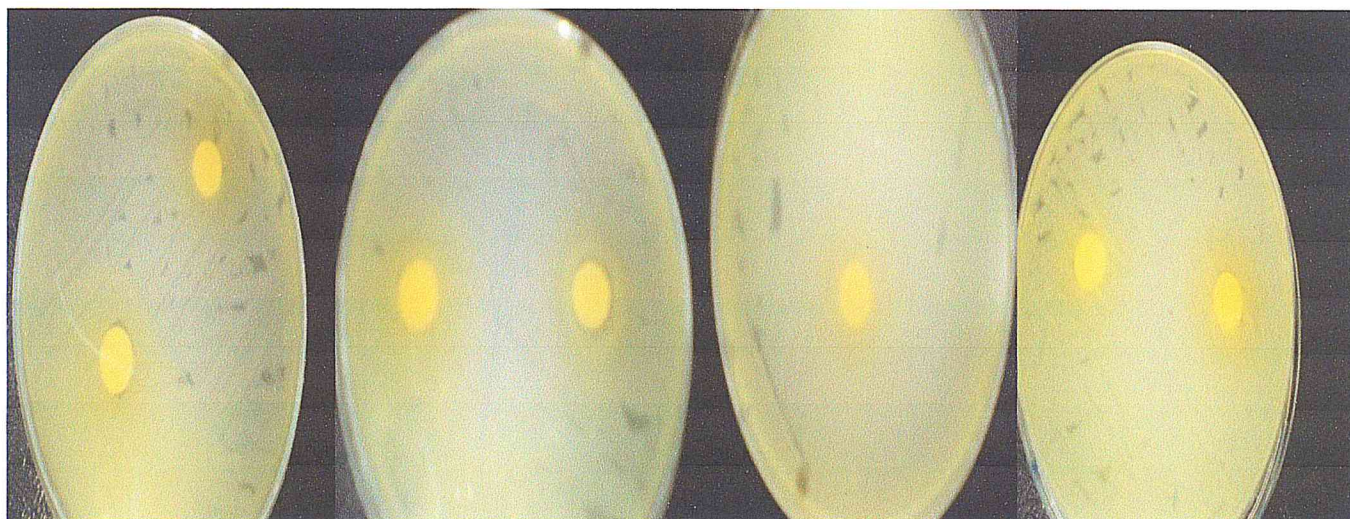


Figure 27 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas *Escherichia coli*

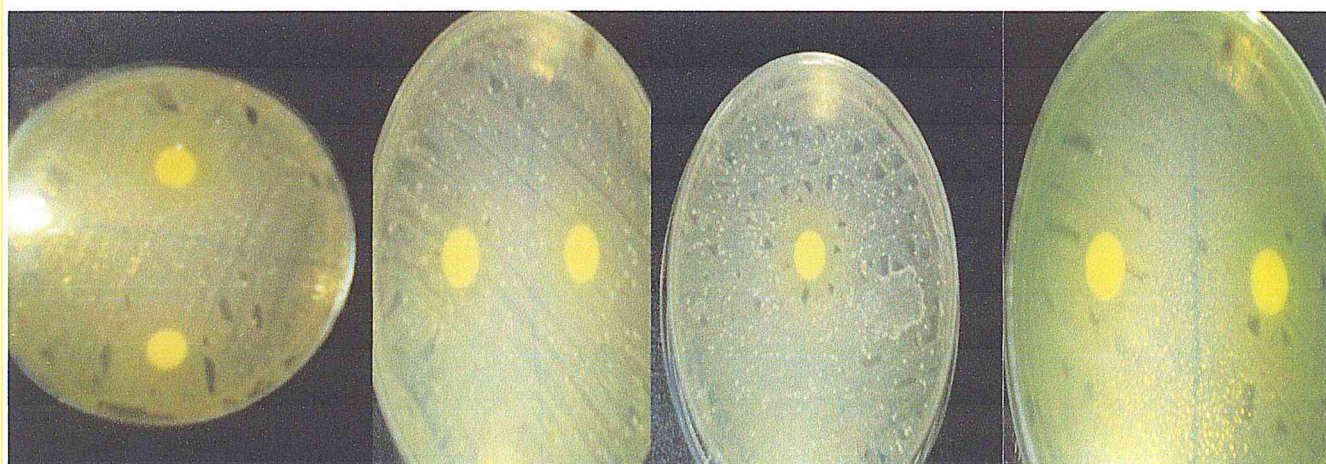


Figure 28 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas *Bacillus subtilis*

Les résultats des différents tests de l'activité antifongique des extraits phénoliques d'*Allium cepa* sont présentés dans le tableau n°16.

Tableau 16 : Activité antifongique de l'extrait phénolique sur milieu Sabouraud (mm).

| Extrait Souche | E.O.F | E.O.S | E.O.B | E.O.Ac | E.O.CV | E.Us | E.Aq |
|------------------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|------|------|
| <i>Candida albicans</i> | + | + | - | - | - | - | - |
| <i>Aspergillus</i> | + | + | + | - | - | - | - |
| Saccharomyces <i>cerevisiae</i> | + | + | - | + | - | - | - |

Le tableau montre que presque toutes les souches fongiques ne présentent pas une sensibilité vis-à-vis les extraits phénoliques avec une zone d'inhibition (<8 mm), sauf pour le cas de l'EO.B, E.O.S, E.O.F, E.O.Ac

-La souche *Candida albicans* est sensible à l'extrait hydro alcoolique d'*Allium cepa* frais ou sec avec une zone d'inhibition de 10-12 mm.

- La souche *Aspergillus* est sensible à E.O.S, E.O.F et E.O.B avec une zone d'inhibition de 12 mm et 11 mm de diamètre.

- La souche *Saccharomyces cerevisiae*: présente une sensibilité pour l'E.O.Ac, E.O.F, E.O.S, avec un diamètre de 11 mm.



Figure 29 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas *Candida albicans*

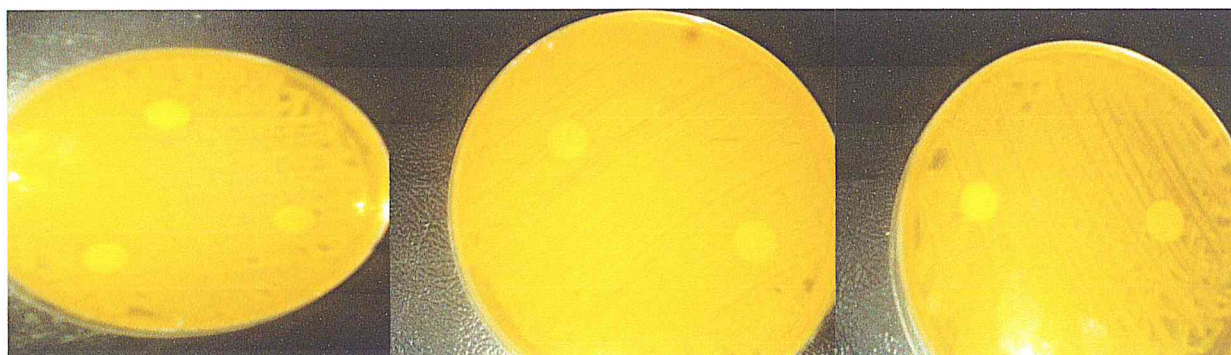


Figure 30: Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas *Saccharomyces cerevisiae*



Figure 31 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas *Aspergillus*

CONCLUSION



Ce travail avait pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques d'oignon rouge, ainsi d'étudier simultanément l'effet de certains paramètres comme le séchage, acidité, le mode de cuisson et la méthode d'extraction sur la quantité des polyphénols totaux et les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits.

Les résultats obtenus pour l'analyse quantitative des différents extraits phénoliques des échantillons en utilisant le test colorimétrique de Folin Ciocalteu, a montré que les extraits hydro alcooliques d'oignon frais, sec et acidifiée ont présenté les valeurs les plus élevées en polyphénols. (11,2 mg EAG/g), (9.08 mgEAG/g) et (6.88 mgEAG/g) respectivement, aux contraire des autres extraits (E.O.B/ E.O.CV. /E.Aq/ E.Us) qui ont des valeurs faibles.

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, basée sur la réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle. Les résultats ont montré que tous les extraits sauf (E.O.B/ E.O.CV/ E.O.Ac) étaient capables de réduire ce radical libre. Les valeurs les plus basses de IC₅₀ ont été enregistrées pour les extraits (E.O.F/ E.O.S), signifient qu'ils ont le pouvoir anti radicalaire le plus fort par rapport aux extraits (E.Us /E.Aq) présentant des valeurs IC₅₀ plus grandes et une capacité antioxydante plus faible.

Les tests antimicrobiens, en utilisant la technique de diffusion sur milieux solides, ont montré que seuls les extraits hydro alcooliques d'oignon sec et frais possédaient une activité antifongique. La plupart des extraits présentaient une activité anti bactérienne vis-à-vis de la bactérie testée.

D'après les résultats obtenus, il est très clair que le traitement à chaleur humide (la décoction, la cuisson à vapeur, l'extraction aqueux), les ultrasons et l'acidification sont des conditions opératoires qui affectent la teneur en polyphénols des extraits de bulbe d'*Allium cepa* et cela influe par la suite sur l'activité biologique étudiée.

Cette étude a confirmé qu'il y a une concordance entre le contenu phénolique des extraits hydro alcooliques et aqueuses et leur activité antioxydante et antibactérienne.

**REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE**



- [1]: A. Dauzat, J. Dubois et H. Mitterand. *Nouveau dictionnaire étymologique et historique*, Paris, Librairie Larousse. (1971).
- [2]: R. Tannahill, *Food in History*, Three Rivers Press, New-York. (1988).
- [3]: S. Toussaint, *Histoire naturelle et morale de la nourriture*, Bordas, Paris. (1987) .
- [4]: N. Benzeggouta, *Etude de l'activité antibactérienne des huiles Infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments*, Thèse Magister, en Pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine-Institut de Chimie. (2005).
- [5]: Y. Leung Albert, *Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics*. Wiley-Interscience Publication, New York. (1980).
- [6]: L. Bezanger-Beauquesne, M. Pinkas, M. Torck et F. Troutin, *Plantes médicinales des régions tempérées*. Maloine édition. (1990).
- [7]: Maire René, *Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara). Volume V: Monocotyledonae: Liliales, Liliaceae*. Editions Paul Le chevalier Paris (VIe). (1958).
- [8]: J. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentations* Lavoisier. (1999.)
- [9]: F. Baba-Aissa, *Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident*. EDAS Algérie. (2000).
- [10]: WHO monographs on selected medicinal plants. Volume I. WHO Geneva. (1999).
- [11]: Cl. Chaux., Cl. Foury. *Production légumière - tome 1 Généralités (série Agriculture d'aujourd'hui)* Edition Tec et Doc Lavoisier Paris, Londres, New York. (1994).
- [12]: V. Renaud. *Tous les légumes courants, rares ou méconnus, cultivables sous nos climats* Les éditions Eugen Ulmer Paris p 224. (2003).
- [13]: J.M. Clement. <<Larousse agricole>> Librairie Larousse Paris p1208. (1981)
- [14]: J. Burden et R.B H Wills. *Prévention des pertes après récolte: Fruits, légumes, racines et tubercules* Collection FAO ; formation N° 17/2 Rome. (1992)
- [15]: M. Ramy, Romeilah et A .Sayed. *Chemical Compositions, Antiviral and Antioxidant Activities of Seven Essential Oils*. Journal of Applied Sciences Research, 6(1): 50-62. (2010),
- [16]: M. Imad., M. Taj Eldin, El hadi. *Preliminary Study of the Clinical Hypoglycemic Effects of Allium cepa (Red Onion) in Type 1 and Type 2 Diabetic Patients*. Environmental Health Insights 4 71-77 (2010).

- [17]: Europea Medecines Agency (EMA), , Committee on HerbalMedecinalProducts (HMPC), Assessment report on *Allium cepa* L, bulbus, rapporteur par Milan Nagy.(2012).
- [18]: AN. Zohri, K. Abdel-Gawad et.; S .Saber,. *Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (Allium cepa L) oil*. Microbiol Research. 150(2) 167-172. (1995).
- [19]: N. Benkeblia ., *Antimicrobialactivityof essential oil extracts of variousonions (Allium cepa) and garlic (Allium sativum)*. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 37 263–268 (2004)
- [20]: JK.Willcox JK, SL.Ash, GL.Catignani. *Antioxidants and prevention of chronicdisease*. Critrev Food Scinutr ;44 (4):275-95. (2004) .
- [21]:G.Griffiths, L.Trueeman, et al. *Onions--a global benefit to health*. PhytotherRes ;16 (7):603-15. (2002).
- [22]: Y-H.Chu, C-L.Chang, H-F.Hsu. *Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity*. Journal of the science of food and agriculture 80:561-6. (2000).
- [23]: J.Yang, KJ.Meyers, , J.V.D Heide , R.H Liu. *Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions*. J Agric Food Chem3;52(22):6787-93. (2004).
- [24]: M-Y.Shon, S-D.Choi, , G-G Kahng, S-H Nam, N-J Sung. *Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions*. Food and chemical ltoxicology 42, 659 -666. Ref Type: Journal (Full). (2004).
- [25]: AM.Nuutila, R.Puupponen-Pimia, M.Aarni. K.M.O Caldentey . *Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity*. Food Chemistry 81, 485-493. 2003. Ref Type: Journal (Full) (2003).
- [26]: PC.Hollman, MB.Katan. *Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability*. Food ChemToxicol ;37(9-10):937-42. (199).
- [27]: Jeanne H.M. de Vrie, P.L.T.M.Karin Janssen, Peter C.H. Hollman, Wija A. van Staveren, Martijn B. Katan, *Consumption of quercetin and kaempferol in free-living subjectseating a variety of diets*. Cancer Lett March 19;114(1-2):141-4. (1997).
- [28]: M Aviram, M Kaplan, M. Rosenblat, B.Fuhrman. *Dietary antioxidants and paraoxonases against LDL oxidation and ather osclerosis development* HandbExpPharmacol ;(170):263-300. (2005).

- [29]: H Medjoudj . *étude du comportement au séchage de six légumes : carotte, courgette, cardon, pomme de terre, ail et oignon*. Thèse Magister. Université Mentouri de Constantine p 35
- [30] : N Belyagoubi., *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien*, Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen p 5, 7, 8, 9, 11, 12,13. (2011).
- [31]: F. Belkhiri. *Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du Tymus communis L. et Carthamus caerleus L.* Mémoire de Magister, Université de Setif. P 26-27. (2009).
- [32] J. Bouayed. *Etude de la corrélation anxiété / statut oxydatif des granulocytes chez la souris et évaluation des effets antioxydants / neuroactifs des polyphénols extraits de Prunus domestica L.* Thèse de doctorat, Université de Paul Verlaine-Metz. p 10 14-69- 72- 74. (2007).
- [33] S. Maamri .*Etude de pistacia atlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens*. Mémoire de Magister Université de Boumerdes. P 10 11 12 35 57. (2008).
- [34] : S.Achat. *Polyphenols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques*. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia.p111. (2013).
- [35] : Peterson, J., Dwyer, J., Adlercreutz, H., Scalbert, A., Jacques, P. & McCullough, M. L. *Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction*. *Nutr. Rev.* 68(10), 571–603. (2010).
- [36] : Hopkins, W. G. *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, p 280. (2003).
- [37] : F.Ben Abbes.. *Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « Phoenix dactylifera L. »*. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas-Setif p 26, 27, 29,30. (2011).
- [38] : Ez-Z. Nkhili . *Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Intéactions avec les ions du fer et du cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant*. Thèse de Doctorat , Université de Cadi Ayyad – Marrakech. (2009).
- [39] : N. Rabasso. *Chimie organique : Généralités, études des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques*, Edition De Boeck Supérieur, p 79 (2006).
- [40]: Gustav Fischer Verlag, Stuttgart· Jena, New York *Allium cepa L. (Onion) Part 1: Chemistry and analysis'*.(1996).

- [41] :L. G. D'Alessandro. *Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits*. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale Sciences de la matière, du Rayonnement et de l'Environnement. (2013).
- [42] : N. El darra. *Les composés phénoliques des raisins : étude du potentiel qualitatif et des procédés émergents d'extraction*. Thèse doctorat. Université de technologie Compiègne. (2013).
- [43] : Brijesh K. Tiwari .*Ultrasound: A clean, green extraction technology*. Trends in Analytical Chemistry,(2015).
- [44] : N. Bougandoura, N. Bendimerad, *Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.) Briq*. Revue « Nature &Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques,(2013).
- [45] : R. Hebbab., *Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margine d'olive de la variété Chamlal : evaluation de l'activité avant et après déglycosylation* , Mémoire de magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, (2014).
- [46] : C. Boubekri, *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques*, Thèse doctorat. Université Mohamed Khider – Biskra (2014).
- [47] : Popovici.C, Saykova.I, Tytkowski. B, *Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH* , Génie industriel, vol 4, 25-39 pp, (2009).
- [48] : Skhoudali. S, Benmessaoud. D, Essaqui. A, Zertoubi. M, Azzi. M, Benaissa. M, *Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (Chamaerops humilis L) du Maroc*, Mater, Environ, vol 5, 887-898 pp, (2014).
- [49] : C.Duraffourd, J-C.Lapraz ,R.Chemli. *La plante médicinale de la tradition à la science*. 1ér congrés international.Tunis. Ed.Granche.Paris, p 222 (1997).
- [50] : Boizot. N, Charpentier. P, *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier* , Techniques de l'Inra, vol 6, 79-82 pp. (2006).

ANNEXE



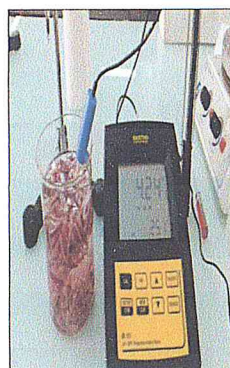
Annexe 1

1. L'extraction hydro alcoolique classique



2. Prétraitement de l'oignon rouge

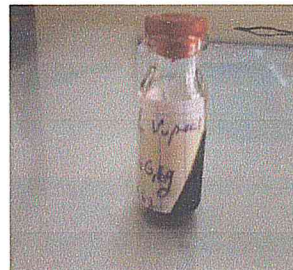
2.1. Traitement de l'oignon par macération dans un milieu acide pH=4



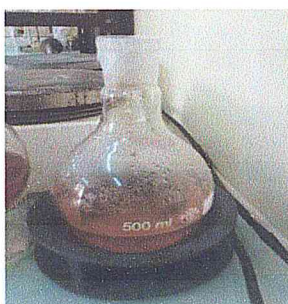
2.2. Séchage



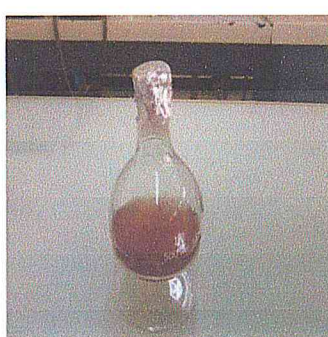
2.3 Cuire à la vapeur :



2.4. Décoction



3. Extraction assistée par ultrasons :



4. Extraction aqueux a reflux :

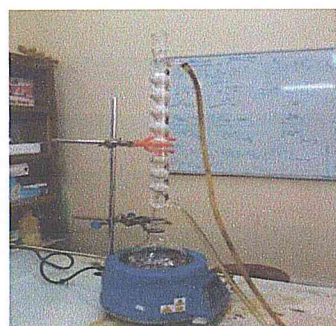


Figure 32: Photographies explicatives des étapes des différentes extractions des composés phénoliques

Annexe 2

5. Caractérisation quantitative par la méthode de Follin Ciocalteu

- La courbe d'étalonnage d'acide gallique :

Préparation de la solution mère :

Nous avons préparé une solution mère de 2mg/ml. Une masse de 20mg a été dissout dans 10 ml de solvant (éthanol /eau) avec une proportion de 50/50 v/v.

Préparation des solutions filles:

- Prélever 30 μ l de solution mère et leur ajouter 1.970ml de solvant \rightarrow 0.03mg/ml ;
- Prélever 60 μ l de solution mère et leur ajouter 1.940ml de solvant \rightarrow 0.06 mg/ml ;
- Prélever 90 μ l de solution mère et leur ajouter 1.910ml de solvant \rightarrow 0.09mg/ml ;
- Prélever 120 μ l de solution mère et leur ajouter 1.88ml de solvant \rightarrow 0.12mg/ml ;
- Prélever 250 μ l de solution mère et leur ajouter 1.750ml de solvant \rightarrow 0.25mg/ml.
- Prélever 500 μ l de solution mère et leur ajouter 1.500ml de solvant \rightarrow 0.5mg/ml.
- Prélever 750 μ l de solution mère et leur ajouter 1.250ml de solvant \rightarrow 0.75mg/ml.
- Prélever 1 ml de solution mère et leur ajouter 1ml de solvant \rightarrow 1mg/ml.

Après cette étape nous avons appliqué le protocole expérimental détaillé dans le chapitre 3 (matériel et méthode). Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau n°11



Figure 33: Photographies représentatives du changement de couleur de l'acide gallique au dosage des PPT par la méthode de Follin Ciocalteu

Annexe 3

6. Evaluation de l'activité antioxydante par test de piégeage du radical libre DPPH**Préparation de la solution de DPPH**

Une solution de DPPH de concentration de 0.04mg/ml a été préparée à partir de dissolution de 4mg de poudre de DPPH dans 100ml de méthanol. Nous avons couvrir la fiole par l'aluminium afin d'éviter la dégradation de cette solution.

Préparation de la solution mère

Nous avons préparé une solution mère de 2mg/ml. Une masse de 20mg a été dissout dans 10 ml de solvant (éthanol /eau) avec une proportion de 50/50 v/v.

Préparation des solutions filles:

- Prélever 20 μ l de solution mère et leur ajouter 1.980 ml de solvant \rightarrow 0.02mg/ml ;
- Prélever 40 μ l de solution mère et leur ajouter 1.960 ml de solvant \rightarrow 0.04 mg/ml ;
- Prélever 60 μ l de solution mère et leur ajouter 1.940 ml de solvant \rightarrow 0.06mg/ml ;
- Prélever 80 μ l de solution mère et leur ajouter 1.920 ml de solvant \rightarrow 0.08mg/ml ;
- Prélever 140 μ l de solution mère et leur ajouter 1.860 ml de solvant \rightarrow 0.14mg/ml ;
- Prélever 180 μ l de solution mère et leur ajouter 1.820 ml de solvant \rightarrow 0.18mg/ml ;
- Prélever 200 μ l de solution mère et leur ajouter 1.800 ml de solvant \rightarrow 0.20mg/ml.
- Prélever 300 μ l de solution mère et leur ajouter 1.700 ml de solvant \rightarrow 0.30mg/ml.
- Prélever 400 μ l de solution mère et leur ajouter 1.600 ml de solvant \rightarrow 0.40mg/ml.



Figure 34 : Photographies représentatives du changement de couleur de l'acide ascorbique au test de piégeage du radical libre DPPH

Le tableau suivant résume les résultats de test de piégeage du radical libre DPPH des extraits étudiés.

Tableau 17 : La variation des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits

| | Extrait | E.O.F | E.O.S | E.O.CV | E.O.B | E.Us | E.Aq | E.O.Ac |
|---------------------------|-----------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|
| | C (mg/ml) | | | | | | | |
| % d'inhibition | 0.02 | 12.63 | 2.72 | 1.46 | 1.25 | 4.76 | 5.26 | 1.21 |
| | 0.06 | 41.05 | 12.24 | 4.25 | 2.87 | 11.79 | 16.84 | 3.16 |
| | 0.14 | 78.94 | 32.87 | 7.17 | 5.5 | 21.54 | 40 | 6.08 |
| | 0.2 | 91.57 | 49.2 | 8.51 | 7 | 29.47 | 49.47 | 8.03 |
| | 0.3 | 92.63 | 64.17 | 9.85 | 8.12 | 41.95 | 61.05 | 9.84 |
| | 0.4 | 92.63 | 78.68 | 10.34 | 8.62 | 53.96 | 70 | 1.58 |