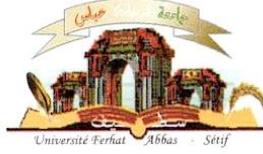


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1  
Faculté des Sciences de la Nature  
et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1  
كلية علوم الطبيعة والحياة

N°...../SNV/2019

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

**THÈSE**

Présentée par

DJENIDI Habiba

Pour l'obtention du diplôme de

**DOCTORAT EN SCIENCES**

**Filière : BIOLOGIE**

**Spécialité : BIOCHIMIE**

**THÈME**

**ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE ET ANTIRADICALAIRE DES  
ALIMENTS D'ORIGINE VÉGÉTALE CONSOMMÉS DANS LES  
RÉGIONS DE BISKRA ET SÉTIF**

Soutenue publiquement le **01 / 12 / 2019**

DEVANT LE JURY

<b>Président :</b>	BAGHIANI Abderrahmane	Pr. UFA Sétif 1
<b>Promoteur :</b>	KHENNOUF Seddik	Pr. UFA Sétif 1
<b>Examineurs :</b>	MEZIANE Toufik	Pr. Univ Batna 1
	ZAAMA Djamila	Pr. Univ Constantine 1
	LALAOUI Korichi	Pr. Univ Constantine 1
	DJIDEL Saliha	M.C.A. UFA Sétif 1

*Laboratoire de Phytothérapie Appliquée aux Maladies Chroniques*



## **Remerciement**

Je remercie en tout premier lieu ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné la force et l'aide pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier le Professeur Seddik KHENNOUF pour avoir dirigé cette thèse, pour son encadrement de qualité et sa confiance. Merci pour avoir toujours été disponible à mon écoute et pour m'avoir guidée tout le temps. Merci tout particulièrement pour le soutien scientifique et humain dès le début jusqu'à la fin de ce travail.

Je remercie le président du jury le Professeur BAGHIANI Abderrahmane et les examinateurs Professeur MEZIANE Toufik, Professeur ZAAMA Djamila et Docteur DJIDEL Saliha qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au Docteur BOUAZIZ Amel pour les nombreuses heures investies dans la correction de l'article, pour ses efforts et ses conseils valeureux.

J'adresse mes remerciements au Professeur AMIRA Smain, Docteur BENCHIKHE Fatima, Docteur DJIDEL Saliha, Docteur BENABDALLAH Hassiba et Professeur DAHAMNA Saliha pour leur aide et gentillesse.

Je remercie également mes amies pour leur gentillesse et amitié.

Enfin, je remercie tous les membres du laboratoire de Phytothérapie Appliquée aux Maladies Chroniques et le laboratoire de la Biochimie Appliquée.

Merci à toute personne qui a participé à la réalisation de ce travail.

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاطية المضادة للأكسدة للأغذية النباتية المستهلكة في منطقتي بسكرة وسطيف. التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات والدباغ في مستخلصات 36 فاكهة وخضروات مختارة تعكس غنى الخضر والفواكه بهاته المركبات خاصة الفول (360.22 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف) ، القرنبيط (340.22 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف)، الخس (300.66 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف)، الباذنجان (292.96 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف)، الملوخية ( 276.37 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف ) والرمان ( 200.51 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف). أظهرت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا *in vitro* لمستخلصات الفواكه والخضار أن الفاصوليا، البازلاء، القرع، الخس والموخية لها نشاطية مضادة للأكسدة قوية عن طريق ازالة الجذر الحر DPPH ، طريقة استخلاص المعادن، القدرة الإرجاعية واختبار تبييض ال  $\beta$ -كاروتين. بالإضافة إلى هذه العينات، يملك الباذنجان، العنب الأسود، الرمان، السلق و الخرشوف النجمي «القرنون» على أعلى مفعول ازالة الجذر الحر DPPH . ايضا، البطاطا، الجزر، اليقطين، اللفت، الخيار، القرنبيط، الملفوف، الخرشوف النجمي «القرنون» و السلق لديهم أقوى نشاطية استخلاص المعادن، بينما البصل، البطاطا، السلق و الفول لديهم أعلى قدرة إرجاعية. أيضا القرنبيط، الفول، الخرشوف، الخوخ والشمش تملك نشاطية مضادة للأكسدة عالية عن طريق اختبار تبييض ال  $\beta$ -كاروتين. دراسة تأثير مستخلصات الرمان والطماطم والتمر «دقلة نور» و الفلفل على النشاطية المضادة للأكسدة حيويا *in vivo* في كبد وكلية جرذان التجارب أظهرت تأثير وقائي معنوي خاصة للرمان عن طريق خفض مستوى MDA (انخفاض اكبر من - 31 %) ورفع مستوى GSH (اكبر من +49 %) ورفع نشاطية أنزيم الكاتالاز (اكبر من + 74 %). هاته النتائج تؤكد امكانية الوقاية من العديد من الامراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي بتناول اغذية نباتية متنوعة وغنية بالخضر والفواكه.

**الكلمات المفتاحية:** الاغذية النباتية، خضر، فواكه، النشاطية المضادة للأكسدة، الاجهاد التأكسدي، عديدات الفينول، الفلافونويدات.

## Résumé

Le but de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire des aliments d'origine végétale consommés dans les régions de Biskra et Sétif. Le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les extraits de 36 fruits et légumes reflète une richesse notamment de la fève (360.2 µg EAG/ mg d'extrait sec), le chou-fleur (340.22 µg EAG/ mg d'extrait sec), la laitue (300.66 µg EAG/ mg d'extrait sec), l'aubergine (292.96 µg EAG/ mg d'extrait sec), la corète (276.37 µg EAG/ mg d'extrait sec) et la grenade (200.51 µg EAG/ mg d'extrait sec) en ces composés. L'étude *in vitro* de l'activité antioxydante des fruits et légumes confirme que l'haricot vert, le pois vert, la courgette, la laitue et la corète présentent une forte activité antioxydante évaluée par la méthode du piégeage du radical DPPH, la chélation du fer ferreux, le pouvoir réducteur du fer ferrique et le test de blanchissement du β-carotène. En plus de ces plantes, la blette, l'artichaut (fleur), l'aubergine, le raisin noir et la grenade possèdent l'activité de piégeage du radical DPPH la plus élevée. Cependant, la fève, la pomme de terre, la carotte, la citrouille, le navet, le concombre, le chou-fleur et l'artichaut (fleur), le chou et la blette ont la plus forte activité chélatrice des métaux. L'oignon, la pomme de terre, la fève et la blette ont le pouvoir réducteur le plus élevé. De plus, la fève, le chou-fleur, l'artichaut (tige), la pêche et l'abricot ont une activité antioxydante élevée en utilisant le test de blanchissement du β-carotène. L'étude *in vivo* de l'effet des extraits de la grenade, la tomate, les dattes « Deglat-Nour » et le piment sur les marqueurs du stress oxydants dans le foie et les reins des rats a révélé une action préventive significative surtout de la grenade en diminuant le taux du MDA (une diminution supérieure à - 31 % par rapport au groupe contrôle) et en augmentant le taux du glutathion réduit GSH (une augmentation supérieure à + 49% par rapport au groupe contrôle) et l'activité enzymatique de la catalase (une augmentation supérieure à +74 % par rapport au groupe contrôle). Ces résultats confirment la possibilité de prévention des maladies associées au stress oxydatif par une alimentation variée et riche en fruits et légumes.

**Mots clés :** Activité antioxydante, stress oxydatif, aliments d'origine végétale, fruits, légumes, polyphénols, flavonoïdes.

## **Abstract**

The purpose of this work is the evaluation of the antioxidant and antiradical activity of plant foods consumed in the regions of Biskra and Setif. The dosage of total polyphenols, flavonoids and tannins in the extracts of 36 fruits and vegetables reflects a wealth including the bean (360.2  $\mu\text{g EAG/ mg}$  of dry extract), cauliflower (340.22  $\mu\text{g EAG/ mg}$  of dry extract), lettuce (300.66  $\mu\text{g EAG/ mg}$  of dry extract), eggplant (292.96  $\mu\text{g EAG/ mg}$  of dry extract), mallow (276.37  $\mu\text{g EAG/ mg}$  of dry extract) and pomegranate (200.51  $\mu\text{g EAG/ mg}$  of dry extract) in these compounds. *In vitro* study of the antioxidant activity of fruits and vegetables confirms that green beans, green peas, courgette, lettuce and mallow have a strong antioxidant activity by the method of scavenging of the radical DPPH, the chelation of ferrous iron, the reducing power of ferric iron and the bleaching test of  $\beta$ -carotene. In addition to these plants, the chard, artichoke (flower), eggplant, black grape and pomegranate have the highest DPPH radical scavenging activity. However, the bean, potato, carrot, pumpkin, turnip, cucumber, cauliflower and artichoke (flower), cabbage and chard have the strongest chelating activity of metals. The onion, potato, bean and chard have the highest reductive power. In addition, the bean, cauliflower, artichoke, peach and apricot have high antioxidant activity using the  $\beta$ -carotene bleaching test. The *in vivo* study of the effect of pomegranate extracts, tomato, "Deglat-Nour" dates and pepper on the oxidative stress markers in the liver and kidneys of rats revealed a significant preventive action, especially pomegranate by decreasing the level of MDA (a decrease of more than -31% compared to the control group) and increasing the reduced GSH glutathione an increase greater than +49% compared to the control group) and catalase enzymatic activity (an increase greater than +74% compared to the control group). These results confirm the possibility of preventing diseases associated with oxidative stress through a varied diet rich in fruits and vegetables.

**Key words:** Antioxidant activity, oxidative stress, plant foods, fruits, vegetables, polyphenols, flavonoids

## Liste des abréviations

**AGEs:** Advanced glycation end- products.

**ARE:** Antioxidant response element

**BHT:** Hydroxytoluène butylé

**CAT:** Catalase

**Cyt C:** Cytochrome C

**DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EAG :** Equivalent acide gallique.

**EAT :** Equivalent acide tannique

**EDTA :** Acide éthylène diamine tétraacétique

**EQ :** Equivalent de quercétine.

**FADH<sub>2</sub> :** Flavine adenine dinucléotide (forme réduite)

**FMNH<sub>2</sub> :** Flavine mononucléotide (forme réduite)

**GPx :** Glutathion peroxydase

**GSH :** Glutathion réduit

**GSSG:** Glutathion oxydé

**GST:** Glutathion S-transférase

**Keap1:** Kelch-like ECH-associated protein 1

**LDL** : Lipoprotéines de faible densité

**MDA** : Malondialdéhyde

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite)

**NOS**: Nitrique oxyde synthase.

**Nrf 2**: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2.

**ORAC**: Oxygen radical absorbance capacity

**PAL**: La phenylalanine ammonia lyase.

**ROO•**: Radical peroxyde

**ROOH**: Hydroperoxyde

**ROS**: Reactive oxygen species

**SOD**: Superoxyde dismutase

**TBARS**: Thiobarbituric acid reactive substances

**UQ** : Ubiquinone

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 1</b> : Les polyphénols dans les aliments et les boissons d'origines végétales.....	<b>47</b>
<b>Tableau 2</b> : Nom commun, région d'achat, nom scientifique et la partie utilisée des légumes.....	<b>52</b>
<b>Tableau 3</b> : Nom commun, région d'achat, nom scientifique et la partie utilisée des fruits.....	<b>53</b>
<b>Tableau 4</b> : Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les légumes.....	<b>65</b>
<b>Tableau 5</b> : Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les fruits.....	<b>65</b>
<b>Tableau 6</b> : Activité antioxydante des extraits des légumes.....	<b>70</b>
<b>Tableau 7</b> : Activité antioxydante des extraits des fruits.....	<b>71</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Le stress oxydant.....	<b>04</b>
<b>Figure 2</b> : Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons.....	<b>06</b>
<b>Figure 3</b> : Addition de HO• sur la guanine.....	<b>14</b>
<b>Figure 4</b> : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	<b>15</b>
<b>Figure 5</b> : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.....	<b>16</b>
<b>Figure 6</b> : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	<b>18</b>
<b>Figure 7</b> : Les différents niveaux de mécanismes antioxydants.....	<b>21</b>
<b>Figure 8</b> : Les enzymes antioxydantes.....	<b>21</b>
<b>Figure 9</b> : Mécanisme enzymatique de la SOD.....	<b>22</b>
<b>Figure 10</b> : Mécanisme enzymatique de la CAT.....	<b>22</b>
<b>Figure 11</b> : Mécanisme enzymatique de la GPx.....	<b>23</b>
<b>Figure 12</b> : Vitamines antioxydantes.....	<b>26</b>
<b>Figure 13</b> : Cycle de la vitamine E et de la vitamine C.....	<b>27</b>
<b>Figure 14</b> : Structure de l'unité isoprène .....	<b>28</b>
<b>Figure 15</b> : Exemples des principaux caroténoïdes.....	<b>29</b>
<b>Figure 16</b> : Quenching physique de l'oxygène singulet par les caroténoïdes.....	<b>30</b>
<b>Figure 17</b> : Phosphatidylcholine.....	<b>30</b>
<b>Figure 18</b> : Exemples d'acides phénoliques.....	<b>33</b>
<b>Figure 19</b> : Squelette des flavonoïdes.....	<b>34</b>
<b>Figure 20</b> : Exemples des flavonoïdes.....	<b>35</b>

<b>Figure 21</b> : Biosynthèse des flavonoïdes.....	<b>36</b>
<b>Figure 22</b> : Squelette des lignanes.....	<b>37</b>
<b>Figure 23</b> : Exemples de lignanes.....	<b>37</b>
<b>Figure 24</b> : Acide tannique.....	<b>38</b>
<b>Figure 25</b> : Relation structure-activité des flavonoïdes sur l'inhibition de la xanthine oxydase.....	<b>42</b>
<b>Figure 26</b> : Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques.....	<b>42</b>
<b>Figure 27</b> : Piégeage des espèces réactives d'oxygène par les flavonoïdes.....	<b>43</b>
<b>Figure 28</b> : Comparaison de l'activité antioxydante des différents flavonoïdes.....	<b>43</b>
<b>Figure 29</b> : Principe du dosage du MDA.....	<b>60</b>
<b>Figure 30</b> : Principe de dosage du glutathion.....	<b>61</b>
<b>Figure 31</b> : Effet de l'extrait de grenade sur la concentration de MDA dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>76</b>
<b>Figure 32</b> : Effet de l'extrait de tomate sur la concentration de MDA dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>78</b>
<b>Figure 33</b> : Effet de l'extrait de dattes sur la concentration de l' MDA dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>79</b>
<b>Figure 34</b> : Effet de l'extrait de piment sur la concentration de l'MDA dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>80</b>
<b>Figure 35</b> : Effet de l'extrait de grenade sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>82</b>
<b>Figure 36</b> : Effet de l'extrait de tomate sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>83</b>

<b>Figure 37</b> : Effet de l'extrait des dattes sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>84</b>
<b>Figure 38</b> : Effet de l'extrait de piment sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>85</b>
<b>Figure 39</b> : Effet de l'extrait de grenade sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>87</b>
<b>Figure 40</b> : Effet de l'extrait de tomate sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>88</b>
<b>Figure 41</b> : Effet de l'extrait de dattes sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>89</b>
<b>Figure 42</b> : Effet de l'extrait de piment sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B).....	<b>90</b>

## Sommaire

<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>Revue bibliographique</b>	
<b>1. Le stress oxydant.....</b>	<b>04</b>
1.1.Sources des espèces réactives et les radicaux libres.....	05
1.2.Espèces réactives de l'oxygène (ROS).....	07
1.2.1.Anion superoxyde.....	08
1.2.2.Peroxyde d'hydrogène.....	09
1.2.3. Radical hydroxyle.....	10
1.2.4. Monoxyde d'azote.....	11
1.2.5. Oxygène singulier.....	12
1.1.Dommages induits par le stress oxydatif.....	13
1.3.1. Modification de l'ADN.....	13
1.3.2. Modifications des protéines.....	16
1.3.3. Modification des lipides.....	17
1.3.4. Modification des glucides.....	18
1.4. Implications pathologiques des espèces réactives d'oxygène.....	19
<b>2. Les défenses antioxydantes.....</b>	<b>20</b>
2.1. Défenses antioxydantes endogènes.....	21
2.2. Défenses antioxydantes exogènes.....	24
2.2.1. Vitamines et caroténoïdes.....	25
2.2.2. Phospholipides.....	30
2.2.3. Acides aminés et peptides.....	30
2.2.4. Oligo-éléments.....	31
<b>3. Les polyphénols.....</b>	<b>31</b>

3.1. Acides phénoliques.....	33
3.2. Flavonoïdes.....	34
3.3. Lignanes.....	37
3.4. Tannins.....	37
3.5. Les polyphénols comme antioxydants.....	38
3.5.1. Inhibition enzymatique.....	38
3.5.2. Chélation des ions métalliques.....	41
3.5.3. Piégeage des radicaux libres.....	42
3.6. Activité antioxydante des polyphénols dans les aliments.....	44
3.7. Alimentation et biodisponibilité des polyphénols.....	45
3.8. Les polyphénols dans les aliments.....	46
3.9. Processus de transformation et potentiel antioxydant des aliments.....	48
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>1. Matériel et méthodes.....</b>	<b>52</b>
1.1. Matériel végétal.....	52
1.2. Animaux.....	53
1.3. Extraction.....	53
1.4. Dosage des polyphénols totaux.....	54
1.5. Dosage des flavonoïdes.....	54
1.6. Dosage des tannins.....	55
1.7. Activité antioxydante <i>in vitro</i> des extraits des fruits et légumes.....	55
1.7.1. Activité antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle).....	55
1.7.2. Activité chélatrice des ions ferreux.....	56

1.7.3. Pouvoir réducteur du fer ferrique.....	56
1.7.4. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène.....	56
1.8. Activité antioxydante <i>in vivo</i> des extraits des fruits et légumes.....	57
1.8.1. Traitement des animaux.....	58
1.8.2. Sacrifice des animaux.....	59
1.8.3. Préparation des homogénats.....	60
1.8.4. Dosage des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS).....	60
1.8.5. Dosage du glutathion réduit GSH.....	61
1.8.6. Dosage des protéines tissulaires.....	62
1.8.7. Dosage de l'activité enzymatique du catalase.....	62
1.9. Analyse statistique.....	63
<b>2. Résultats et discussion.....</b>	<b>64</b>
2.1. Teneur en polyphénols totaux.....	64
2.2. Teneur en flavonoïdes.....	66
2.3. Teneur en tannins.....	67
2.4. Activité antioxydante <i>in vitro</i> des extraits des légumes et fruits.....	69
2.4.1. Activité antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH.....	69
2.4.2. Activité chélatrice des ions ferreux.....	72
2.4.3. Pouvoir réducteur du fer ferrique.....	72
2.4.4. Test de blanchissement de $\beta$ -carotène /acide linoléique.....	73
2.5. Activité antioxydante <i>in vivo</i> des extraits des fruits et légumes .....	75
2.5.1. Effet des extraits sur la peroxydation lipidique.....	75
2.5.2. Effet des extraits sur le taux de glutathion réduit GSH.....	82
2.5.3. Effet des extraits sur l'activité enzymatique de la catalase.....	87

<b>Conclusion générale et perspectives</b> .....	<b>92</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>94</b>
<b>Annexes</b>	
Annexe 1.....	<b>114</b>
Annexe 2.....	<b>115</b>
Annexe 3.....	<b>127</b>
Annexe 4.....	<b>129</b>

## **Introduction**

Les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS : reactive oxygen species), sont produits au cours du fonctionnement normal des cellules, notamment lors de la respiration cellulaire et de la lutte contre les agents exogènes. Ils sont également produits, en quantité accrue, lors de certains processus pathologiques. Du fait de leur forte réactivité, ces dérivés peuvent provoquer des lésions à divers niveaux cellulaires dont certaines favorisent le développement de maladies comme les cancers et les maladies cardiovasculaires. Ces ROS sont physiologiquement neutralisées par divers mécanismes faisant intervenir des minéraux ou vitamines que l'on qualifie donc d'antioxydants. Il s'agit, notamment, du zinc, du sélénium, des vitamines E et C, des caroténoïdes, et des polyphénols. Les sujets ayant un apport insuffisant de ces constituants seraient plus exposés aux cancers et aux maladies cardiovasculaires.

La prévention nutritionnelle du stress oxydant et de ses conséquences implique, comme mesure première, l'optimisation des apports en antioxydants par l'alimentation. Les bienfaits d'une alimentation riche en fruits et légumes sont reconnus et attribués à leur teneur élevée en antioxydants. En outre, de nombreuses études ont montré que les régimes riches en fruits et légumes réduisent le risque de développement de nombreuses maladies associées au stress oxydatif telles que le cancer, le vieillissement, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives.

L'effet bénéfique des polyphénols des aliments est important pour la santé des consommateurs, ce qui nécessite l'évaluation de leur activité antioxydante.

Des recommandations consistant à manger 5 fruits et légumes par jour ne sont pas toujours complètes. En effet, une question principale reste : est-ce que tous les fruits et légumes sont équivalents en termes de bénéfices sur la santé ? A ce sujet, nous souhaitons de répondre à la

question suivante : quels sont les fruits et légumes les plus prometteurs en tant qu'anti-oxydants dans notre alimentation.

L'objectif dans cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et antiradicalaire des aliments d'origine végétale notamment les fruits et légumes consommés dans les régions de Biskra et Sétif, qui pourraient représenter un élément de prévention par une alimentation mieux réfléchie.

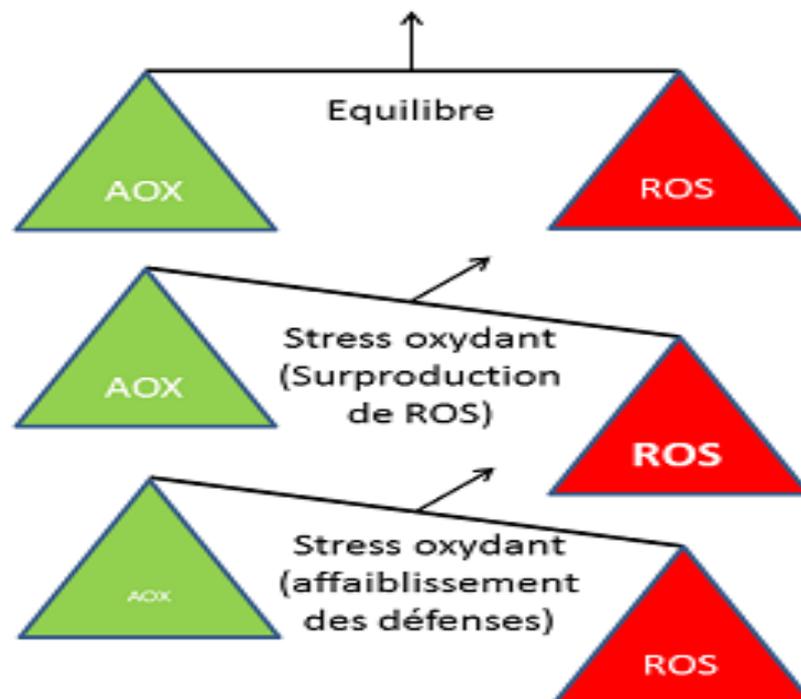
Ainsi, l'extraction des polyphénols de 36 fruits et légumes, le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins et l'activité antioxydante et antiradicalaire des extraits *in vitro* et *in vivo* ont été suivies dans ce travail.

# **Revue bibliographique**

### 1. Le stress oxydant

Le terme de stress oxydant peut se définir par la rupture de l'homéostasie redox. C'est-à-dire qu'une surproduction des radicaux libres, des espèces réactives d'oxygène et de nitrogène, etc., ou alors un déficit des mécanismes de défense antioxydante (enzymatiques ou non), ou enfin la combinaison de ces deux phénomènes aboutit à une surexposition des molécules biologiques cibles vis-à-vis des réactions oxydatives dommageables (**Figure 1**).

En effet, l'accumulation d'entités oxydatives hautement réactives est généralement cytotoxique. Ainsi, une installation chronique d'un stress oxydant, comme c'est le cas dans de nombreuses pathologies comme le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives etc., peut à terme provoquer d'importantes altérations cellulaires et tissulaires (Scandalios, 2002).

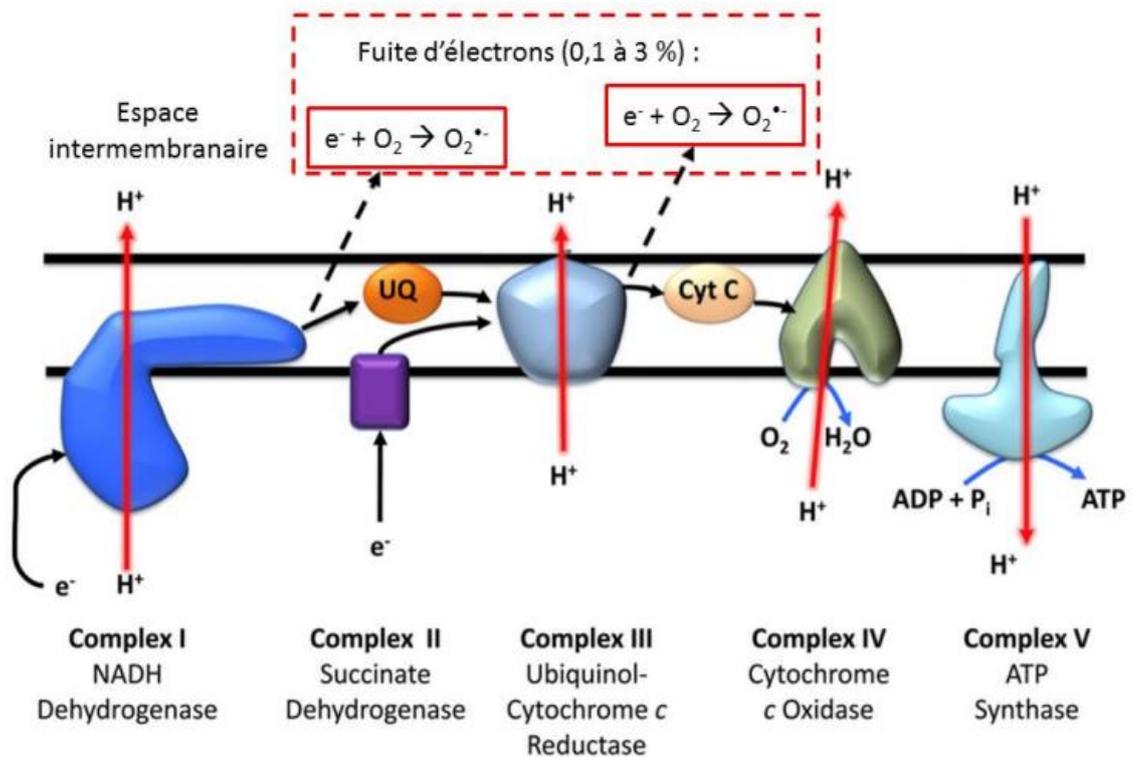


**Figure 1** : Le stress oxydant AOX : antioxydant. ROS: reactive oxygen species (Scandalios, 2002)

### 1.1.Sources des espèces réactives et les radicaux libres

Les ROS peuvent être générées par le métabolisme cellulaire lui-même. En effet diverses réactions enzymatiques s'accompagnent d'une production de radicaux ou d'espèces réactives, notamment de l'oxygène. L'inflammation par exemple, à travers le « burst oxydatif » (augmentation brutale de la consommation d'oxygène) induisant l'activation de la NADPH oxydase, s'accompagne de la production d'anion superoxyde. D'autres activités enzymatiques sont également productrices de ROS comme le cytochrome P450, les peroxysomes ou la xanthine oxydase (Rahman, 2007). Par ailleurs, des réactions non enzymatiques comme celles catalysées par la présence de métaux de transition réduits (le fer par exemple), ou encore la réaction avec la semi-ubiquinone représentent d'importantes sources d'espèces hautement réactives (Valko *et al.*, 2007).

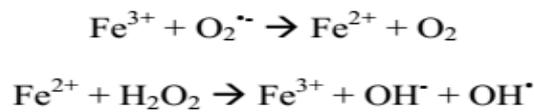
Un élément clé au sein des espèces réactives de l'oxygène est l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , conséquent de la réduction de l'oxygène moléculaire. C'est notamment au sein de la chaîne de transport d'électrons au niveau mitochondrial qu'une partie de l' $O_2$ , et une partie des électrons, sont détournés de leur chemin habituel, à savoir la réduction d' $O_2$  en  $H_2O$  (**Figure 2**). On dit qu'il y a une fuite d'électrons, qui vont trouver le dioxygène comme accepteur final (Valko *et al.*, 2007). Selon les sources, cette fuite d'électrons représente entre 0,1 et 3% du flux total de la chaîne respiratoire. Cette production de ROS par la chaîne respiratoire peut encore être amplifiée dans certaines conditions physiologiques comme l'hyperglycémie et l'alcoolisme (Beckman et Ames, 1998).



**Figure 2:** Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons (UQ : Ubiquinone ; Cyt C : Cytochrome C) (Al Ghoulé *et al.*, 2011)

L'anion superoxyde va par ailleurs pouvoir être dismuté, réaction qui peut être catalysée par la superoxyde dismutase, ayant pour conséquence la génération de peroxyde d'hydrogène. Ce dernier n'est pas une espèce radicalaire en tant que telle. Cependant, il provoque de nombreux dégâts oxydatifs. En effet, comme a été décrit précédemment, le peroxyde d'hydrogène peut alors réagir avec des métaux de transition résultant en sa dissociation en radical hydroxyle  $O\bullet H$ , extrêmement réactif et jugé responsable de l'initiation de nombreux dommages au niveau des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines ou encore des lipides membranaires (Droge, 2002).

La réaction de Fenton illustre la dissociation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> catalysé par le fer ferreux



De plus, le peroxyde d'hydrogène peut, grâce à la réaction avec l'anion superoxyde, dite réaction de Haber-Weiss, générer une production de radical hydroxyle



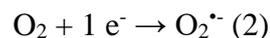
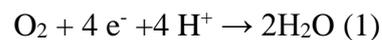
Les autres sources de ROS peuvent être d'origine environnementale, comme les rayonnements UV, x ou  $\gamma$ , les polluants atmosphériques, l'intoxication aux métaux lourds, ou encore l'oxydation des composés de la fumée de cigarette ou de l'alcool. Les différents organes et tissus de l'organisme ne sont pas égaux en termes de production d'espèces radicalaires. Il est compréhensible que les organes les plus actifs métaboliquement (muscles) ou ceux exposés aux UV (yeux) par exemple seront davantage susceptibles de générer des ROS et autres radicaux libres, comme des espèces réactives de l'azote (Droge, 2002).

### 1.2. Espèces réactives de l'oxygène (ROS)

L'appellation espèces oxygénées réactives inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, etc...) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde d'azote (Bartosz, 2003)

### 1.2.1. Anion superoxyde

La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons, réaction (1)) conduisant à la production de l'eau. Cette réaction est catalysée par la cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons présents dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale. Toutefois cette chaîne de transport peut laisser fuir une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ 3% de l'oxygène subit une réduction monoélectronique (addition d'un seul électron, réaction (2)) conduisant à la formation du radical superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) (Bartosz, 2003).



De même la NADH-déshydrogénase située dans la membrane mitochondriale interne et la NADPH oxydase présente au niveau des cellules vasculaires endothéliales, peuvent conduire à la formation de radicaux  $O_2^{\bullet-}$  (Chiarugi et Fiaschi, 2007).

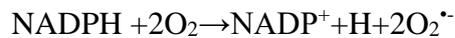
Par ailleurs, l'apparition de radicaux superoxydes peut résulter de l'auto-oxydation (oxydation par l'oxygène) de composés tels que des neuromédiateurs (adrénaline, noradrénaline, dopamine...), des thiols (cystéine), des coenzymes réduits ( $FMNH_2$ ,  $FADH_2$ ), mais aussi de la détoxification des xénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système des cytochromes P450 présents au niveau du réticulum endoplasmique (Bartosz, 2003).

Si l'anion superoxyde est libéré dans un milieu dépourvu de protons, il peut exercer ses effets délétères : de tels milieux se rencontrent au sein des doubles couches phospholipidiques des membranes cellulaires dont la structure aurait tendance à augmenter la durée de vie des radicaux libres.

## Revue bibliographique

---

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par des cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe NADPH oxydase, capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Babior *et al.*, 2002).



Le système enzymatique xanthine/xanthine oxydase intervient aussi dans la production du superoxyde au cours de l'oxydation de la xanthine en acide urique selon la réaction suivante :

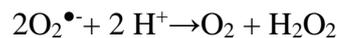
Xanthine oxydase



### 1.2.2. Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) se forme par la dismutation spontanée ou enzymatique du radical superoxyde (Yu, 1994), la dismutation enzymatique est catalysée principalement par la superoxyde dismutase (SOD).

SOD



À côté de la SOD, il existe d'autres enzymes produisant  $\text{H}_2\text{O}_2$ , comme les oxydases présentes particulièrement dans les peroxysomes (Kohen et Nyska, 2002). Cependant, certaines de ces oxydases comme la glycoxylate oxydase, la D-aminoacide oxydase peuvent catalyser directement la réduction divalente de l'oxygène moléculaire produisant ainsi le peroxyde

d'hydrogène sans formation du radical superoxyde (Del Rio *et al.*, 1996), le foie est l'organe central de cette production. Les microsomes sont responsables dans 80% de la concentration d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> généré *in vivo* dans les sites hyperoxiques (Valko *et al.*, 2007).

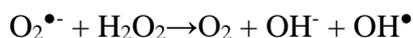
L'absence de charge à sa surface rend cette ROS très lipophile et peu réactif en milieu aqueux, le peroxyde d'hydrogène peut néanmoins être considéré comme un dérivé réactif de l'oxygène potentiellement toxique car sa faible réactivité associée à sa capacité de traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de synthèse, il peut alors participer à la biosynthèse du radical hydroxyle (Cash *et al.*, 2007).

### 1.2.3. Radical hydroxyle

Le radical hydroxyle (OH<sup>•</sup>) est formé principalement par la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de métaux de transition sous leur forme réduite, ainsi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associé à du fer ferreux conduit à la réaction de Fenton.



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut également réagir avec le radical superoxyde, aboutissant là encore à la production du OH<sup>•</sup>, ce mécanisme réactionnel est appelé réaction d'Haber et Weiss (Sorg, 2004).



Le radical hydroxyle peut être formé aussi par la décomposition de l'acide peroxonitrique et la réaction de l'acide hypochloreux avec O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. Avec une demi vie de l'ordre de la nanoseconde, le radical hydroxyle est le plus réactif de toutes les espèces dérivées de l'oxygène, il réagit avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant dans son voisinage (protéine, lipide, ADN) entraînant ainsi de multiples dommages, il apparaît comme l'espèce

## Revue bibliographique

réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres (Bartosz, 2003).

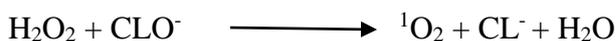
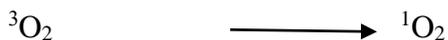
### 1.2.4. Monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote ( $\text{NO}^\bullet$ ) est produit chez les organismes supérieurs par l'oxydation de l'un des atomes N terminaux de la L-arginine, cette réaction est catalysée par la nitrique oxyde synthase (NOS) (Sorg, 2004) selon la réaction suivante :



### 1.2.5. Oxygène singulet

Pour l'oxygène moléculaire l'état triplet (biradical) est plus stable que l'état singulier, ainsi l'oxygène singulier fait partie des ROS. Il peut être produit par plusieurs réactions biochimiques d'oxydation incluant la peroxydase et la lipooxygénase, par la réaction entre divers ROS ou en présence de la lumière, d'oxygène et de photo-sensibilisant comme la porphyrine (Sorg, 2004).



Les rayonnements UV induisent aussi la synthèse de radicaux libres ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{OH}^\bullet$ ) et des molécules génératrices de radicaux libres ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants, ainsi que les radiations ionisantes.

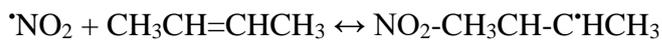
## Revue bibliographique

---

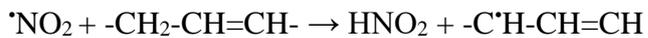
L'ingestion d'alcool est suivie de formation de radicaux libres selon divers mécanismes. La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde, avec production d'O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. L'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NADPH oxydase, NADPH cytochrome réductase, et du cytochrome P450.

Des toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>), présents dans notre environnement (suies, goudron, tabac, polluants industriels) participent à la genèse des radicaux libres : ils sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires.

La réaction peut être réversible :



Ou irréversible:



NO et NO<sub>2</sub> peuvent également réagir avec le peroxyde d'hydrogène produit par les macrophages au niveau des alvéoles pulmonaires et donner naissance à des radicaux OH<sup>•</sup>. La fumée de cigarette, contenant NO et NO<sub>2</sub>, renferme de fortes concentrations en composés insaturés et stimule, par son action irritante, les macrophages des alvéoles pulmonaires. D'autres toxiques, tel que le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>), par l'intermédiaire des radicaux CCl<sub>3</sub><sup>•</sup> est capable d'induire l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés, et donc de provoquer une augmentation des hydroperoxydes lipidiques (Favier, 2003).

---

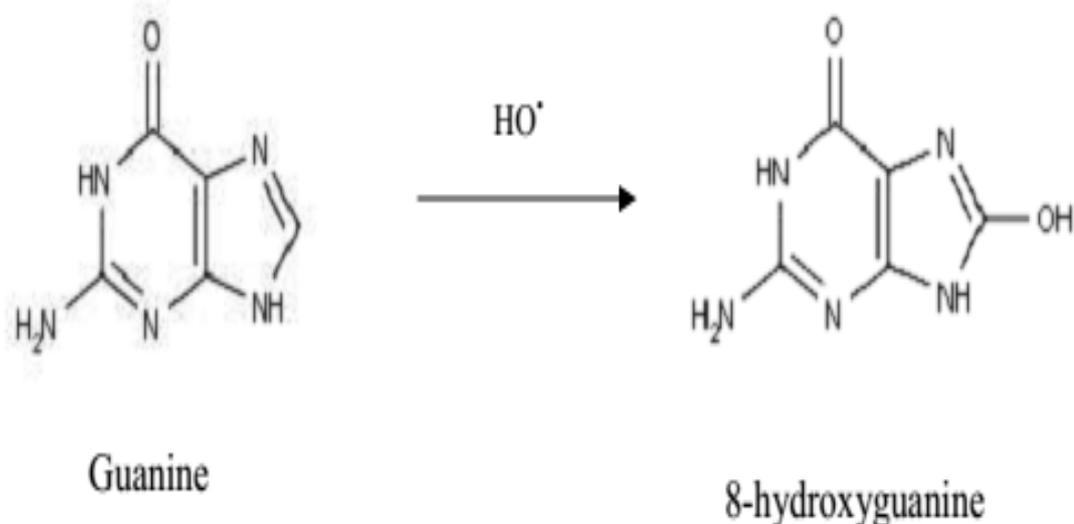
### 1.3. Dommages induits par le stress oxydatif

La production excessive des espèces réactives d'oxygène provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des autoanticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003).

#### 1.3.1. Modification de l'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque des espèces réactives d'oxygène. La petite taille, la solubilité dans l'eau et la faible réactivité de  $O_2^{\cdot-}$  lui permettent d'être présent partout dans l'organisme et même dans le noyau des cellules. Le radical hydroxyle produit par sa décomposition peut causer des dommages aux acides nucléiques. Cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par  $OH^{\cdot}$  peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Cadet *et al.*, 2002 ; Favier, 2003).

Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation (**Figure 5**). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées : 8 oxo guanine, 8 nitroguanine, formamidopyrimidine, 8 oxo adénine, formimidouracile, 5 hydroxy cytosine, 5 hydroxy méthyl uracile, thymine diol, oxazolone. La 8-hydroxyguanine peut être mal lue lors de la transcription de l'ADN et être la cause de mutations (Valko, 2007).



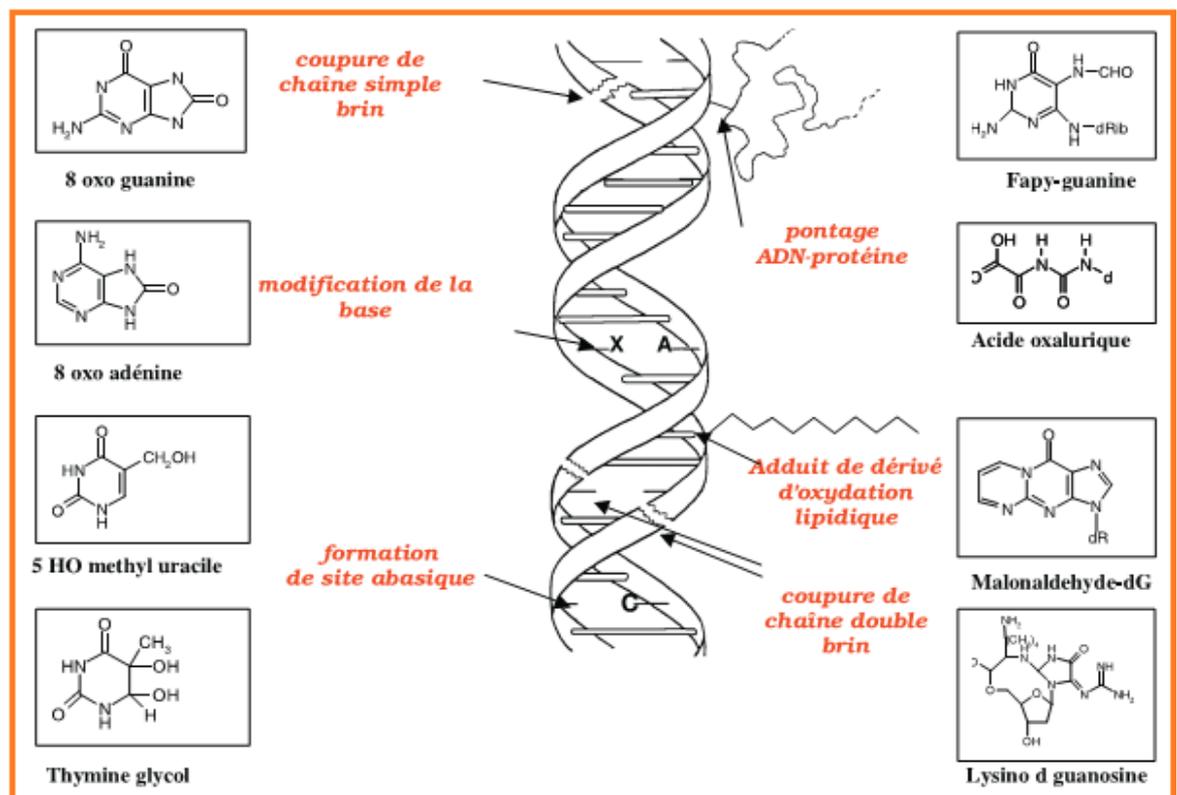
**Figure 3 :** Addition de  $\text{HO}\cdot$  sur la guanine (Valko, 2007)

Les espèces réactives d'oxygène peuvent également attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le site lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin. Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque de lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA guanine ou éthéno-dérivés. L'attaque radicalaire des protéines qui sont très nombreuses à entrer en contact avec l'ADN pour le protéger (histones) ou pour le lire (enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription), entraîne des pontages des protéines ou des adduits sur des bases de type lysine/guanine. Le rôle des nombreux métaux fixés à l'ADN (Fe, Mg, Zn, Cu, Ni, Cd....) est crucial pour amplifier ou orienter le profil de ces lésions (Favier, 2003).

Cette attaque de l'ADN est quotidienne puisque le nombre de lésions se formant chaque jour dans une cellule est estimé à  $10^4$ . Il existe des systèmes de réparation de ces lésions, mais lorsque le mécanisme se dérègle soit par une surcharge de lésions en cas de stress massif, soit par un mauvais fonctionnement de ces systèmes de réparation chez des sujets déficients en cofacteurs (thioredoxine, zinc) ou atteints d'une anomalie génétique, dans ce cas, les lésions

## Revue bibliographique

non réparées vont perturber les mécanismes de réplication de l'ADN polymérase trans-lésionnelles infidèles aboutissant à une mutation ponctuelle dans le génome, ou une impossibilité de copie de l'ADN qui aboutira à la mise en route du suicide programmé des cellules par un mécanisme appelé apoptose. Cette modification de l'ADN induit des mutations par transversion GC (guanine/cytosine) vers TA (thymine/adénine) souvent observées spontanément dans les cellules cancéreuses. Ce sont les premières étapes de la carcinogénèse. Les agents carcinogènes sont tous des générateurs puissants de radicaux libres (radiations ionisantes et UV, fumée, alcool, métaux carcinogènes, hydrocarbures polycyclique)(Figure 4) (Favier, 2003).



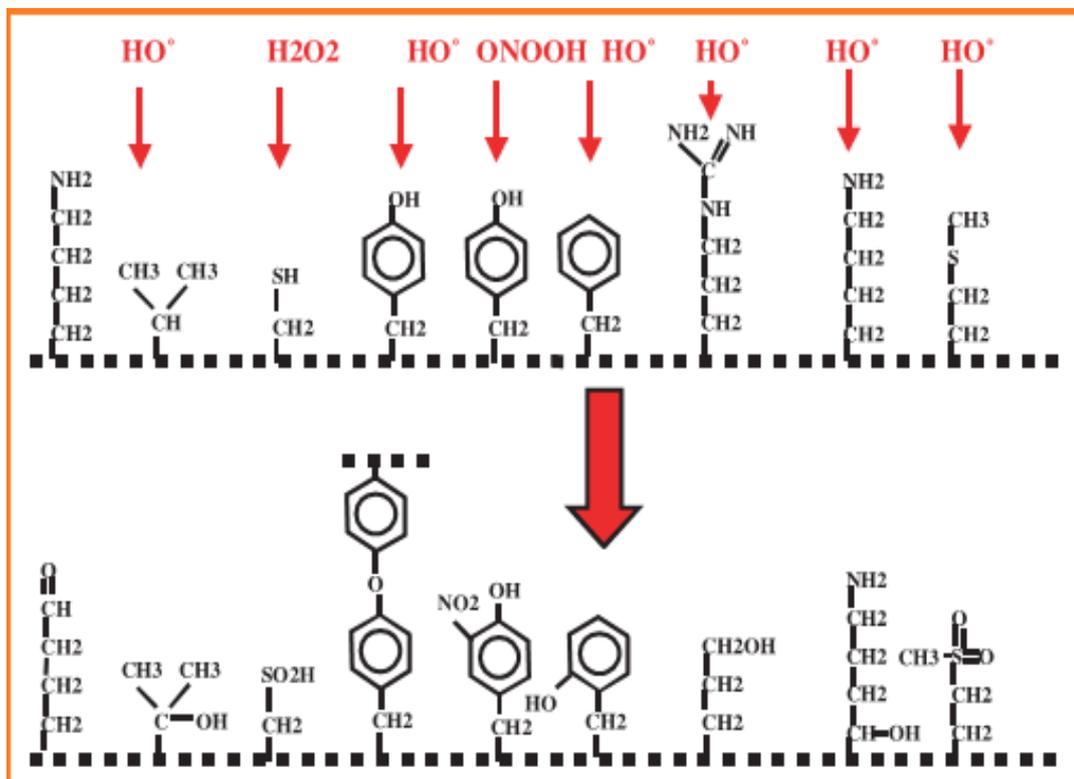
**Figure 4 :** Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

### 1.3.2. Modifications des protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées ou inactivées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensible à l'action des protéases (Ott, 2007).

Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupement amines ionisables, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales. Elles vont alors former des amas anormaux dans et autour des cellules. Ces amas, associés aux lipides, forment les dépôts de lipofuschines caractéristiques des tissus des sujets âgés (Favier, 2003)

(Figure 5)



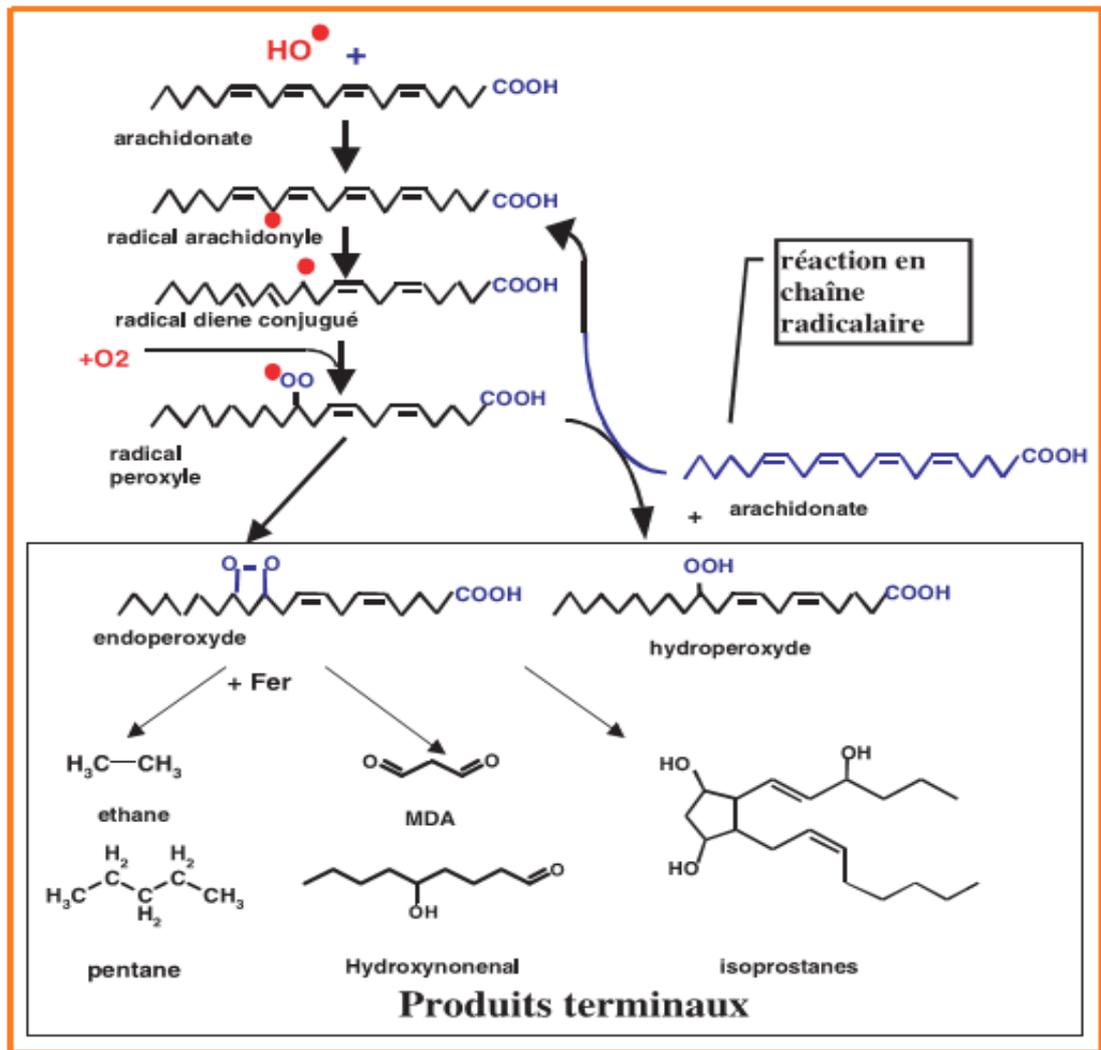
**Figure 5** : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

---

### 1.3.3. Modification des lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Esterbauer *et al.*, 1992 ; Favier, 2003).

Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire. Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malonaldialdéhyde ou l'hydroxynonanal. Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de faible densité) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003) (**Figure 6**).



**Figure 6 :** Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

### 1.3.4. Modification des glucides

Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les espèces réactives de l'oxygène attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes,  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{OH}^\bullet$ , qui entraîneront la coupure de

protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant un dérivé AGEs (Advanced glycation end-product). Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (Favier, 2003).

### 1.4. Implications pathologiques des espèces réactives d'oxygène

En raison de leur réactivité élevée, les espèces réactives d'oxygène interagissent avec toute une série de substrats biologiques conduisant à l'altération de l'homéostasie cellulaire de l'organisme. Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine de phénomènes du stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution est maintenant largement démontré (Favier, 2003).

De nombreuses études indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plusieurs pathologies humaines comme l'athérosclérose, le cancer, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et le diabète. Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement (Martinez-Cayuela, 1995 ; Pincemail *et al.*, 2002 ; Pham-Huy *et al.*, 2008).

La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localise à un tissu et à des types cellulaires particuliers, il met en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. De plus, La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de

l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés (Sohal *et al.*, 2002).

### 2. Les défenses antioxydantes

Les anti-oxydants se définissent par leur capacité, même à faible concentration, à retarder de façon significative, ou à empêcher l'oxydation d'un substrat oxydable (Halliwell, 1999).

Les réactions d'oxydation impliquent des radicaux à la fois initiateurs et propagateurs. Les mécanismes antioxydants sont aussi multiples (**Figure 7**). Certains agissent préférentiellement en supprimant ou diminuant la formation des radicaux libres, notamment par des actions enzymatiques. En effet, de nombreuses molécules ou enzymes sont capables de piéger les radicaux libres. Il s'agit dans ce cas de réactions chimiques d'oxydoréductions. D'autres antioxydants vont agir davantage sur les radicaux formés après réaction des molécules biologiques avec les radicaux libres. Ces antioxydants réduisent ou empêchent ainsi la propagation des réactions en chaîne. Ceux-ci peuvent agir à différents niveaux des réactions d'oxydation (Pietta, 2000).

A cette définition citée plus haut pourraient s'ajouter les mécanismes permettant de réparer les dommages causés par les réactions d'oxydation. Il ne s'agit donc pas dans ce cas d'empêcher le phénomène d'oxydation en tant que tel, mais d'agir à posteriori en réparant les dégâts grâce à l'action de certaines lipases, protéases, transférases ou enzymes de réparation de l'ADN (Pietta, 2000).

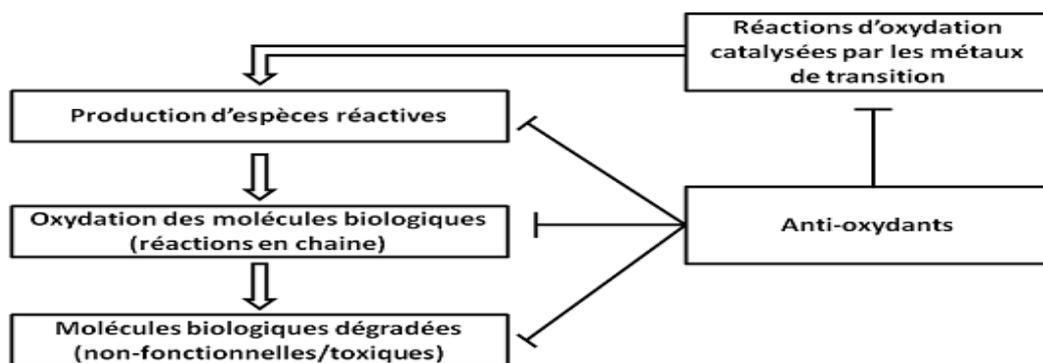


Figure 7 : Les différents niveaux de mécanismes antioxydants (Pietta, 2000).

## 2.1. Défenses antioxydantes endogènes

Une barrière endogène composée de plusieurs enzymes clés lutte contre ces radicaux libres et autres espèces oxydantes, afin de prévenir les dommages oxydatifs (Figure 8). Parmi ceux-ci, la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT) opèrent de concert (Droge, 2002).

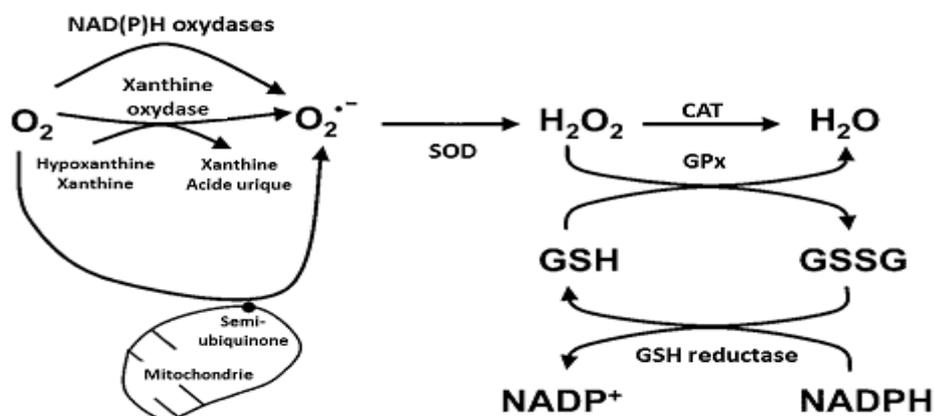
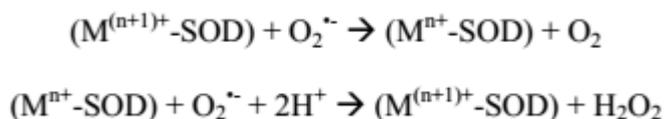


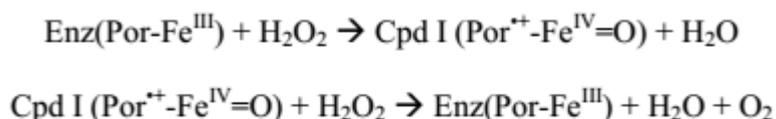
Figure 8: Les enzymes antioxydantes (Droge, 2002)

Les SOD sont des métalloprotéines en première ligne de défense, dismutant l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en eau (Figure 9). Il existe différentes formes de SOD se distinguant par le métal de leur site actif (Cu ; Zn ; Mn ; Fe ; Ni).



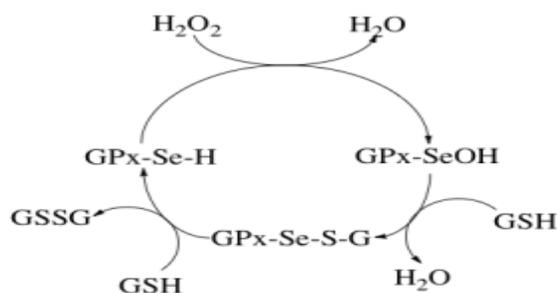
**Figure 9** : Mécanisme enzymatique de la SOD (Alfonso-Prieto *et al.*, 2009)

Puis le peroxyde d'hydrogène peut ensuite être pris en charge par la catalase, portant dans ses sites actifs de l'oxyde de fer (Por-FeIII) permettant une coupure hétérolytique générant de l'eau et la forme catalase compound I de l'enzyme (Cat Cpd I = une forme cationique oxoferryl porphyrine de la catalase : Por<sup>•+</sup>-Fe<sup>IV</sup>=O) (**Figure 10**). Celle-ci va alors rapidement réagir avec une seconde molécule de peroxyde d'hydrogène générant de l'eau et de l'O<sub>2</sub> et régénérant la catalase sous sa forme initiale : Por-FeIII (Alfonso-Prieto *et al.*, 2009).



**Figure 10** : Mécanisme enzymatique de la CAT (Alfonso-Prieto *et al.*, 2009)

La glutathion peroxydase, grâce à son coenzyme le glutathion réduit (GSH), va également pouvoir réduire le peroxyde d'hydrogène en eau en oxydant le GSH en GSSG (**Figure 11**). Un élément clé dans le maintien de ce mécanisme de défense est la régénération du glutathion réduit par la glutathion réductase, nécessitant du NADPH. Le glutathion est encore un antiradicalaire direct neutralisant l'anion superoxyde et le radical hydroxyle. Enfin, le GSH permet encore la régénération de certaines molécules antiradicalaires à partir de leur forme oxydée (ex vitamine C ou E) (Valko *et al.*, 2007).



**Figure 11** : Mécanisme enzymatique de la GPx (Prabhakar *et al.*, 2005)

(GSH : Glutathion ; GSSG : glutathion oxydé ; GPx-SeOH : enzyme sous forme d'acide sélénique ; GPx-Se-S-G : Enzyme sous forme d'adduit sélénio-sulfide ; GPx-Se-H : enzyme sous forme active).

La régulation des concentrations intracellulaires des radicaux libres est possible notamment grâce aux variations de l'activité des enzymes constituant cette première ligne de défense. Il existe notamment une voie de régulation des mécanismes antioxydants cellulaires induits par des composés oxydés ou directement par les espèces radicalaires. Un des principaux sites de régulation est la voie de signalisation de l'élément de réponse antioxydante (Antioxidant Response Element : ARE). Les domaines ARE sont des éléments présents au sein des promoteurs de nombreux gènes codant pour les enzymes de détoxication.

Cette régulation fait appel aux facteurs Nrf<sub>1</sub> et surtout Nrf<sub>2</sub> (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), eux-mêmes régulés par Keap<sub>1</sub> (Kelch-like ECH-associated cofactors) protéines équestrent Nrf<sub>1</sub> et Nrf<sub>2</sub>. Le stress oxydant, c'est-à-dire les espèces réactives ainsi que différents métabolites générés par ce stress oxydant semblent être impliqués dans la dissociation de Keap<sub>1</sub>-Nrf<sub>2</sub>. Nrf<sub>2</sub> libéré va pouvoir interagir avec les domaines ARE et donc moduler l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la défense contre les environnements oxydatifs. Parmi les gènes sous ce contrôle, il y a notamment des enzymes antioxydantes et des enzymes de détoxication de phase 2 (Masella *et al.*, 2005).

### 2.2. Défenses antioxydantes exogènes

D'autres mécanismes de lutte contre les radicaux libres entrent également en jeu. Il s'agit de nombreuses molécules exogènes, notamment apportées par l'alimentation, capables d'éliminer ces composés oxydatifs, ou de stopper les réactions d'oxydations en chaîne, mais avec une spécificité moindre (Birben *et al.*, 2012).

Ces composés sont appelés des piègeurs de radicaux libres. Ce sont donc des molécules capables de céder des protons ou des électrons, avec pour conséquence le réappariement de l'électron célibataire de l'espèce radicalaire. Il s'agit donc de molécules qui entrent en compétition avec les cibles cellulaires comme l'ADN, les protéines et les lipides, permettant ainsi d'arrêter les réactions d'oxydations en chaîne. Ceci est possible car ces antioxydants exogènes sont des réducteurs forts, et une fois oxydés, ils sont beaucoup plus stables que les espèces réactives hautement oxydantes. Malgré leur forme radicalaire, ces composés sont moins réactifs, du fait de leurs possibilités de réarrangements moléculaires. On peut citer parmi les plus connus la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) et la vitamine C. D'autres composés ont le vent en poupe depuis plusieurs décennies, à savoir les polyphénols, une très large classe de métabolites secondaires principalement du règne végétal (Birben *et al.*, 2012).

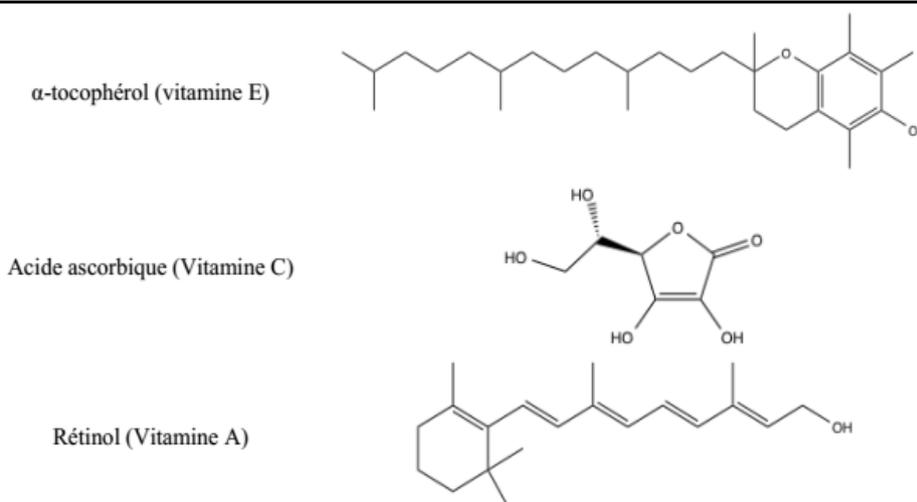
Les antioxydants naturels sont très présents dans le règne végétal, pour lequel ils représentent un des principaux mécanismes de défense contre le dioxygène, les radicaux libres et les ROS produits au cours de la photosynthèse. Ces molécules sont apportés chez l'homme à travers la consommation de fruits et légumes ou d'autres boissons à base de plantes (ex : le thé) et elles peuvent s'avérer utiles pour la santé humaine (Birben *et al.*, 2012).

### 2.2.1. Vitamines et caroténoïdes

Les vitamines se définissent généralement par un ensemble de molécules organiques présentes au sein des aliments. Elles jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement normal du corps humain (Shahidi et Naczka, 2003). En effet, certaines pathologies sont directement liées à des carences en ces composés : une carence en vitamine C provoque le scorbut ; une insuffisance de l'apport en vitamine A peut aboutir des formes de cécité ; une carence en vitamine B<sub>1</sub> peut engendrer des lésions nerveuses (béribéri) ; une carence en niacine (B<sub>3</sub>) a été associée à la pellagre ; et enfin le rachitisme est lié au manque de vitamine D (Ball, 2006).

On distingue les vitamines non-essentiels des essentielles, autrement dit, les vitamines synthétisables par l'organisme ou non. Il y a encore deux exceptions à cela : la vitamine D qui est synthétisée sous l'action des rayonnements UV du soleil, et la niacine dont la voie de synthèse dépend du précurseur tryptophane, un acide aminé apporté par l'alimentation (Ball, 2006).

La famille des vitamines n'est pas une famille du point de vue chimique. On retrouve ainsi sous ce même nom des structures chimiques très différentes, d'où des bioactivités très différentes. Il y a deux classes principales de vitamines : les vitamines liposolubles représentées par la vitamine A, D, E et K mais également des caroténoïdes dotés d'activités provitaminiques A; les vitamines hydrosolubles comprennent la vitamine C et le groupe des vitamines B à savoir la thiamine (B<sub>1</sub>), la riboflavine (B<sub>2</sub>), la niacine (B<sub>3</sub>), la vitamine B<sub>6</sub>, l'acide pantothénique (B<sub>5</sub>), l'acide folique (B<sub>9</sub>), et la vitamine B<sub>12</sub>. Parmi ces molécules, en dehors de leurs bioactivités essentielles, certaines sont également de puissants antioxydants. Il s'agit des vitamines E, C et A (Ball, 2006) (**Figure 12**).



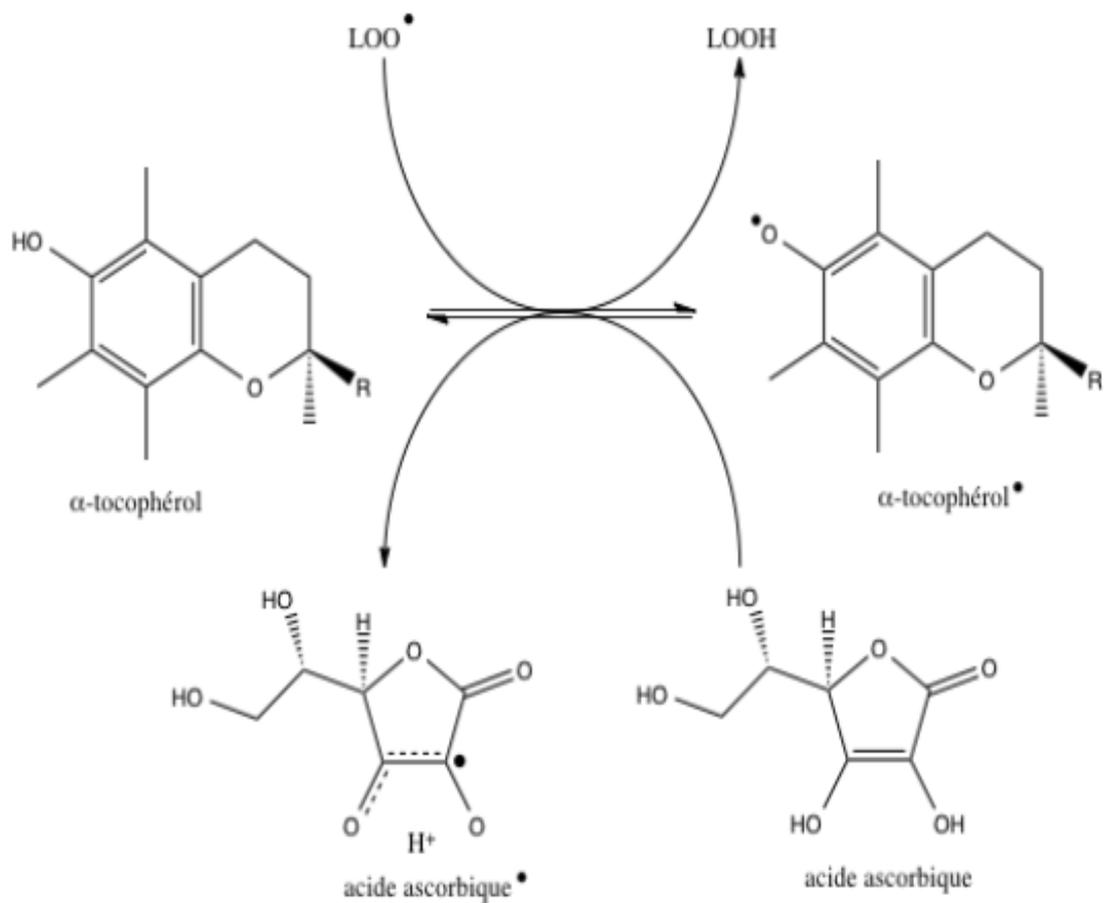
**Figure 12:** Vitamines antioxydantes (Buettner, 1993)

La vitamine E recouvre un ensemble de huit molécules organiques, 4 tocophérols et 4tocotriénols. C'est un puissant antioxydant, limitant quasi essentiellement la peroxydation lipidique. Ceci est dû à son caractère liposoluble qui favorise son accumulation dans les graisses. En effet, plus de 90 % des tocophérols se retrouvent au sein des gouttelettes lipidiques dans le tissu adipeux (Ball, 2006). A ce niveau, les tocophérols peuvent arrêter lesréactions en chaine de la lipoperoxydation en réduisant les radicaux lipidiques. La forme radicalaire de la vitamine E peut ensuite être reconvertie en vitamine E sous l'action de la vitamine C (**Figure 13**). Ceci est possible grâce à la présence de la tête plus polaire des tocophérols, qui va ainsi pouvoir interagir avec le milieu plus polaire pour entrer en contact avec la vitamine C. La vitamine C est elle-même capable d'exercer une activité antiradicalaire directe au sein des milieux aqueux. Les différentes formes de la vitamine E ne seraient pas équivalentes en termes de bioactivité. Une grande attention a été donnée à l' $\alpha$ -tocopherol, alors que la  $\gamma$ -tocophérol serait plus abondante dans l'alimentation américaine et aurait une activité biologique plus large, et notamment une action antiinflammatoire (Jiang *et al.*, 2001).

Par ailleurs, le caractère liposoluble des vitamines E en fait est un bon conservateur pour les huiles en les protégeant vis-à-vis de l'oxydation. La vitamine C, lorsque oxydée par une

## Revue bibliographique

espèce radicalaire donne naissance au radical ascorbyl peu réactif, capable de piéger un autre radical. Par ailleurs, le radical ascorbyl peut encore être dismuté générant l'acide déhydroxyascorbique ou régénérant la forme initiale. Enfin, la déhydroxyascorbique peut encore régénérer la forme initiale anti-oxydante de la vitamine C au travers de l'action de réductases (Wilson, 2002).



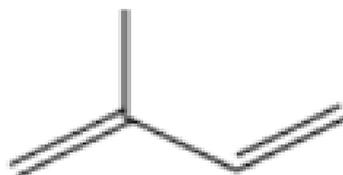
**Figure 13 :** Cycle de la vitamine E et de la vitamine C (Buettner, 1993)

La vitamine A, est exclusivement d'origine animale. Cependant, sous ce nom de vitamine A se cachent en réalité aussi d'autres molécules, appelées vitamères, qui sont dotés de l'activité du rétinol, comme les caroténoïdes provitaminiques A qui sont très largement rependus dans le règne végétal (ex :  $\alpha$ - et  $\beta$ -carotène,  $\beta$ -cryptoxanthine). Ces provitamines sont des

## Revue bibliographique

précurseurs des vitamines qui sont converties en leur structure active par le métabolisme (Ball, 2006).

La famille des caroténoïdes fait référence à des composés liposolubles construits à partir d'unités isoprènes (**Figure 14**). Il s'agit de composés largement retrouvés dans le règne végétal, pour lesquels ils jouent un rôle de pigment. Ils forment de longues chaînes carbonées portant de nombreuses doubles liaisons conjuguées, et peuvent subir des modifications comme des cyclisations au cours de leur synthèse (Rao et Rao, 2007). Dans le cas particulier des xanthophylles, la voie de synthèse fait encore intervenir une introduction d'atomes d'oxygène au sein de ces structures. Parmi les caroténoïdes les plus répandus dans les fruits et les légumes, on compte le lycopène, la lutéine, le  $\beta$ - et  $\alpha$ -carotène ou encore le  $\beta$ -cryptoxanthine (**Figure 15**), représentant plus de 95 % des caroténoïdes retrouvés dans la circulation sanguine (Maiani *et al.*, 2009).



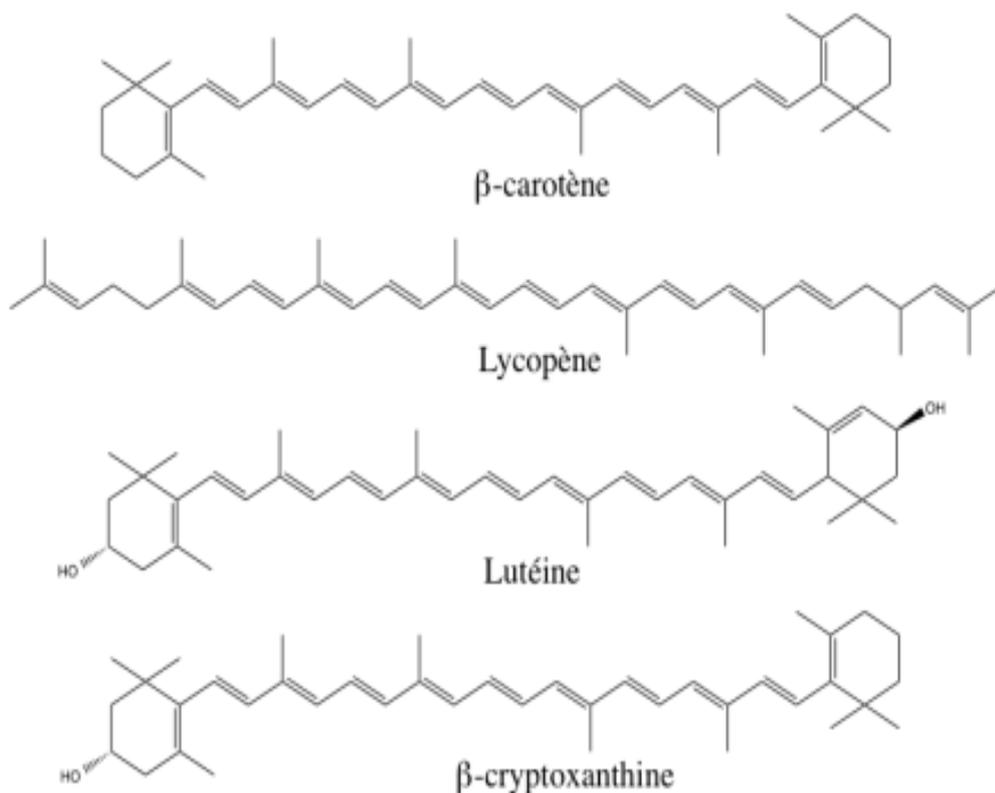
**Figure 14 :** Structure de l'unité isoprène (Bruneton, 1999).

La vitamine A possède une importante capacité antioxydante de par sa longue chaîne carbonée portant de multiples insaturations conjuguées (Landete, 2013). L'activité antioxydante des caroténoïdes repose essentiellement sur le piégeage de l'anion superoxyde ou de radicaux peroxydes. Cependant, le mécanisme principal n'est pas chimique, mais plutôt d'ordre physique. Il s'agit d'un phénomène de quenching physique dans la phase lipidique entre un caroténoïde et un  $O_2^{\cdot-}$  ou un  $^1O_2$  entraînant un transfert d'énergie à partir de ce dernier vers le caroténoïde (**Figure 16**). Il en résulte du dioxygène triplet et un caroténoïde triplet

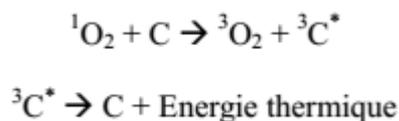
## Revue bibliographique

excité, qui sera capable de dissiper cette énergie et ainsi retrouver son état initial (Stahl et Sies, 1993 ; Stahl et Sies, 2003).

Cette propriété des caroténoïdes est directement liée à leur chaîne carbonée polyinsaturée de structure conjuguée. Ainsi, plus cette chaîne est longue, plus la dissipation de l'énergie sera facilitée conférant un fort potentiel antioxydant (AOx). En conséquence, une molécule pourra exercer son action de manière cyclique, contrairement à ce que l'on observe dans le cas des réactions antiradicalaires chimiques classiques. Cette activité protectrice est importante pour les plantes elles-mêmes, pour lutter contre le stress photo-oxydatif. Néanmoins, les réactions chimiques entre caroténoïdes et radicaux libres peuvent aussi avoir lieu, mais seraient minoritaires. Enfin, dans certaines conditions particulières de pression partielle en oxygène élevée, ces caroténoïdes peuvent basculer vers une action de type pro-oxydante (Rahman, 2007).



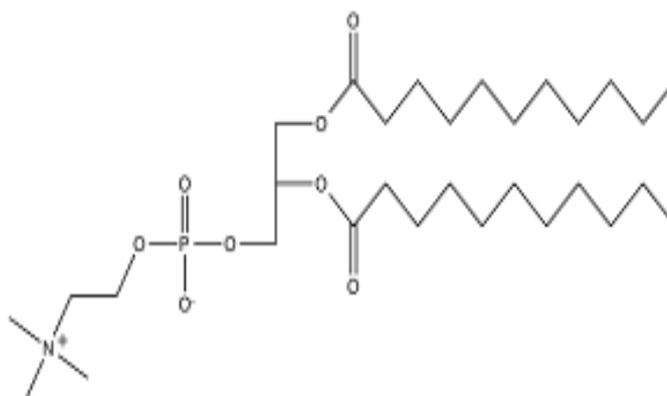
**Figure 15:** Exemples des principaux caroténoïdes (Bruneton, 1999).



**Figure 16:**Quenching physique de l'oxygène singulet par les caroténoïdes (Stahl et Sies, 1993) (C : caroténoïde ;  ${}^3\text{C}^*$  : caroténoïde triplet excité)

### 2.2.2. Phospholipides

Les phospholipides ont un effet antioxydant principalement observé dans le processus de peroxydation lipidique. Leur fonction acide phosphorique, liposoluble, peut-être responsable de cette activité par sa capacité piègeuse de métaux (Nwosu, 1997) (**Figure 17**).



**Figure 17:**Structure de la phosphatidylcholine (Bruneton, 1999).

### 2.2.3. Acides aminés et peptides

Certains acides aminés libres (acide glutamique, méthionine, alanine, asparagine, valine, acide aspartique, serine, lysine, tryptophane, histidine) ou certains peptides peuvent exercer une activité antioxydante. Les acides aminés libres antioxydants les plus forts seraient en particulier les acides aminés soufrés (Atmaca, 2004). Par exemple, une fraction d'un hydrolysat de protéines myofibrillaires porcines, composée de peptides de 5 à 11 acides

## Revue bibliographique

---

aminés, a été révélée comme anti-oxydante de par une activité inhibitrice de la peroxydation lipidique (Saiga *et al.*, 2003). Par ailleurs, un peptide obtenu par hydrolyse enzymatique de la  $\beta$ -lactoglobuline a révélé une action anti-radicalaire importante. Celle-ci se manifeste principalement à travers des mécanismes de chélation de métaux de transition ou de piégeage des radicaux lipidiques, notamment grâce au cycle imidazole dans le cas de l'histidine. D'autres acides aminés sont davantage donneurs de proton comme la tyrosine par exemple. Toutefois, la capacité anti-radicalaire des acides aminés est relativement faible (Hernandez-Ledesma *et al.*, 2005).

### 2.2.4. Oligo-éléments

Les oligo-éléments (Cu, Zn, Se, Mn, Fe etc.) ne sont pas des antioxydants en tant que tels, mais agissent comme cofacteurs des enzymes constituant la première ligne de défense face aux attaques oxydatives. Il s'agit en réalité de catalyseurs redox de ces enzymes. Leur apport par l'alimentation permet donc de maintenir le bon fonctionnement de la machinerie antioxydante cellulaire et donc l'équilibre oxydatif. Par ailleurs, certains oligo-éléments, selon leur état et leur concentration, peuvent être à l'origine d'une production de ROS par des mécanismes redox comme dans le cas du fer et la réaction de Fenton. La supplémentation en oligo-éléments en cas de carence nécessite donc un certain contrôle (Leung, 1998).

## 3. Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans divers organes des plantes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production. L'expression de «polyphénols» est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou

## Revue bibliographique

---

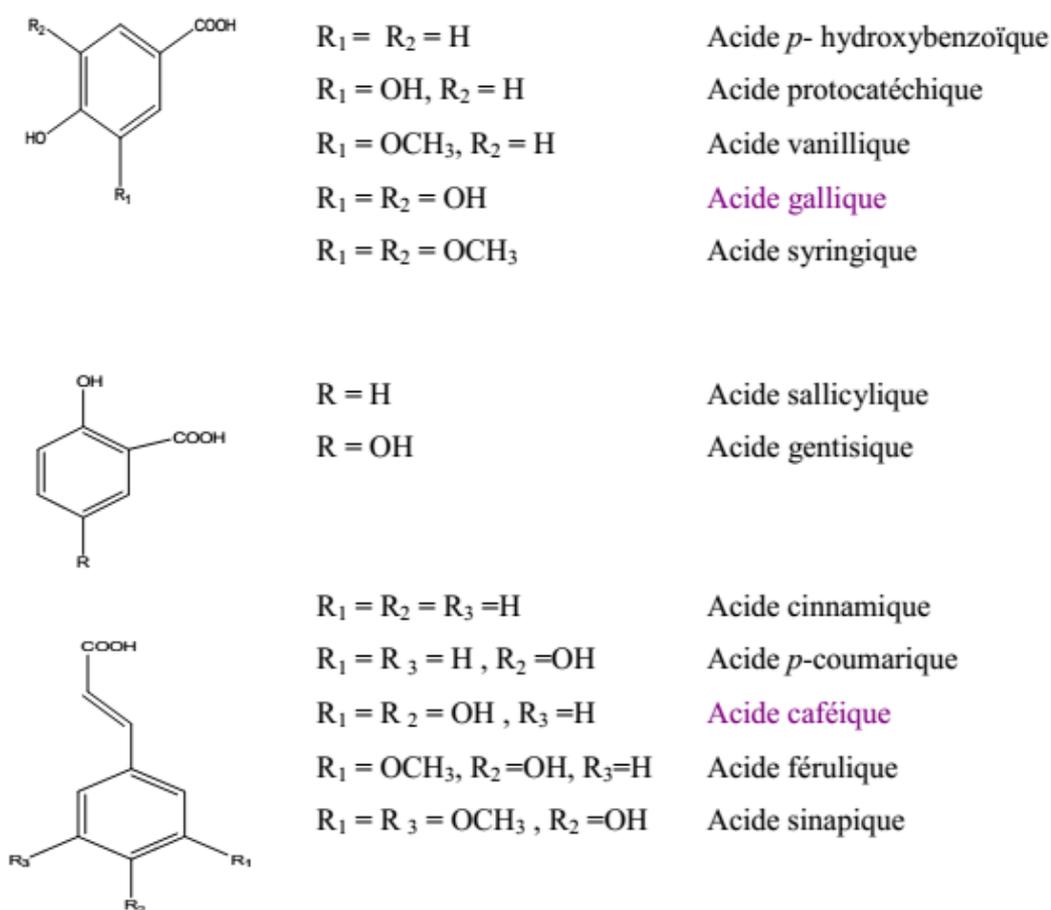
plusieurs groupements hydroxyles. Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique (Bruneton, 1999).

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière. Selon la structure de squelette de base et le nombre des atomes constitutifs les polyphénols sont classés en différentes classes parmi lesquelles on cite les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones, Dans la nature, la plupart de ces composés phénoliques sont trouvés sous forme de glycosides (Bruneton, 1999).

La voie du shikimate occupe une place centrale dans la biosynthèse des polyphénols, étant à l'origine de nombreux acides phénoliques comme l'acide gallique. La phénylalanine dérive également du shikimate, et sert de précurseur du cycle B et le noyau chromane notamment grâce à la phénylalanine ammonia lyase (PAL). Le cycle A dérive quant à lui de 3 monomères de malonyl-CoA. L'ensemble est assemblé par la chalcone synthase, et peut être isomérisée pour aboutir à une structure de type flavanone grâce à la flavanone isomérase (Tsao, 2010).

### 3.1. Acides phénoliques

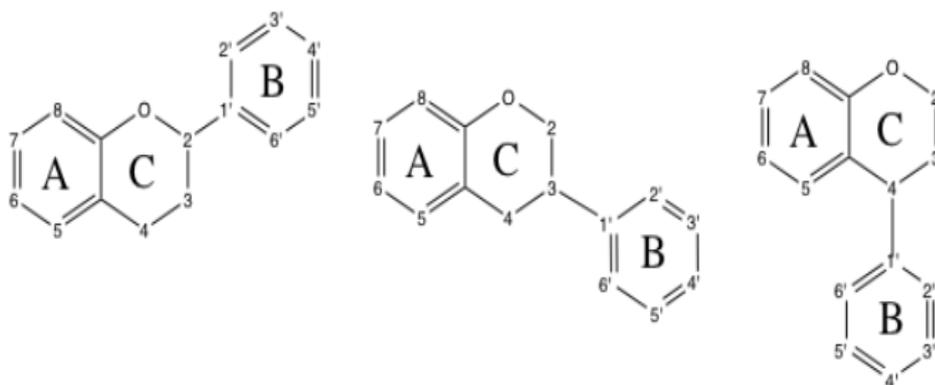
Les acides phénoliques sont présents dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Deux sous-groupes peuvent être distingués : les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (**Figure 18**).



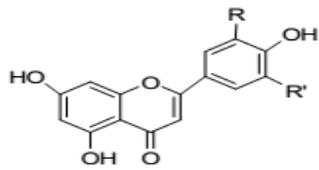
**Figure 18** : Exemples d'acides phénoliques (Bruneton, 1999)

### 3.2. Flavonoïdes

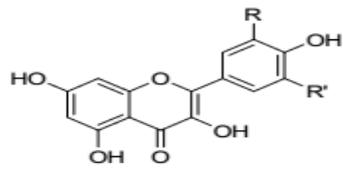
Les flavonoïdes se caractérisent par 3 cycles, A, B et C, dont seuls A et B sont des cycles phénoliques, le cycle C étant un cycle chromane (**Figure 19**). Cette structure est généralement noté C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. La structure générale de cette famille présente le cycle B en position C<sub>2</sub> du cycle C. Cependant, certaines sous-classes des flavonoïdes diffèrent en ce point avec une liaison en C<sub>3</sub> ou C<sub>4</sub> (Tsao, 2010). En effet, de nombreuses sous-classes se cachent derrière ce dénominateur commun : anthocyanes ; chalcones ; dihydrochalcones ; flavanols ; flavanones ; flavonols ; isoflavones etc. Ce sont le nombre de substitutions et le degré d'insaturations du cycle C qui permettent de les classer. Au sein d'une classe définie, ce sont les substitutions des cycles A et B qui différencient les molécules (Pietta, 2000). Les flavonoïdes représentent la classe la plus largement répandue de polyphénols dans les aliments. Les différents flavonoïdes sont retrouvés dans la nature soit sous forme de génines, c'est-à-dire aglycones, soit sous forme d'hétérosides (**Figure 20**) (Ghedira, 2005).



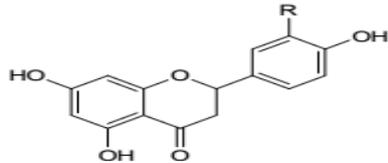
**Figure 19** : Squelette des flavonoïdes (Bruneton, 1999)



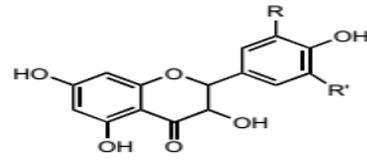
R=R'=H: Apigénine  
 R= OH, R' = H: Lutéoline  
 R=R'= OCH<sub>3</sub>: Tricine



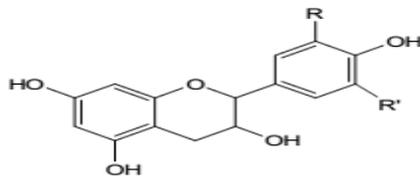
R=R'=H: **Kaempférol**  
 R= OH, R' = H: **Quercétine**  
 R= OCH<sub>3</sub>, R' = H: Isorhamnétine  
 R=R'= OH: **Myricétine**



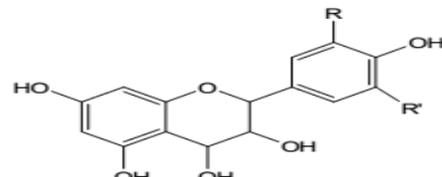
R= H : Naringénine  
 R= OH : **Eriodictyol**



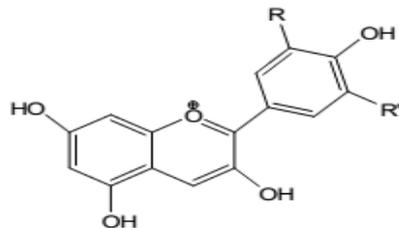
R= OH, R' =H: Taxifoline  
 R= OH, R'= OH: Ampéloptol



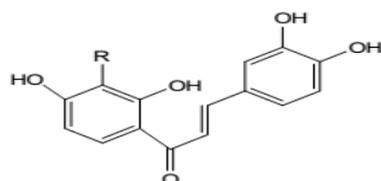
R=R'=H : Afzeléchine  
 R = OH, R' = H : **Catéchine**  
 R = R'= OH : **Gallocatéchine**



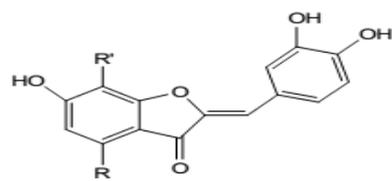
R=R'=H : Leucopélargonidine  
 R = OH, R' = H : Leucocyanidine  
 R = R'= OH : Leucodelphinidine



R = R' = H : Pélargonidine  
 R = OH, R' = H : Cyanidine  
 R = OCH<sub>3</sub>, R' = H : Péonidine  
 R = R' = OH : Délphinidine  
 R = R' = OCH<sub>3</sub> : Malvidine  
 R = OH, R' = OCH<sub>3</sub> : Pétunidine



R = H : Butéine  
 R = OH : Okanine

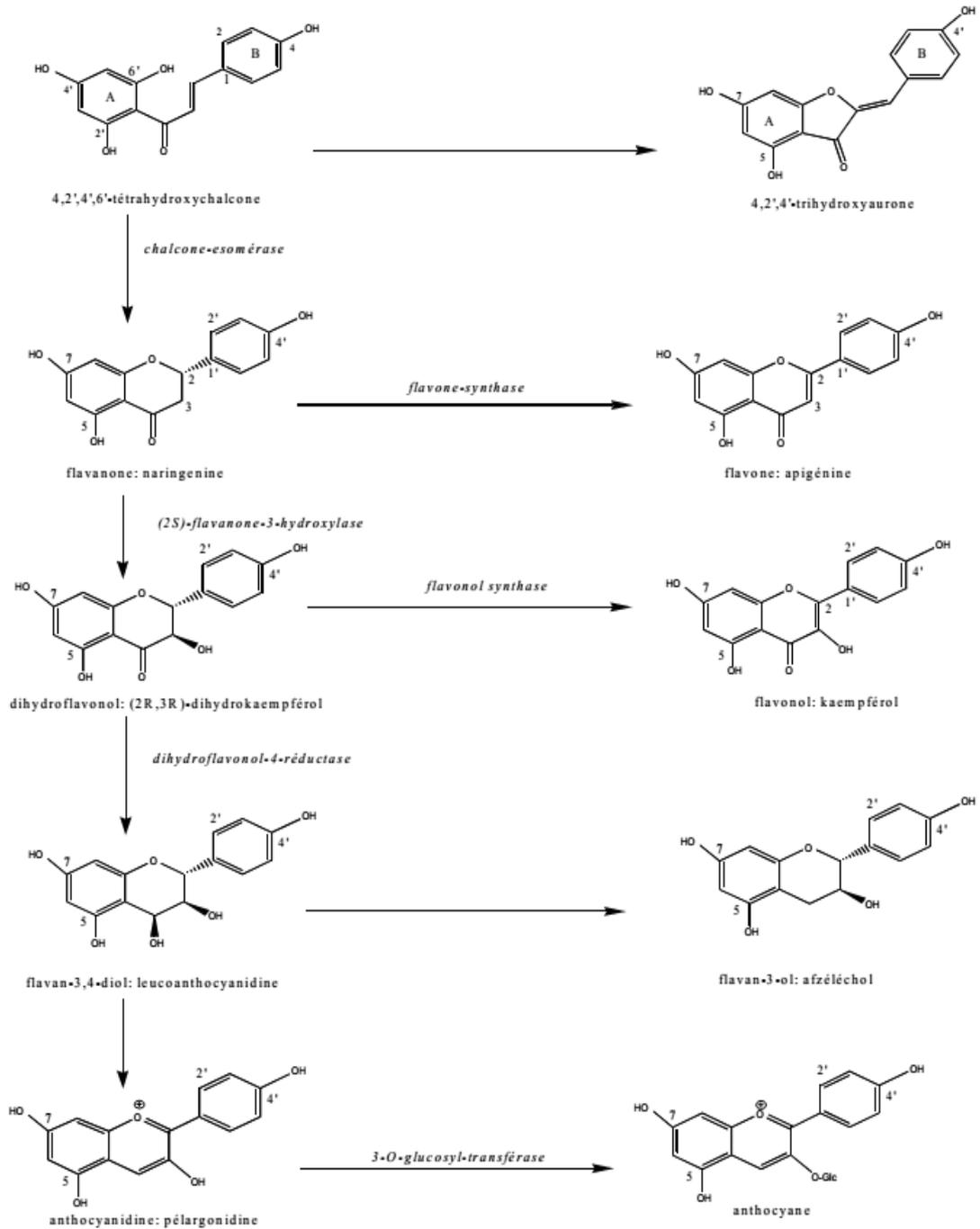


R = R' = H: Sulphorétine  
 R = OH, R' = H: Aureusidine  
 R = H, R' = OCH<sub>3</sub>: Leptosidine

Figure 20 : Exemples des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

## Revue bibliographique

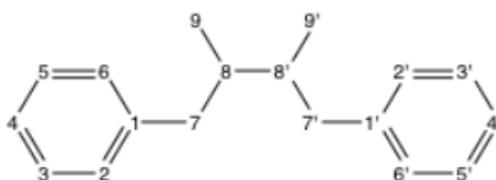
La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone (**Figure 21**)



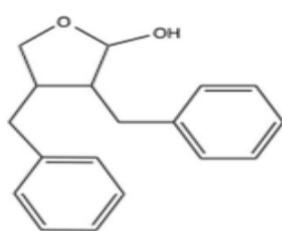
**Figure 21** : Biosynthèse des flavonoïdes (Duthie et Crozier, 2000)

### 3.3. Lignanes

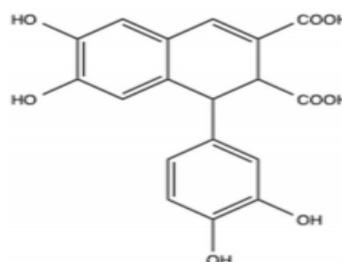
Cette classe de polyphénols se définit par une structure dimérique d'unités phénylpropanes C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> reliées au niveau des carbones C<sub>8</sub> (**Figure 22**) (Manachet *al.*,2004). Parmi les lignanes, on compte 8 sous-classes se différenciant par la position de l'oxygène au sein de la structure : les furofuranes ; les furanes ; les dibenzylbutanes ; les dibenzylbutyrolcatones ; les aryltetralines ; les arylnaphtalenes ; les dibenzocyclooctadiènes et les dibenzylbutyrolactols (Suzuki et Umezawa, 2007). Les différents composés des lignanes comportent pour la grande majorité un atome d'oxygène entre les carbones C<sub>9</sub> et C<sub>9'</sub>, mais ce n'est pas le cas de tous (**Figure 23**).



**Figure 22** : Squelette des lignanes (Bruneton, 1999).



Dibenzylbutyrolactone



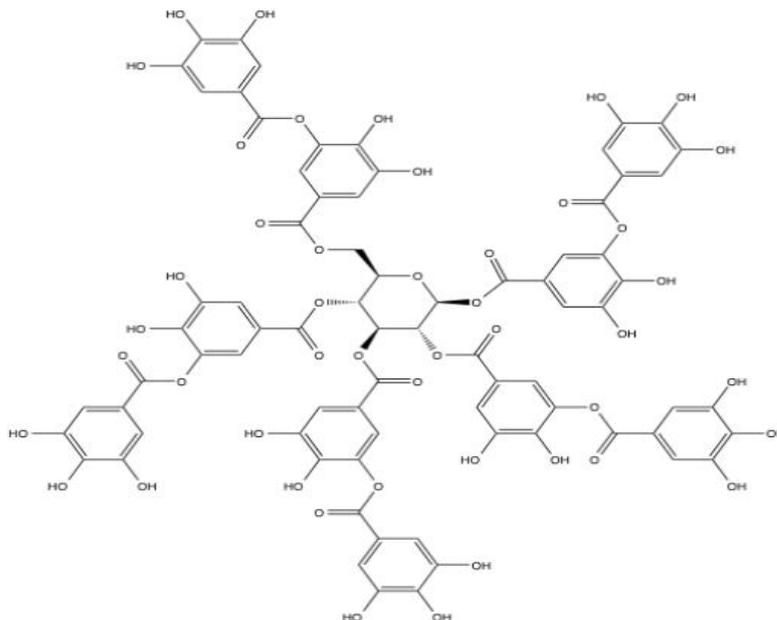
Acide epiphyllique

**Figure 23** : Exemples de lignanes (Bruneton, 1999).

### 3.4. Tannins

Les tannins sont des composés de taille plus importante que les classes décrites précédemment. En effet, il s'agit de molécules polymères. Deux sous-classes se distinguent

encore parmi les tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Cette première sous-classe a une structure de base de polyesters d'acide gallique et d'ellagitannines (acide hexahydroxy-diphénique), avec comme plus illustre exemple l'acide tannique (**Figure 24**). La seconde sous-classe des tannins condensés correspond aux polymères d'unités catéchiques (Bravo, 1998).



**Figure 24** : Acide tannique

### 3.5. Les polyphénols comme antioxydants

Les polyphénols peuvent agir selon ces divers mécanismes : le piégeage direct des espèces réactives d'oxygène ; l'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives d'oxygène et la protection des systèmes de défense antioxydants (Halliwell, 1994).

#### 3.5.1. Inhibition enzymatique

Les phénomènes d'interaction polyphénols-protéines ont été largement étudiés *in vitro*, particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes,

modulation du fonctionnement de divers récepteurs ainsi que du processus de transcription de certains gènes par interaction du cytosol avec les facteurs de transcription ou certains précurseurs (Haslam, 1996 ; Havesteen, 2002).

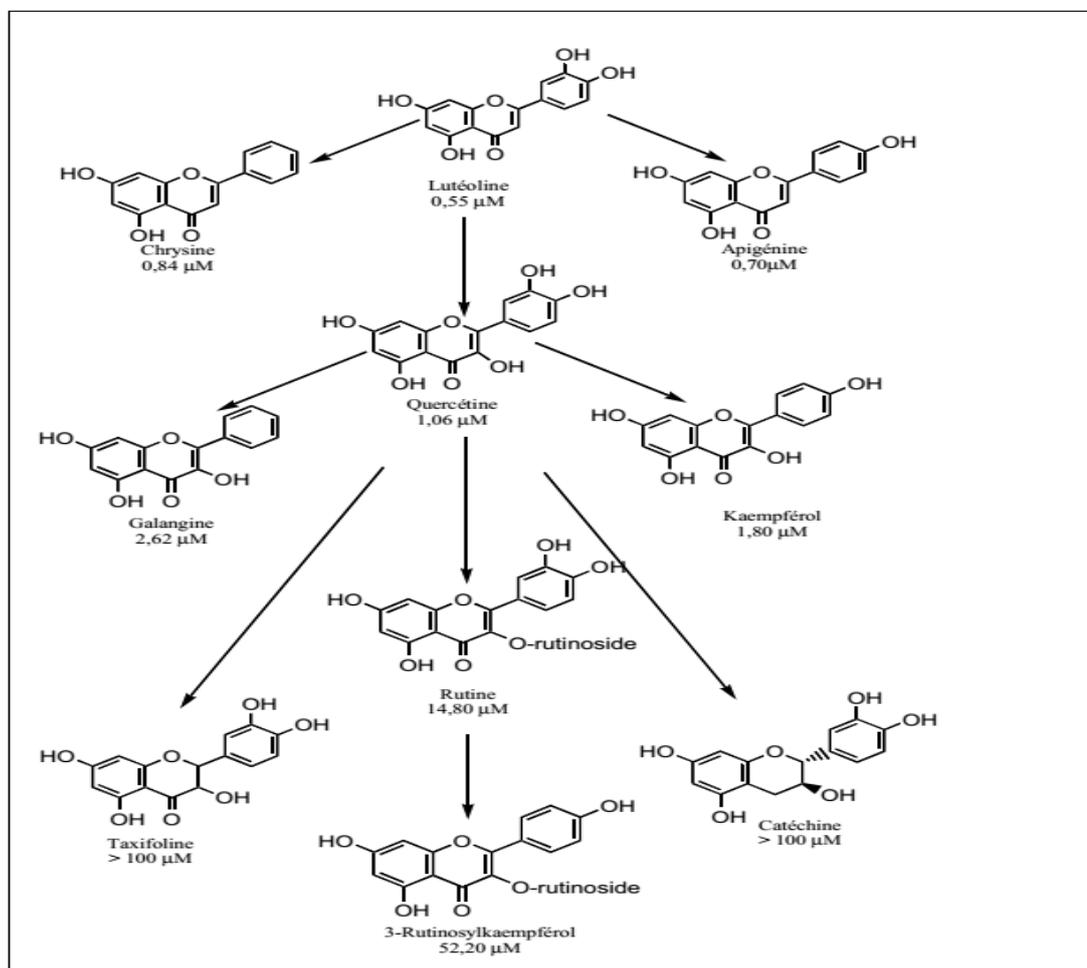
Outre les effets antioxydants, ces interactions, qui sont encore à valider *in vivo*, sont vraisemblablement à la base des effets bénéfiques des flavonoïdes. Par exemples, les acides hydroxycinnamiques sont des inhibiteurs de protéines de coagulation (la thrombine et le facteur Xa), et jouent ainsi un rôle d'anticoagulant (Monien *et al.*, 2006).

L'inhibition de la production des espèces réactives d'oxygène par les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage directe des espèces réactives d'oxygène. Cette double action est bien illustrée par le cas de la xanthine oxydase, cet enzyme est considéré comme une source biologique importante de radical superoxyde (Dangles et Dufour, 2008).

Une étude sur la maladie de la goutte a montré que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase et par conséquent, peuvent prévenir cette maladie en réduisant à la fois les concentrations de l'acide urique et celles du radical superoxyde dans les tissus humains (Hansaki *et al.*, 1994). Cos et ses collaborateurs ont confirmé les relations entre la structure chimique des flavonoïdes et leur capacité d'inhiber la formation de superoxyde par inhibition de la xanthine oxydase (formation de complexes enzyme-inhibiteur) et/ou par réduction du superoxyde produit (Cos *et al.*, 1998) (**Figure 25**). Les résultats de cette étude sont les suivants :

Les flavanones, les dihydroflavonols et les flavan-3-ols (cycle C non plan) ne sont pas inhibiteurs de la xanthine oxydase.

Les flavonols et les flavones (cycle C plan et conjugué avec les cycles A et B) ont la capacité d'inhiber l'enzyme.



**Figure 25 :** Relation structure-activité des flavonoïdes sur l'inhibition de la xanthine oxydase (Cos et *al.*, 1998)

L'absence du groupe hydroxyle en C<sub>3</sub> augmente légèrement l'activité inhibitrice. Les flavonoïdes glycosylés ont des activités inférieures à celles des composés non glycosylés, par exemple, la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine.

Les flavonoïdes présentant un cycle B de type catéchol (ortho-diphénol ou 1,2 dihydroxybenzène) sont de bons pièges à superoxyde en raison de la stabilité des radicaux semi quinones formés lors de la capture.

De nombreux flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs des métallo-enzymes tels que lipoxygénase (Dangles et Dufour, 2008).

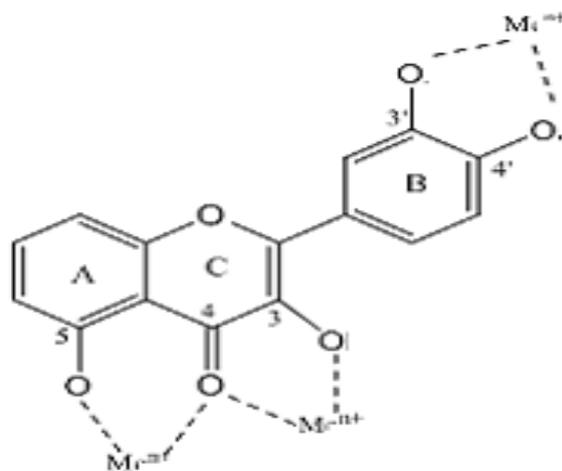
### 3.5.2. Chélation des ions métalliques

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



En outre, l'autoxydation des ions  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^+$  est une source de superoxyde et peroxyde d'hydrogène. Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante.

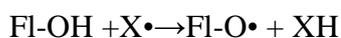
Divers polyphénols abondants dans les plantes et dans l'alimentation sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques (Brown *et al.*, 1998). La complexation des ions métalliques par les polyphénols induit typiquement un déplacement bathochrome de leurs bandes d'absorption dans le domaine UV-Visible. Les études menées par Van Acker et ses collaborateurs sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques qui sont les groupes 3'-hydroxy et 4'-hydroxy du cycle B, les groupes 3-hydroxy et 4-oxo du cycle C et les groupes 4-oxo et 5-hydroxy. Ainsi, la quercétine qui combine tous ces substituants est un complexant métallique particulièrement efficace (Van Acker *et al.*, 1996).



**Figure 26 :** Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques ( $M^{n+}$ ) (Fraga *et al.*, 2010).

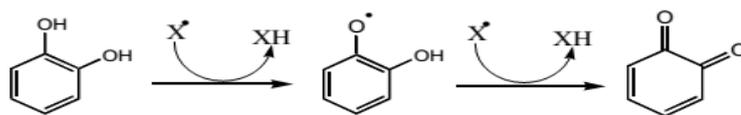
### 3.5.3. Piégeage des radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. Grâce à leur faible potentiel redox, les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes (Fl-OH), sont capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes ( $ROO\bullet$ ), alkoxydes ( $RO\bullet$ ) et hydroxyle par transfert d'hydrogène :



Où  $X\bullet$  représente l'un des espèces réactives d'oxygène mentionnés ci-dessus.

Le radical aryloxyde ( $Fl-O\bullet$ ) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (**Figure 27**)

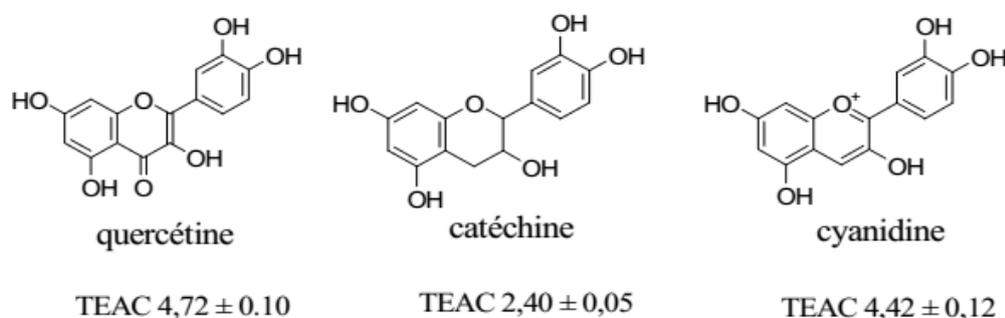


**Figure 27** : Piégeage des espèces réactives d’oxygène par les flavonoïdes

Eventuellement, le radical aryloxyde peut réduire le dioxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d’un effet prooxydant des flavonoïdes. Ainsi, la capacité antioxydante des polyphénols dépend non seulement du potentiel redox du couple Fl-O•/Fl-OOH mais aussi de la réactivité du radical Fl-O•

Plusieurs travaux ont établi des relations entre la structure chimique des polyphénols et leur capacité à piéger les radicaux libres (Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Dugas *et al.*, 2000 ; Farkas *et al.*, 2004).

L’activité de la quercétine (4,72 mM) est deux fois plus élevée que celle de la catéchine (2,4 mM). La cyanidine a approximativement la même activité antioxydante que celle de la quercétine (**Figure 28**). Ces résultats démontrent l’importance de la présence d’un cycle central insaturé, qui permet la délocalisation des électrons dans le radical (Rice-Evans *et al.*, 1996).



**Figure 28** : Comparaison de l’activité antioxydante des différents flavonoïdes. Les valeurs sont exprimées en mM (Rice-Evans *et al.*, 1996)

---

### 3.6. Activité antioxydante des polyphénols dans les aliments

L'auto-oxydation (oxydation non enzymatique par O<sub>2</sub>) est un des principaux phénomènes de dégradation des lipides polyinsaturés présents dans divers produits alimentaires (Khan *et al.*, 2017). Ce phénomène intervient typiquement au cours des traitements industriels et domestiques : procédés thermiques, conditionnement, stockage et cuisson. Globalement, ce processus conduit à la formation des produits lipidiques oxydés (aldéhydes, époxydes, hydroperoxydes) qui à leur tour, réagissent avec d'autres ingrédients alimentaires (vitamines, protéines et autres lipides) en diminuant :

- Les propriétés organoleptiques des aliments : apparition de saveurs et odeurs désagréables rendant les aliments difficilement acceptables par le consommateur ;
- La valeur nutritionnelle des aliments : les acides gras polyinsaturés sont essentiels à la composition des membranes cellulaires et pourraient exercer une action protectrice contre le développement des maladies cardiovasculaires. Par contre, certains de leurs produits d'oxydation sont oxydants et/ou électrophiles donc potentiellement toxiques.

L'oxydation des acides gras polyinsaturés des aliments peut intervenir dès le tractus digestif, c'est-à-dire immédiatement après ingestion des aliments. Le compartiment gastrique, en raison de son acidité, de sa teneur en dioxygène et de la présence éventuelle de fer héminique d'origine alimentaire (ex. la viande rouge) est un site où l'oxydation des acides gras polyinsaturés peut être rapide (Sánchez-Alonso *et al.*, 2007).

La voie qui inhibe les évolutions oxydatives des lipides consiste à ajouter aux préparations alimentaires des antioxydants capables de piéger rapidement les radicaux peroxydes lipidiques propagateurs des chaînes radicalaires et/ou les espèces initiatrices de l'oxydation. De ce point de vue, les antioxydants naturellement présents dans les plantes d'intérêt alimentaire

présentent un grand intérêt, notamment depuis la mise en évidence de problèmes d'allergie alimentaire induits par certains additifs d'origine synthétique, par exemple, le propylgallate, l'octylgallate (Ha *et al.*, 2004) et le dodecylgallate (Kubo *et al.*, 2002) sont des antioxydants fréquemment ajoutés aux margarines. Ces antioxydants permettent de prolonger la durée de conservation des acides gras polyinsaturés, de les préserver lors de traitements thermiques et éventuellement après ingestion.

### 3.7. Alimentation et biodisponibilité des polyphénols

La biodisponibilité des différents polyphénols est intimement liée à la structure chimique de chacune de ces molécules. Les anthocyanes forment une famille polyphénolique dont les composés sont décrits comme d'importants antioxydants étant donné leurs fortes teneurs dans certains aliments, ainsi que leur fort potentiel antiradicalaire. La consommation d'une portion (100 g) de certains fruits et légumes peut ainsi apporter plusieurs centaines de mg d'anthocyanes. Cependant, les résultats combinant de nombreuses études à propos de la biodisponibilité de ces molécules, suggèrent qu'ils sont peu absorbés et rapidement éliminés (Manach *et al.*, 2004). En effet, les concentrations plasmatiques atteignent rapidement un maximum après ingestion d'anthocyanes, puis redescendent sous le seuil de détection en moins de 2 heures. Les formes glycosylées administrées sont retrouvées au niveau plasmatique, ainsi qu'une importante concentration en acide protocatéchique, mais sont toutes deux rapidement éliminées, par exemple, entre 1,5 et 5 % des anthocyanes du vin rouge ont été retrouvées dans les urines après 12 h (Lapidot *et al.*, 1998). Basée sur les résultats de plusieurs études, l'absorption des anthocyanes a été confirmée, mais leur faible recouvrement au niveau plasmatique ou dans l'urine leur attribue une faible biodisponibilité. Néanmoins, cette faible biodisponibilité apparente peut résulter du manque de méthodes adaptées à l'analyse de ces molécules et surtout de leurs métabolites. En effet, les méthodes analytiques

se focalisent sur la détection de leur forme de cation flavylum. Il est peu probable de retrouver les anthocyanes sous cette forme *in vivo*. Les formes hémikétale ou chalcone sont davantage susceptibles d'être retrouvées *in vivo*. Ceci peut être une source de sous-estimation de la biodisponibilité de cette classe de composés (McGhie et Walton, 2007).

Parmi les flavonols, il a été démontré que la quercétine, sous ses formes glycolysées, est fortement absorbée par l'organisme (Manach *et al.*, 2005). A l'inverse, l'aglycone présente généralement une biodisponibilité plus réduite. Par ailleurs, l'absorption de ces différents composés n'a pas lieu au même niveau du tractus gastro-intestinal. Les aglycones et glucosides seraient préférentiellement absorbés dans les parties supérieures, contrairement au rutinosides pour lesquelles l'absorption plus tardive a lieu dans les parties distales (Erlund, 2004).

### 3.8. Les polyphénols dans les aliments

Il y a plusieurs études sur les polyphénols des aliments et les boissons d'origine végétale. En raison de la complexité de ce vaste groupe de métabolites de nombreux polyphénols restent non identifiés. De plus, il est difficile de comparer les données de la littérature, en raison de l'utilisation de différentes méthodes d'analyse de ces composés phénoliques. En conséquence, les informations dans la littérature sur le contenu et la composition des polyphénols dans les aliments végétaux est non seulement incomplète mais parfois aussi contradictoire et difficile à comparer. **Le Tableau 1** énumère le contenu phénolique des différents aliments et boissons d'origine végétale.

## Revue bibliographique

**Tableau 1** : Les polyphénols dans les aliments et les boissons d'origine végétale (Bravo, 1998).

Aliments/Boissons <sup>a</sup>	Polyphénols totaux
Céréales (mg / 100 g dm)	
Orge	1200-1500
Blé	30.9
Millet	590-1060
Avoine	8.7
Riz	8.6
Sorgho	170-10.260
Blé	22-40
Légumineuses (mg / 100 g ms)	
Gramme noir	540-1200
Pois chiches	78-230
Niébé	175-590
Haricots communs	34-280
Gramme vert	440-800
Pois d'Angole	380-1710
Noix (% ms)	
Noix de bétel	26-33
Noix de cajou	33.7
Cacahuètes	0.04
Noix de pécan	8-14
Légumes (mg / 100 g de mf)	
Choux de Bruxelles	6-15
Chou	25
Poireau	20-40
Oignon	100-2025
Persil	55-180
Céleri	94
tomate	85-130
Fruits (mg / 100 g mf)	
Pomme	27-298
Abricot	30-43
Cassis	140-1200
Myrtille	135-280
Cerise	60-90
L'airielle	128
Canneberge	77-247
Groseille à maquereau	22-75
Grain de raisin	50-490
Pamplemousse	50
Orange	50-100
Pêche	10-150
Poire	2-25
Prune	4-225
Framboise	37-429
Groseille	17-20
Fraise	38-218
Boissons	
Jus de fruits (mg/L)	
jus de pomme	2-16
Jus d'orange <sup>b</sup>	370-7100
	660-1000
Feuilles de thé (% ms)	
Vert	20-35
Noir	22-33
Thé, tasse (mg / 200 ml)	150-210
Grains de café (% ms)	0.2-10
Café, tasse (mg / 150 ml)	200-550
Haricots de cacao (% ms)	12-18
Vin (mg/l)	
rouge	1000-4000 (6500)
Bière (mg / L)	60-100

<sup>a</sup> ms= matière sèche ; mf= matière fraîche ; <sup>b</sup> Les valeurs des différentes variétés d'orange

La plupart des polyphénols listés sont des acides phénoliques et flavonoïdes (y compris les anthocyanes, procyanidines, flavanones, flavanols, etc.). Les tanins sont souvent sous-estimés lorsque les polyphénols sont analysés dans les extraits des aliments. Dans les légumineuses et les céréales, les principaux polyphénols sont les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins. La teneur en polyphénols dans les céréales est généralement inférieure à 1% de matière sèche, sauf pour le sorgho (*Sorghum bicolor*), qui peuvent présenter 10% de matière sèche. Les légumineuses qui ont un contenu phénolique élevé sont les variétés sombres comme les haricots rouges et noirs (*Phaseolus vulgaris*) (Bravo, 1998).

### 3.9. Processus de transformation et potentiel antioxydant des aliments

Les processus de transformation des aliments, notamment des fruits et légumes, sont susceptibles de provoquer des changements importants du point de vue de leur composition chimique, et donc de leur potentiel antioxydant. En effet, la cuisson de certains légumes, quel que soit le mode de cuisson : micro-ondes, vapeur, eau bouillante (haricots verts, poivrons, brocoli, épinards), induit une augmentation de leur activité antiradicalaire (Turkmen *et al.*, 2005). L'inactivation des peroxydases par la cuisson est suggérée comme responsable de cette augmentation. La formation de produits néoformés est également impliquée dans ces changements d'activité. Certains produits de Maillard (ou de brunissement non-enzymatique), issus des réactions ayant lieu sous l'effet de la chaleur, exercent eux-mêmes aussi une action piègeuse de radicaux. D'autres études démontrent à l'inverse une baisse du potentiel antioxydant suite à la cuisson. Par exemple, la cuisson conventionnelle du brocoli dans l'eau bouillante ou par micro-ondes résulte en une réduction des teneurs en polyphénols totaux, en caroténoïdes et en vitamine C, et ce de manière durée-dépendante. Ces baisses de concentration en molécules anti-radicalaires s'illustrent par la réduction significative de la capacité anti-oxydante mesurée (Zhang et Hamazu, 2004). Il semble encore que selon

l'aliment, il y ait des différences importantes. Ainsi, la cuisson du brocoli ou de la pomme de terre induit un léger accroissement de leur activité antioxydante totale. A l'opposé, dans le cas de l'oignon, de la carotte ou du chou, une réduction importante est obtenue (Faller et Fialho, 2009). Enfin, une étude comparative de l'impact des modes de cuisson sur le potentiel antioxydant des poivrons démontre que la cuisson micro-ondes préserve le mieux les composés antioxyants, alors qu'une baisse significative est observée dans le cas de la cuisson à l'eau (avec une tendance proportionnelle à la quantité d'eau utilisée et à la durée de cuisson). Ce dernier mode de cuisson semble induire une solubilisation de certains composés dans l'eau de cuisson qui seront donc éliminés (ex. vitamine C) (Chuah *et al.*, 2008). Ces résultats se confirment dans une autre étude dans laquelle, pour la majorité des aliments, les propriétés anti-oxydantes sont mieux préservées voir même augmentées lorsque les aliments sont cuits par des méthodes évitant l'eau (Jiménez-Monreal *et al.*, 2009).

Pour l'exemple de la tomate, la cuisson augmente la bio-accessibilité du lycopène, mais baisse les teneurs en vitamine C. Pour les polyphénols, la cuisson n'induit pas de changement (Dewanto *et al.*, 2002). Il en résulte une action antioxydante significativement plus élevée. En effet, les procédés de transformation ou de conservation des aliments comme la cuisson, la pasteurisation, la découpe/broyage peuvent directement être délétères pour certaines molécules, mais peuvent au contraire, par la destruction de la matrice, améliorer leur biodisponibilité. La rupture de la matrice peut par exemple favoriser la solubilisation des caroténoïdes libres ou estérifiés. Par contre, le simple stockage des aliments réduit drastiquement leur teneur en caroténoïdes. Une perte de plus de 60% du lycopène a été observée après 8 semaines de stockage des carottes à 1 °C (Maiani *et al.*, 2009).

En résumé, les procédés de cuisson ou de transformation peuvent induire un accroissement du potentiel antioxydant, ou au contraire l'abaisser. Dans le premier cas, il peut n'y avoir aucun

## Revue bibliographique

---

changement du profil chimique de l'aliment, ou alors une déperdition de certains composés antioxydants accompagnée de la néoformation de molécules elles-mêmes antioxydantes contre balançant cette perte. En cas d'augmentation de l'activité antioxydante, certaines molécules ont pu être rendues davantage accessibles, ou c'est encore la néoformation de composés antioxydants qui en est la source. Enfin, une baisse des capacités antioxyante peut être le fruit d'une perte des molécules antioxydantes natives, ainsi que de la production de nouveaux composés prooxydants. L'ensemble de ces réactions est dépendante de la nature de l'aliment et du procédé de transformation (Nicoli *et al.*, 1999).

# **Partie expérimentale**

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1. Matériel végétal

Tous les fruits et légumes (de bonne qualité et sans dommage) sont achetés du marché local de la région de Biskra et Sétif (Algérie) en période de leur consommation fréquente durant l'année 2012-2013. Les détails sur les échantillons sont présentés dans le **Tableau 2** et **3**.

**Tableau 2** : Région d'achat, nom scientifique et la partie utilisée des légumes.

Légumes	Region d'achat	Nom scientifique	Partie utilisée
Artichaut (fleur)	Sétif	<i>Cynara cardunculus</i> L.var. <i>scolymus</i>	Fleur
Artichaut (tige)	Sétif	<i>Cynara cardunculus</i> L.var. <i>scolymus</i>	Tige
Aubergine	Biskra	<i>Solanum melongena</i> L.	Fruit
Betterave	Biskra	<i>Beta vulgaris</i> L.var. <i>rapacea</i> Koch	Racine
Blette	Sétif	<i>Beta vulgaris</i> L.var. <i>cicla</i> Pers	Feuilles
Carotte	Biskra	<i>Daucus carota</i> ssp. <i>sativus</i>	Tubercule
Chou	Sétif	<i>Brassica oleracea</i> L.	Feuilles
Chou-fleur	Biskra	<i>Brassica oleracea</i> L.	Fleur
Citrouille	Sétif	<i>Cucurbita maxima</i> Duch.	Fruit
Concombre	Biskra	<i>Cucumis sativus</i> L.	Fruit
Corète	Biskra	<i>Corchorus olitorius</i> L.	Feuilles
Courgette	Biskra	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Fruit
Fenouil	Biskra	<i>Foeniculum dulce</i> Mill.	Feuilles
Fève	Sétif	<i>Vicia faba</i> L.	Graine
Haricot vert	Sétif	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fruit (gousse)
Laitue	Sétif	<i>Lactuca sativa</i> L.	Feuilles
Navet	Biskra	<i>Brassica napus</i> L.	Racine
Oignon	Biskra	<i>Allium cepa</i> L.	Bulbe
Piment	Biskra	<i>Capsicum annum</i> L.	Fruit
Pois vert	Sétif	<i>Pisum sativum</i>	Graine
Pomme de terre	Biskra	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Tubercule
Tomate	Biskra	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Fruit

**Tableau 3** : Région d'achat, nom scientifique et la partie utilisée des fruits

Fruits	Région d'achat	Nom scientifique	Partie utilisée
Pomme	Biskra	<i>Malus communis</i> Poir.	Fruit
Abricot	Sétif	<i>Prunus armeniaca</i> L.	Fruit
Banane	Sétif	<i>Musa sapientum</i> L.	Fruit
Dates "Deglat-Nour"	Biskra	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Fruit
Dates "Ghars"	Biskra	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Fruit
Dates "Mech-Degla"	Biskra	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Fruit
Raisin (noir)	Biskra	<i>Vitis venifera</i> L.	Fruit
Raisin (blanc)	Biskra	<i>Vitis venifera</i> L.	Fruit
Mandarine	Sétif	<i>Citrus reticulata</i>	Fruit
Néflier du Japon	Sétif	<i>Eryobotrya japonica</i> Lindl.	Fruit
Orange	Sétif	<i>Citrus sinensis</i> Osb.	Fruit
Pêche	Sétif	<i>Prunus persica</i> L.	Fruit
Poire	Biskra	<i>Pyrus communis</i> L.	Fruit
Grenade	Sétif	<i>Punica granatum</i> L.	Fruit

## 1.2. Animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des rats mâles *Wistar albino* dont le poids varie entre 150 g et 180 g, procurés auprès de l'Institut Pasteur d'Alger. Les rats sont placés dans des cages pour une période d'adaptation d'une semaine avec accès libre à la nourriture et à l'eau avant d'être utilisés dans les différentes expériences. L'aliment provient de l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) d'EL Kseur, Bejaia. Les animaux sont maintenus dans une animalerie à température ambiante.

## 1.3. Extraction

L'extraction a été faite selon la méthode décrite par Hossain *et al.* (2010). 1 Kg de chaque fruit et légume frais (à l'exception de la corète qui est utilisée sous forme sèche) préalablement nettoyé est coupé en petits morceaux et broyé par un mixeur, 100 g du broyat sont macérés dans 625 ml d'un mélange méthanol/eau (80/20 : V/V) pendant 3 jours à 4 °C. Le macérât est filtré

par un papier filtre et le filtrat est soumis à une évaporation rotative à 45°C par un rotavapeur.

L'extrait obtenu est séché et conservé à 4°C jusqu'à l'utilisation.

### 1.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode décrite par Li *et al.* (2007),

100 µl de chaque extrait sont ajoutés à 500µl du réactif de Folin -Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau distillée) après 4 min d'incubation 400 µl de carbonate de sodium 7.5% sont additionnés.

Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante.

L'absorbance de chaque solution a été lue à 765 nm contre un blanc par un spectrophotomètre.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations (12.5-100 µg/ml) et exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg)

### 1.5. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de Quettier-Deleu *et al.* (2000)

en utilisant le trichlorure d'aluminium, un volume de 500 µl de chaque extrait a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Le mélange a été agité par un vortex et l'absorbance à 430 nm a été lue par un spectrophotomètre après 10 minutes d'incubation.

La quantification des flavonoïdes a été évaluée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine à différentes concentrations (12.5-40 µg/ml). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

---

## 1.6. Dosage des tannins

La quantification des tannins a été effectuée par la méthode décrite par Bate-Smith (1973). Un volume de 500 µl de sang frais de bovin (qui a une absorbance égale à 1,6 à la longueur d'onde de 576 nm) a été ajouté à 500 µl de l'extrait. Après agitation et centrifugation pendant 10 min à 4000 tours / min, l'absorbance du surnageant a été lue à 576 nm. La quantification des tannins a été réalisée en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide tannique à différentes concentrations (200 à 600 µg / ml). Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent acide tannique par milligramme d'extrait sec (µg EAT / mg).

## 1.7. Activité antioxydante *in vitro* des extraits des fruits et légumes

La diversité de la nature et la structure des composés végétaux nécessitent le développement de nombreuses méthodes pour évaluer leur activité antioxydante. Chaque méthode utilise ou génère un radical différent impliqué dans le processus d'oxydation. Une seule méthode est insuffisante pour représenter la capacité antioxydante totale des extraits. Quatre méthodes différentes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits : l'activité antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH, la chélation aux ions ferreux, le pouvoir réducteur du fer ferrique et le test de blanchissement β-carotène /acide linoléique.

### 1.7.1. Activité antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle)

La mesure de l'activité antiradicalaire des extraits a été effectuée par le test au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon la méthode de Brand-Williams *et al.* (1995) avec modification. Une gamme de concentrations d'extrait et de la quercétine (antioxydant de référence) est préparée. Un volume de 50 µL de cette solution, est mélangé à 1,25 ml de DPPH (0.04 mg/ml) préparé dans le méthanol. Après agitation, le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est lue à 517 nm contre un blanc

---

qui ne contient que du méthanol. L'activité antiradicalaire est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$

La  $CI_{50}$  qui est la concentration d'extrait ou de la quercétine responsable de 50% d'inhibition du radical DPPH, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits ou de la quercétine.

### 1.7.2. Activité chélatrice des ions ferreux

L'activité chélatrice des extraits est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de Le *et al.* (2007). Les solutions d'échantillons (250  $\mu$ l) sont initialement mélangées avec 50  $\mu$ l FeCl<sub>2</sub> (0.6 mM dans l'eau distillée) et 450  $\mu$ l de méthanol. Après 5 min, 50  $\mu$ l de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) sont additionnés au milieu réactionnel, le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante permettant ainsi la complexion du fer résiduelle et la formation d'un chromophore rouge (Fe (II)-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm. L'activité chélatrice des extraits a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité chélatrice (\%)} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

### 1.7.3. Pouvoir réducteur du fer ferrique

La capacité antioxydante des différents extraits a été évaluée en déterminant leur capacité à réduire le fer (III) en fer (II) par la méthode décrite par Ozsoy *et al.* (2008). 100  $\mu$ l de chaque extrait a été mélangé avec 100  $\mu$ l d'une solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 100 ml de solution de l'hexacyanoferrate de potassium (1%). Le mélange a été incubé pendant 20

---

minutes à 50°C dans un bain-marie. Ensuite, 250 µl d'acide trichloroacétique (1 %) ont été ajoutés et le mélange est centrifugé pendant 10 minutes. Puis 250 µl du surnageant ont été prélevés et mélangés à 250 µl d'eau distillée et 500 µl d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0.1%. L'absorbance a été lue à 700 nm. Une courbe d'étalonnage du BHT utilisé comme référence à différentes concentrations a été tracée. La valeur de la CI<sub>50</sub> a été définie comme la concentration de l'extrait ou de l'étalon ayant l'absorbance de 0.5.

### 1.7.4. Test de blanchissement du β-carotène

Dans ce test la capacité antioxydante des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Kartal *et al.* (2007). 0.5 mg de β-carotène est dissoute dans 1ml de chloroforme. Après, 25µl d'acide linoléique et 200 mg de tween 40 sont ajoutés à la solution obtenue. Après évaporation de chloroforme par un rotavapeur, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutées à la solution obtenue, le tout est agité par un vortex. Après, 2.5ml de cette émulsion sont transférées dans des tubes. Après, 350µl de chaque extrait ou de l'antioxydant de référence BHT (butylated hydroxytoluene) d'une concentration de 2 mg/ml sont ajoutés à ces tubes. La cinétique de décoloration de l'émulsion est suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 24 heures. L'activité antioxydante relative des extraits est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antioxydante relative (\%)} = (\text{Abs échantillon}/\text{Abs BHT}) \times 100$$

### 1.8. Activité antioxydante *in vivo* des extraits des fruits et légumes

L'activité antioxydante *in vivo* des extraits de la grenade, la tomate, le piment et les dattes « Deglat-Nour » a été évaluée en mesurant les marqueurs du stress oxydatif qui sont les substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS), le glutathion réduit GSH et la

catalase, dans les reins et le foie des rats après le gavage gastrique des extraits pendant 14 jours successifs.

### **1.8.1. Traitement des animaux**

Les rats sont répartis en 14 lots, chaque lot contient sept rats.

**Lot 1** : reçoit 250 mg/Kg d'extrait des dattes « Deglat-Nour » pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 2** : reçoit 500 mg/Kg d'extrait des dattes « Deglat-Nour » pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 3** : reçoit 1000 mg/Kg d'extrait des dattes « Deglat-Nour » pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 4** : reçoit 250 mg/Kg d'extrait de tomate, pour chaque rat, une fois par jour, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 5** : reçoit 500 mg/Kg d'extrait de tomate, pour chaque rat, une fois par jour pendant 14 jours.

**Lot 6** : reçoit 1000 mg/Kg d'extrait de tomate, pour chaque rat, une fois par jour pendant 14 jours.

**Lot 7** : reçoit 250 mg/Kg d'extrait de piment, pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 8** : reçoit 500 mg/Kg d'extrait de piment, pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 9** : reçoit 1000 mg/Kg d'extrait de piment, pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 10** : reçoit 250 mg/Kg d'extrait de grenade, pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 11** : reçoit 500 mg/Kg d'extrait de grenade, pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 12** : reçoit 1000 mg/Kg d'extrait de grenade, pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 13** : groupe contrôle, reçoit l'eau physiologique 0,9% pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

**Lot 14** : reçoit 100 mg/Kg de l'acide ascorbique pour chaque rat, une fois par jour, pendant 14 jours.

Il est impératif d'ajuster les doses de traitement pour les lots chaque semaine selon le changement du poids afin de maintenir la même dose par kilogramme du poids corporel.

### **1.8.2. Sacrifice des animaux**

A la fin de la période du traitement, les animaux sont mis à jeun pendant une nuit, le poids des rats après le dernier jour du traitement sont notés avant le sacrifice. Les rats sont sacrifiés par décapitation cervicale. Après la récolte sanguine on passe à la dissection et au prélèvement des organes.

### 1.8.3. Préparation des homogénats

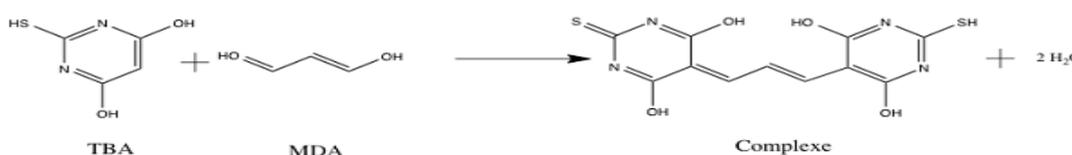
Après la dissection, le foie et les reins de chaque rat sont rapidement prélevés et rincés avec l'eau physiologique froide puis séchés sur le papier filtre. Ensuite, chaque organe est coupé en petits morceaux, pesé et enfin homogénéisé par un homogénéisateur de laboratoire dans une solution de tris HCl 50 mmol à raison de 10% poids /volume.

L'homogénat obtenu est centrifugé à 4000 tours/minute pendant 10 minutes pour éliminer les débris cellulaires. Ensuite, le surnageant est récupéré dans des tubes secs est stocké à -20°C jusqu'à l'utilisation.

### 1.8.4. Dosage des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS)

La quantité des TBARS est exprimée en termes d'un équivalent biochimique qui est le « malondialdéhyde MDA », un des produits terminaux formés lors de la peroxydation des acides gras polyinsaturés méditée par les radicaux libres. La mesure de l' MDA à l'aide du TBA selon la méthode d'Okhawa *et al.* (1979) permet la quantification de la peroxydation lipidique qui constitue le marqueur majeur du stress oxydant.

Le dosage de l'MDA repose sur la formation, en milieu acide et à chaud (100°C), entre une molécule d' MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique d'un pigment coloré absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le butanol (**Figure 29**).



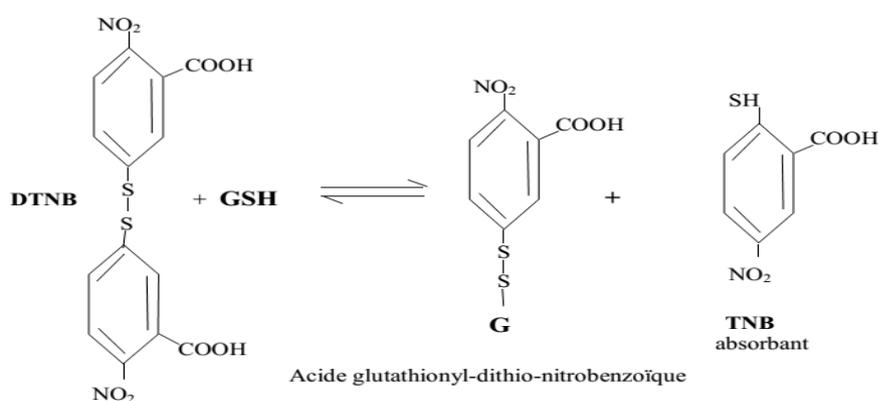
**Figure 29** : Principe du dosage du MDA, MDA : Malondialdéhyde, TBA : Thiobarbituric acid (Bastos *et al.*, 2012).

La quantité de l'MDA est évaluée au niveau du foie et les reins. A 0.5 ml de l'homogénat, on a ajouté 0.5ml de TCA 20% et 1ml de TBA 0.67 %. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidis puis additionné de 4 ml de n-butanol.

Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours /minutes, la densité optique du surnageant est déterminée par un spectrophotomètre à 530 nm. Le MDA est exprimé en nmol/g de tissu de l'organe étudié et calculé à partir d'une gamme préparée sous les même conditions avec une solution de « 1,1,3,3-tetraetoxypropane » qui donne le MDA après son hydrolyse (**Annexe 4**).

### 1.8.5. Dosage du glutathion réduit GSH

Le dosage du glutathion réduit est basé sur la méthode colorimétrique d'Ellman (1959). Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) (réactif d'Ellman) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm, selon la réaction suivante (**Figure 30**)



**Figure 33** : Principe de dosage du glutathion (Araujo *et al.*, 2008)

Pour ce dosage, 50 µl de surnageant ont été dilués dans 10 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 8). Ensuite, à 3 ml du mélange de cette dilution, 20 µl de DTNB (0.01 M) ont été ajoutés. La couleur jaune développée a été lue à 412 nm après 5 min d'incubation contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le Tris-HCl (50 mmol). Une gamme des concentrations de

l'étalon le glutathion (0.07-20 mmol / ml) est établie par la même manière (**Annexe 4**). La concentration du glutathion réduit a été exprimée comme mmol / g du tissu.

### 1.8.6. Dosage des protéines tissulaires

Le dosage des protéines tissulaires a été effectué selon la méthode de Gornall *et al.* (1949) en utilisant le réactif de Biuret qui contient l'iodure de potassium, le tartrate de potassium et de sodium, le sulfate de cuivre et l'hydroxyde de sodium. L'albumine de sérum bovin est utilisée comme étalon. 1 ml de réactif de Biuret a été mélangé avec 25 µl d'échantillon ou de l'étalon (l'albumine), après 10 minutes d'incubation à 37 ° C, l'absorbance a été mesurée à 540 nm.

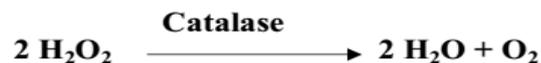
La concentration des protéines totales a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Protéines totales (mg / ml)} = (\text{Abs échantillon} / \text{Abs étalon}) \times n$$

Où n est la concentration de l'étalon.

### 1.8.7. Dosage de l'activité enzymatique du catalase

L'activité enzymatique du catalase est déterminée dans les tissus du foie et les reins selon la méthode de Cohen *et al.* (1970). Le dosage de l'activité enzymatique du catalase est basé sur la diminution de l'absorbance à 240 nm qui est due à la décomposition du superoxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par la catalase.



25 µl de l'homogénat sont mélangés avec 1475 µl d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 19 mM/ml préparée dans le tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M). Le changement de l'absorbance est suivi pendant deux minutes en prenant les valeurs à t<sub>0</sub> et après chaque minute. L'activité

---

enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI / min/g de protéine) selon la formule suivante :

$$U/g \text{ tissu} = (2.3033/ T) \times (\log A_1/A_2) /g \text{ tissu}$$

$$K = (2.3033/T) \times \log (A_1/A_2)$$

Dont :

K : Constante de vitesse de la réaction d'ordre 1.

T : Intervalle de temps en minute.

A<sub>1</sub> : Absorbance à t<sub>0</sub>

A<sub>2</sub> : Absorbance à t<sub>1</sub>

L'activité enzymatique du catalase = K/n où n représente la quantité de tissu en gramme dans le volume utilisé de l'échantillon testé.

### 1.9. Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée par le logiciel Graph Pad Prism (version 5). Les résultats *in vitro* sont exprimés en moyenne ± SD et *in vivo* sont exprimés moyenne ± SEM et analysés par l'ANOVA univariée suivie par le test de Dunnett pour la comparaison des résultats, les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées statistiquement significatives.

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement distribués dans le règne végétal et ils ont une activité antioxydante significative en raison de leur capacité à donner de l'hydrogène et à former des radicaux intermédiaires stables.

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins des extraits de fruits et légumes ont été calculées à partir de la droite d'étalonnage de l'acide gallique, la quercétine et de l'acide tannique (**Figure 1, 2 et 3 dans Annexe 1**) et elles sont présentées dans le **Tableau 4 et 5**.

Les résultats montrent que la teneur en polyphénols totaux dans les légumes varie de 34.51 à 360.2 µg de EAG / mg d'extrait. La fève, le chou-fleur, la courgette et la laitue présentent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux avec des valeurs égales à  $360.2 \pm 8.20$ ,  $340.22 \pm 4.66$ ,  $305.85 \pm 3.79$  et  $300.66 \pm 5.97$  µg d'EAG / mg d'extrait, suivis par le piment ( $294.07 \pm 5.62$  µg d'EAG / mg d'extrait), l'aubergine ( $292.96 \pm 4.29$  µg d'EAG / mg d'extrait) et la corète ( $276.37 \pm 5.30$  µg d'EAG / mg d'extrait).

Toutefois, les tiges d'artichaut ( $34.51 \pm 4.35$  µg d'EAG / mg d'extrait), le fenouil ( $43.77 \pm 9.23$  µg d'EAG / mg d'extrait), le chou ( $62.22 \pm 1.35$  µg d'EAG / mg d'extrait) et le concombre ( $69.11 \pm 2.78$  µg d'EAG / mg d'extrait) contiennent une teneur faible en composés phénoliques.

**Tableau 4 :** Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les extraits des légumes

Nom commun	Les polyphénols dans les extraits (µg EAG/ mg)	Les flavonoïdes dans les extraits (µg EQ /mg)	Les tannins dans les extraits (µg EAT /mg)
Artichaut (fleur)	108 ± 5.34	0.89 ± 0.02	2.74 ± 0.17
Artichaut (tige)	34.51 ± 4.35	1.46 ± 0.03	3.47 ± 0.07
Aubergine	292.96 ± 4.29	4.50 ± 0.16	8.68 ± 0.18
Betterave	87.11 ± 3.79	2.37 ± 0.06	17.91 ± 0.74
Blette	255.88 ± 4.87	32.13 ± 0.99	19.59 ± 0.12
Carrote	43.88 ± 1.72	1.43 ± 0.05	7.35 ± 0.04
Chou	62.22 ± 1.35	0.73 ± 0.09	4.48 ± 0.03
Chou-fleur	340.22 ± 4.66	2.78 ± 0.28	5.26 ± 0.01
Citrouille	80 ± 3.14	2.90 ± 0.00	2.98 ± 0.51
Concombre	69.11 ± 2.78	0.34 ± 0,00	5.53 ± 0.02
Corète	276.37 ± 5.30	34.8 ± 0.80	20.91 ± 1.24
Courgette	305.85 ± 3.79	19.93 ± 0.35	21.59 ± 0.12
Fenouil	43.77 ± 9.23	0.53 ± 0.01	2.70 ± 0.21
Fève	360.2 ± 8.20	11.07 ± 0.56	7.89 ± 0.04
Haricot vert	91.92 ± 9.00	2.53 ± 0.06	8.47 ± 0.52
Laitue	300.66 ± 5.97	12.28 ± 0.25	8.81 ± 0.25
Navet	79.55 ± 9.71	0.86 ± 0.03	5.02 ± 0.02
Oignon	245.88 ± 7.07	4.38 ± 0.07	6.54 ± 0.91
Piment	294.07 ± 5.62	2.49 ± 0.20	6.51 ± 0.01
Pois vert	259.2 ± 3.95	10.07 ± 0.80	9.06 ± 0.06
Pomme de terre	167.22 ± 3.61	2.72 ± 0.23	5.88 ± 0.24
Tomate	197.40 ± 9.06	2.08 ± 0.04	8.04 ± 0.54

Les résultats sont présentés en moyenne ± SD, n=3.

**Tableau 5 :** Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les extraits des fruits

Nom commun	Les polyphénols dans les extraits (µg EAG/ mg)	Les flavonoïdes dans les extraits (µg EQ /mg)	Les tannins dans les extraits (µg EAT /mg)
Abricot	48.3 ± 4.76	0.66 ± 0.13	2.26 ± 0.01
Banane	41.55 ± 2.19	0.04 ± 0.00	3.65 ± 0.02
Dattes " Deglat-Nour"	84.15 ± 3.14	0.22 ± 0.01	1.86 ± 0.00
Dattes "Ghars"	56.77 ± 1.72	0.20 ± 0.06	2.25 ± 0.10
Dattes "Mech-Degla"	29.48 ± 7.18	2.94 ± 0.05	1.77 ± 0.06
Grenade	200.51 ± 1.26	0.86 ± 0.16	39.44 ± 0.83
Mandarine	115.25 ± 0.12	0.08 ± 0.00	10.91 ± 0.29
Néflier du Japon	80.36 ± 1.40	0.83 ± 0.09	1.84 ± 0.02
Orange	65.22 ± 1.72	1.14 ± 0.00	7.50 ± 0.19
Pêche	46.86 ± 8.30	1.05 ± 0.11	2.27 ± 0.01
Poire	151.55 ± 1.25	1.03 ± 0.03	5.15 ± 0.10
Pomme	115.77 ± 0.00	1.19 ± 0.01	5.33 ± 0.09
Raisin (blanc)	92.11 ± 3.45	0.41 ± 0.05	5.17 ± 0.01
Raisin (noir)	91 ± 2.98	0.63 ± 0.02	4.99 ± 0.07

Les résultats sont présentés en moyenne ± SD, n=3.

---

Concernant la quantification des polyphénols totaux dans les fruits, on remarque que la grenade présente la teneur la plus élevée ( $200.51 \pm 1.26 \mu\text{g d'EAG} / \text{mg d'extrait}$ ), suivie par la poire ( $151.55 \pm 1.25 \mu\text{g d'EAG} / \text{mg d'extrait}$ ), la pomme ( $115.77 \pm 0.00 \mu\text{g d'EAG} / \text{mg d'extrait}$ ) et la mandarine ( $115.25 \pm 0.12 \mu\text{g d'EAG} / \text{mg d'extrait}$ ).

En comparaison avec d'autres études, la teneur totale en polyphénols dans la tomate, l'oignon, la courgette, le raisin blanc, l'orange, la fève, la laitue, l'aubergine et le piment est plus élevée que celle de Cieřlik *et al.* (2006) ; Liu *et al.* (2007) ; Baginsky *et al.* (2013) et Mokhtar *et al.* (2015). Cependant, la teneur en composés phénoliques dans le chou-fleur, la carotte et le pois vert est inférieure à celle de Kähkönen *et al.* (1999) et Dos Reis *et al.* (2015).

La teneur totale en polyphénols estimée dans la grenade ( $200.51 \pm 1.26 \mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$ ) est supérieure à celle Derakhshan *et al.* (2018) qui est égale à  $23.8 \pm 6.74 \mu\text{g EAG/mg}$  de l'extrait du jus.

### 2.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes dans les légumes varie de  $0.34 \pm 0.00$  à  $34.8 \pm 0.80 \mu\text{g d'EQ} / \text{mg d'extrait}$ . Le concombre, le navet et le fenouil contiennent la teneur la plus fiable en flavonoïdes. Tandis que la corète, la blette, la courgette et la laitue contiennent la teneur la plus élevée avec des valeurs égales à  $34.8 \pm 0.80$ ,  $32.13 \pm 0.99$ ,  $19.93 \pm 0.35$  et  $12.28 \pm 0.25 \mu\text{g d'EQ} / \text{mg d'extrait}$ .

Cependant, les dates «Mech-Degla», la pomme, l'orange, contiennent la teneur la plus élevée en flavonoïdes ( $2.94 \pm 0.05$ ,  $1.19 \pm 0.01$  et  $1.14 \pm 0.00 \mu\text{g d'EQ} / \text{mg d'extrait}$  respectivement).

Dans cette étude, la teneur en flavonoïdes de la corète et la blette est supérieure à celle d'Oboh *et al.* (2009) et Sacan et Yanardag (2010).

---

Cependant, la teneur en flavonoïdes des dattes et de la courgette est plus élevée que celle de Zineb *et al.* (2012) et Baljeet *et al.* (2016).

### 2.3. Teneur en tannins

La teneur en tanins des légumes varie entre  $2.70 \pm 0.21$  et  $21.59 \pm 1.24$   $\mu\text{g}$  d'EAT / mg d'extrait. La courgette contient la teneur la plus élevée ( $21.59 \pm 0.12$   $\mu\text{g}$  d'EAT / mg d'extrait) suivie par la corète ( $20.91 \pm 1.24$   $\mu\text{g}$  de d'EAT / mg d'extrait), la blette ( $19.59 \pm 0.12$   $\mu\text{g}$  d'EAT / mg d'extrait) et la betterave ( $17.91 \pm 0.74$   $\mu\text{g}$  d'EAT/ mg d'extrait). Alors que la grenade est la plus riche en tannins avec une teneur de  $39.44 \pm 0.83$   $\mu\text{g}$  d'EAT / mg d'extrait et cette valeur est plus élevée que celle de Orak *et al.* (2012).

Les tannins sont des polyphénols présents à différentes concentrations dans de nombreux fruits et légumes. Des études ont révélé que certains tannins possèdent une puissante activité antioxydante (Ghosh, 2015).

Plusieurs tannins de grenade comme les ellagitanins, que l'on trouve dans le jus de la grenade montrent une grande activité antioxydante comme rapporté par Zarfeshany *et al.* (2014).

De nombreux légumes et fruits sont riches en polyphénols et en flavonoïdes comme les acides férulique, chlorogénique, coumarique et syringique, la lutéoline, la quercétine et le kaempférol (Shahidi et Naczki, 2003 ; Iswaldi *et al.*, 2013 ; Mukherjee *et al.*, 2013).

En plus, les anthocyanes sont des pigments dissous dans la sève vacuolaire des tissus épidermiques des fleurs et des fruits, auxquels ils donnent une couleur rose, rouge, bleue ou pourpre. Ils existent sous différentes formes chimiques, et ils peuvent être colorés et non colorés, selon le pH. Dans l'alimentation humaine, les anthocyanes se trouvent dans le vin rouge, certaines variétés de céréales et certaines feuilles et racines des végétaux (aubergines, choux, haricots, oignons, radis) mais ils sont les plus abondants dans les fruits (Manach *et al.*,

2004). C'est pour ça, les anthocyanes de l'aubergine et les oignons et le raisin noir, les pommes et la grenade pouvant être considérés comme responsables à la teneur élevée en polyphénols dans ces fruits et légumes.

Cependant, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité de la comparaison.

L'extraction des polyphénols a été réalisée par macération dans un mélange hydro-méthanol, la solubilité des composés phénoliques est influencée par le type de solvant (polarité) utilisé, le degré de polymérisation des composés phénoliques et l'interaction des composés phénoliques avec d'autres constituants alimentaires et la formation de complexes insolubles. Ainsi, il n'existe pas de procédure uniforme ou totalement satisfaisante convenant à l'extraction de tous les polyphénols ou d'une classe spécifique de composés phénoliques dans les matériaux végétaux. Dans cette étude, l'extraction a été réalisée par macération dans le méthanol (80 %) qui est fréquemment utilisé pour l'extraction de composés phénoliques (Naczka et Shahidi, 2004).

Comme mentionné dans Pérez-Jiménez *et al.* (2010) et Viacava *et al.* (2015), un procédé d'extraction des antioxydants des aliments végétaux doit combiner au moins deux cycles d'extraction réalisés avec des solvants aqueux-organiques de polarités différentes afin d'extraire un maximum des composés antioxydants de structures chimiques différentes.

Plusieurs facteurs peuvent influencer le contenu phénolique des plantes alimentaires, tels que les facteurs environnementaux, tels que les facteurs climatiques et agronomiques et la région géographique (Kumari *et al.*, 2017 ; Taghizadeh *et al.*, 2018), les facteurs génétiques, la transformation industrielle, le stockage et la méthode de préparation (Manach *et al.*, 2004).

La quantification des polyphénols totaux a été faite par le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dosage présente des inconvénients tels que la non-spécificité, le réactif de Folin-Ciocalteu détecte tous

---

les groupes phénoliques comprenant les protéines. Aussi, il y a l'interférence de substances réduites comme l'acide ascorbique (Naczki et Shahidi, 2004).

### 2.4. Activité antioxydante *in vitro* des extraits des légumes et fruits

La présence de différents antioxydants dans les tissus végétaux, en particulier les fruits et les légumes, rend difficile à mesurer l'activité antioxydante de chaque composant. En conséquence, plusieurs méthodes ont été développées ces dernières années pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons biologiques (Kähkönen *et al.*, 1999).

L'activité antioxydante de 22 légumes et de 14 extraits de fruits évalués par la méthode du piégeage du radical DPPH, l'activité de chélation des ions ferreux, le pouvoir réducteur du fer ferrique et le test de blanchissement de la  $\beta$ -carotène / acide linoléique sont présentés dans le **Tableau 6** et **7**.

L'activité antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH, l'activité chélatrice des ions du fer et le pouvoir réducteur du fer des extraits de fruits et légumes a été calculée à partir de la régression linéaire du pourcentage d'inhibition par rapport aux concentrations des extraits (**Annexe 2**).

#### 2.4.1. Activité antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH

Dans cette étude, l'haricot vert, la corète, la laitue, l'aubergine, l'artichaut (fleur), la courgette, le pois vert, la blette, la grenade et le raisin noir ont montré une activité antioxydante élevée avec une  $CI_{50} \leq 0.8$  mg / ml. Le piment, la tomate, l'oignon, la pomme de terre, la betterave, la citrouille, le chou-fleur, le chou, la fève, le raisin blanc, la pomme, la pêche, le néflier du Japon et l'abricot ont une  $CI_{50}$  comprise entre 0.8 et 2 mg / ml. Tandis que la carotte, le navet, le concombre, le fenouil, l'artichaut (tige), la poire, la banane, la mandarine, l'orange et les dattes ont une faible activité antiradicalaire avec une  $CI_{50} \geq 2$  mg / ml.

## Résultats et discussion

**Tableau 6 :** Activité antioxydante des extraits des légumes

Extraits et standards	Activité antiradicalaire vis-à-vis le radical DPPH (CI <sub>50</sub> mg/ml)	Activité chélatrice des ions du fer (CI <sub>50</sub> mg/ml)	Pouvoir réducteur (CI <sub>50</sub> mg/ml)	Test de blanchissement de la β-carotène (% inhibition après 24 h d'incubation)
Artichaut (fleur)	0.36±0.02 <sup>(d)</sup>	0.04±0.01 <sup>(a)</sup>	7.73±0.076 <sup>(d)</sup>	72.12±2.53 <sup>(d)</sup>
Artichaut (tige)	4.02±0.28 <sup>(d)</sup>	2.21±0.16 <sup>(d)</sup>	7.68±0.57 <sup>(d)</sup>	78.73±1.43 <sup>(d)</sup>
Aubergine	0.36±0.00 <sup>(d)</sup>	1.27±0.06 <sup>(d)</sup>	7.13±0.09 <sup>(d)</sup>	49.14±5.28 <sup>(d)</sup>
Betterave	1.76±0.01 <sup>(d)</sup>	5.23±0.17 <sup>(d)</sup>	37.30±1.27 <sup>(d)</sup>	51.11±5.37 <sup>(d)</sup>
Blette	0.77±0.01 <sup>(d)</sup>	0.07±0.01 <sup>(a)</sup>	4.95±0.18 <sup>(d)</sup>	64.31±7.69 <sup>(d)</sup>
Carrote	3.77±0.06 <sup>(d)</sup>	0.32±0.01 <sup>(d)</sup>	76.25±1.90 <sup>(d)</sup>	35.45±5.38 <sup>(d)</sup>
Chou	1.79±0.06 <sup>(d)</sup>	0.22±0.01 <sup>(d)</sup>	9.07±0.18 <sup>(d)</sup>	66.06±3.64 <sup>(d)</sup>
Chou-fleur	1.67±0.03 <sup>(d)</sup>	0.72±0.02 <sup>(d)</sup>	16.75±0.66 <sup>(d)</sup>	72.07±1.55 <sup>(d)</sup>
Citrouille	1.69±0.03 <sup>(d)</sup>	0.16±0.00 <sup>(c)</sup>	6.59±0.54 <sup>(d)</sup>	21.13±2.92 <sup>(d)</sup>
Concombre	7.21±0.24 <sup>(d)</sup>	0.17±0.00 <sup>(d)</sup>	60.91±3.46 <sup>(d)</sup>	47.17±9.22 <sup>(d)</sup>
Corète	0.06±0.00 <sup>(d)</sup>	0.35±0.03 <sup>(d)</sup>	2.30±0.03 <sup>(d)</sup>	76.92±2.93 <sup>(d)</sup>
Courgette	0.48±0.02 <sup>(d)</sup>	0.18±0.01 <sup>(d)</sup>	3.32±0.01 <sup>(d)</sup>	84.89±2.66 <sup>(c)</sup>
Fenouil	3.29±0.07 <sup>(d)</sup>	0.29±0.02 <sup>(d)</sup>	53.28±2.28 <sup>(d)</sup>	47.72±1.20 <sup>(d)</sup>
Fève	1.58±0.04 <sup>(d)</sup>	0.09±0.00 <sup>(a)</sup>	4.08±0.20 <sup>(d)</sup>	88.42±2.97 <sup>(a)</sup>
Haricot vert	0.04±0.00 <sup>(b)</sup>	0.23±0.00 <sup>(d)</sup>	3.44±0.31 <sup>(d)</sup>	91.70±3.37 <sup>(a)</sup>
Laitue	0.22±0.00 <sup>(d)</sup>	0.19±0.00 <sup>(d)</sup>	12.19±0.48 <sup>(d)</sup>	77.17±5.38 <sup>(d)</sup>
Navet	2.15±0.03 <sup>(d)</sup>	0.18±0.01 <sup>(d)</sup>	5.35±0.44 <sup>(d)</sup>	20.25±3.81 <sup>(d)</sup>
Oignon	1.14±0.16 <sup>(d)</sup>	0.97±0.08 <sup>(d)</sup>	4.02±0.18 <sup>(d)</sup>	41.36±5.47 <sup>(d)</sup>
Piment	1.71±0.01 <sup>(d)</sup>	1.63±0.01 <sup>(d)</sup>	26.02±0.57 <sup>(d)</sup>	53.78±11.54 <sup>(d)</sup>
Pois vert	0.65±0.01 <sup>(d)</sup>	0.69±0.01 <sup>(d)</sup>	3.40±0.11 <sup>(d)</sup>	92.31±7.64 <sup>(a)</sup>
Pomme de terre	1.02±0.11 <sup>(d)</sup>	0.32±0.02 <sup>(d)</sup>	4.32±0.05 <sup>(d)</sup>	48.93±0.46 <sup>(d)</sup>
Tomate	0.96±0.01 <sup>(d)</sup>	10.17±0.83 <sup>(d)</sup>	5.22±0.60 <sup>(d)</sup>	44.39±8.18 <sup>(d)</sup>
Rutine	0.0072±0.00			
EDTA		0.0064±0.00		
BHT			0.32±0.00	94.94±3.69
H <sub>2</sub> O				6.41±0.38
MeOH				9.59±0.74

Les résultats sont présentés en moyenne ±SD, n=3

(a) : Différence non significative, (b) : \* (P<0.05), (c) : \*\* (P<0.01), (d): \*\*\* (P<0.001) par comparaison avec les standards

## Résultats et discussion

**Tableau 7** : Activité antioxydante des extraits des fruits

Extraits et standards	Effet scavenger vis à vis le radical DPPH (CI <sub>50</sub> mg/ml)	Activité chélatrice des ions ferreux (CI <sub>50</sub> mg/ml)	Pouvoir réducteur (CI <sub>50</sub> mg/ml)	Test de blanchissement de β-carotène/acide linoléique (% d'inhibition après 24 h d'incubation)
Abricot	1.67±0.03 <sup>(d)</sup>	7.94±1.33 <sup>(d)</sup>	30.00±1.47 <sup>(d)</sup>	75.76±2.00 <sup>(d)</sup>
Banane	9.20±0.87 <sup>(d)</sup>	5.48±0.38 <sup>(d)</sup>	52.30±3.01 <sup>(d)</sup>	45.15±5.21 <sup>(d)</sup>
Dates " Deglat-Nour"	3.72±0.08 <sup>(d)</sup>	2.04±0.04 <sup>(d)</sup>	108.53±15.98 <sup>(d)</sup>	15.93±2.19 <sup>(d)</sup>
Dates "Ghars"	4.15±0.13 <sup>(d)</sup>	1.60±0.07 <sup>(d)</sup>	31.73±0.54 <sup>(d)</sup>	13.58±0.08 <sup>(d)</sup>
Dates "Mech-Degla"	4.59±0.10 <sup>(d)</sup>	2.97±0.04 <sup>(d)</sup>	195.25±10.92 <sup>(d)</sup>	34.69±16.11 <sup>(d)</sup>
Grenade	0.32±0.01 <sup>(d)</sup>	2.78±0.36 <sup>(d)</sup>	9.58±0.22 <sup>(d)</sup>	42002±4.97 <sup>(d)</sup>
Mandarine	4.92±0.09 <sup>(d)</sup>	23.41±0.60 <sup>(d)</sup>	52.07±0.02 <sup>(d)</sup>	58.68±3.84 <sup>(d)</sup>
Néflier du Japon	0.95±0.02 <sup>(d)</sup>	18.81±0.06 <sup>(d)</sup>	18.43±0.34 <sup>(d)</sup>	61.01±0.80 <sup>(d)</sup>
Orange	2.48±0.04 <sup>(d)</sup>	6,66 ±0.18 <sup>(d)</sup>	23.64±2.18 <sup>(d)</sup>	53.18±5.50 <sup>(d)</sup>
Pêche	0.98±0.02 <sup>(d)</sup>	21,47±1.44 <sup>(d)</sup>	14.62±0.66 <sup>(c)</sup>	80.97±1.30 <sup>(d)</sup>
Poire	3.16±0.04 <sup>(d)</sup>	11.08±0.89 <sup>(d)</sup>	28.28±0.30 <sup>(d)</sup>	17.17±1.00 <sup>(d)</sup>
Pomme	1.65±0.04 <sup>(d)</sup>	9.18±0.11 <sup>(d)</sup>	19.68±0.48 <sup>(d)</sup>	13.38±0.31 <sup>(d)</sup>
Raisin (blanc)	1.40±0.11 <sup>(d)</sup>	1.07±0.08 <sup>(d)</sup>	16.12±2.54 <sup>(c)</sup>	22.32±2.59 <sup>(d)</sup>
Raisin (noir)	0.74±0.00 <sup>(d)</sup>	3.29±0.03 <sup>(d)</sup>	16.08±0.74 <sup>(c)</sup>	46.76±0.71 <sup>(d)</sup>
Rutine	0.0072±0.00 <sup>(d)</sup>			
EDTA		0,0064±0.00		
BHT			0.32±0.00	94.94±3.69
H <sub>2</sub> O				6,41±0.38
MeOH				9.59±0.74

Les résultats sont présentés en moyenne ±SD, n=3.

(a) : Différence non significative. (b): \* (P<0.05), (c):\*\* (P<0.01), (d): \*\*\* (P<0.001) par comparaison avec les standards

### 2.4.2. Activité chélatrice des ions ferreux

Les pourcentages de chélation des ions ferreux par rapport aux concentrations des extraits sont présentés dans l'**Annexe 2**.

Les légumes et les fruits peuvent être classés en trois groupes en fonction de leur activité chélatrice des ions du fer (haute, moyenne et faible capacité chélatrice).

Les légumes et les fruits ayant une activité chélatrice élevée comprennent la pomme de terre, la laitue, la carotte, la courgette, la citrouille, le navet, le concombre, le fenouil, le chou-fleur, le chou, l'artichaut, la corète, la fève et le pois vert avec une  $CI_{50} \leq 0.8 \text{ mg / ml}$ . Le piment, l'oignon, l'aubergine, le raisin blanc et les dattes "Ghars" montrent une  $CI_{50}$  entre 0.8 et 2 mg / ml. La tomate, la betterave, l'artichaut (tige), la poire, le raisin noir, la pomme, la grenade, la banane, la mandarine, l'orange, la pêche, le néflier du Japon, l'abricot, les dattes "Mech-Degla" et "Deglat-Nour" ont une faible activité chélatrice ( $CI_{50} \geq 2 \text{ mg / ml}$ ).

La  $CI_{50}$  de la fève et l'haricot vert est inférieure à celle trouvée par Chaurasia et Saxena (2014) (1.66 et 0.82 mg / ml respectivement pour la fève et l'haricot vert).

Gebhardt et Fausel (1997) ont mentionné que l'extrait d'artichaut a un potentiel antioxydant marqué qui peut être attribué à certains composés phénoliques et flavonoïdes.

### 2.4.3. Pouvoir réducteur du fer ferrique

Les valeurs du pouvoir réducteur du fer ferrique par rapport aux concentrations des extraits sont présentées dans l'**Annexe 2**.

De la même manière, les légumes et les fruits ont été classés en trois groupes en fonction de leur capacité réductrice (forte, moyenne, faible capacité de réduction).

---

Les extraits ayant une activité antioxydante élevée ( $CE_{50} \leq 5$  mg / ml) comprennent l'oignon, la pomme de terre, la courgette, la corète, la blette, l'haricot vert, la fève et le pois vert. La tomate, l'aubergine, la citrouille, le navet, le chou, l'artichaut (fleur), l'artichaut (tige) et la grenade ont une activité antioxydante moyenne avec une  $CE_{50}$  entre 5 et 10 mg / ml. Toutefois, les extraits à faible pouvoir réducteur ( $CE_{50} \geq 10$  mg / ml) comprennent le piment, la laitue, la carotte, la betterave, le concombre, le fenouil, le chou-fleur, la poire, le raisin noir, le raisin blanc, la pomme, la mandarine, l'orange, le néflier du Japon et les dattes.

Ces résultats obtenus sont d'accord avec d'autres rapports sur le pouvoir réducteur des plantes alimentaires (Pellegrini *et al.*, 2003). Les extraits alimentaires ont de différentes capacités antioxydantes selon la méthode appliquée. Ainsi, le même extrait réagit souvent différemment selon le test. De plus, la comparaison des valeurs obtenues à partir du même essai, avec les données de la littérature est difficile en raison de la grande variabilité des antioxydants au sein de l'aliment et le manque de la standardisation des méthodes d'analyse.

#### **2.4.4. Test de blanchissement de $\beta$ -carotène /acide linoléique**

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène des groupes diallyl méthylène de l'acide linoléique. Ces radicaux libres vont ensuite oxyder le  $\beta$ -carotène fortement insaturé, provoquant ainsi la disparition de sa couleur rouge, suivie par un spectrophotomètre à 490 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et empêcher ainsi l'oxydation et le blanchiment du  $\beta$ -carotène.

La diminution du pourcentage d'inhibition de l'oxydation de la  $\beta$ -carotène des extraits des fruits et légumes en fonction du temps est présentée dans **Annexe 3**.

Selon nos résultats, les fruits et légumes testés peuvent être classés en quatre groupes en fonction de leur activité antioxydante (élevée, moyenne, faible et très faible activité antioxydante).

Parmi les 22 extraits végétaux et 14 fruits testés pour leur inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique, 7 légumes et 2 fruits présentent une activité antioxydante élevée (> 70%) : la laitue, la courgette, l'artichaut (fleur), l'artichaut (tige), la corète, l'haricot vert, la fève, le pois vert, la pêche et l'abricot. Le groupe ayant une activité moyenne (50-70%) comporte le piment, la betterave, le chou, la blette, la mandarine, l'orange, la nêfle du Japon. Cependant, la tomate, l'oignon, l'aubergine, la pomme de terre, le concombre, le fenouil, le raisin noir, la grenade, la banane représentent le groupe ayant une faible activité antioxydante (40-50%). La carotte, la citrouille, le navet, la poire, le raisin blanc, la pomme et les dattes ont une activité antioxydante très faible (<40%).

La variation de l'activité antioxydante des légumes et des fruits dans cette étude est en accord avec les résultats de nombreuses études (Kaur et Kapoor, 2002, Gazzani *et al.*, 1998). Les valeurs du pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique sont proches de ceux de Kaur et Kapoor (2002).

Le pourcentage d'activité antioxydante du chou est similaire à celui rapporté par Ismail *et al.* (2004). De plus, Karadeniz *et al.* (2005) ont trouvé des résultats proches pour la poire, le raisin et la pomme. Mais, la grenade a montré une activité antioxydante inférieure (42,02%) que celle trouvée par Singh *et al.* (2002).

L'analyse statistique indique que les légumineuses (l'haricot vert, la fève et le pois vert) et la courgette ont une activité antioxydante significativement élevée (91,70%, 88,42%, 92,31%, 84,89%) par rapport au BHT comme un antioxydant de référence et les mêmes résultats ont été rapportés par Amarowicz et Pegg (2008).

---

Plusieurs études montrent une bonne corrélation entre la capacité antioxydante des fruits et légumes et leur teneur en composés phénoliques (Ou *et al.*, 2002 ; Stratil *et al.*, 2006 ; Xiao *et al.*, 2011). Cependant, d'autres études n'ont trouvé aucune corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits végétaux (Gazzani *et al.*, 1998; Kähkönen *et al.*, 1999 ; Ismail *et al.*, 2004 ; Maisarah *et al.*., 2013 ; Nur Arina et Azrina, 2016) et ceci peut être expliqué par le fait que l'activité antioxydante des composés phénoliques varie considérablement selon leur structure chimique (Satué-Gracia *et al.*, 1997). Ainsi, l'activité antioxydante d'un extrait dépend non seulement de sa teneur en composés phénoliques mais aussi de type de composés phénoliques et de leur distribution (Heinonen *et al.*, 1998) et les interactions entre les antioxydants (Freeman *et al.*, 2010).

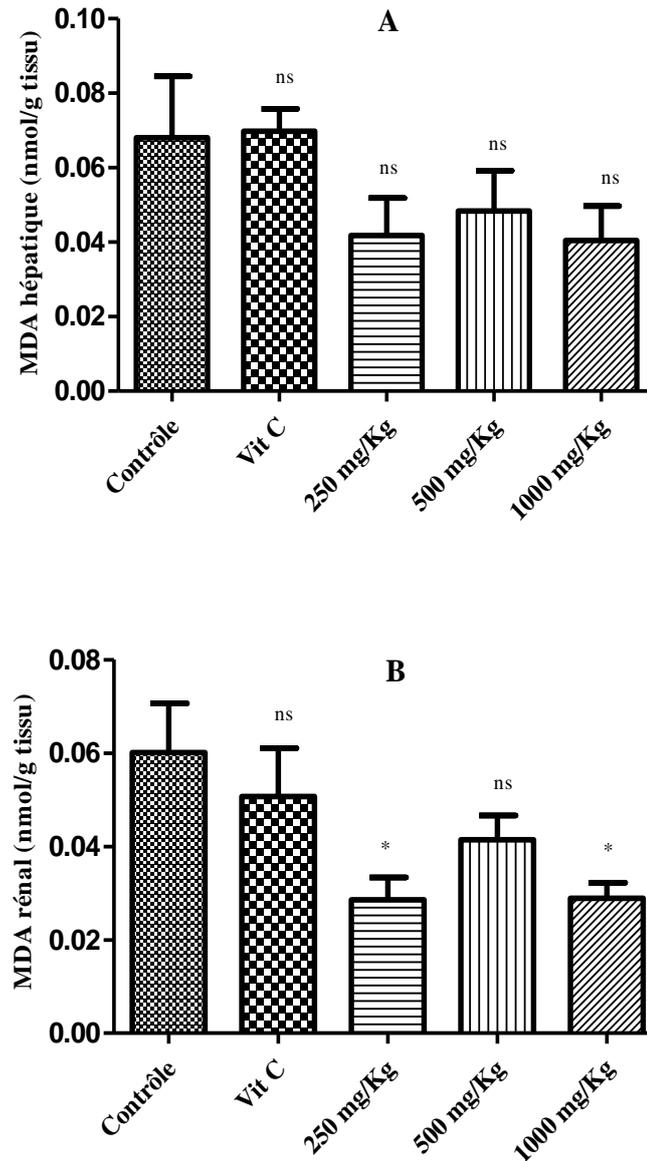
En outre, de nombreuses études ont montré que les fruits et les légumes cultivés dans les zones arides ont une teneur en polyphénols et une activité antioxydante élevées, ce qui s'explique par le fait que les fruits et les légumes augmentent leurs propriétés phytochimiques pour s'adapter au stress abiotique (Kumari *et al.*, 2017 ; Taghizadeh *et al.*, 2018).

### **2.5. Activité antioxydante *in vivo* des extraits des fruits et légumes**

Les marqueurs biologiques du stress oxydant permettent de mettre en évidence les dommages causés par les radicaux libres et l'état des systèmes de défense. Ces systèmes de défense sont enzymatiques comme l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) ou non enzymatiques comme les vitamines, les oligoéléments et les polyphénols.

#### **2.5.1. Effet des extraits sur la peroxydation lipidique**

La peroxydation lipidique a lieu principalement dans les acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires ou des lipoprotéines (LDL), elle entraîne la formation du malondialdéhyde (MDA).



**Figure 31 :** Effet de l'extrait de grenade sur la concentration du MDA dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001

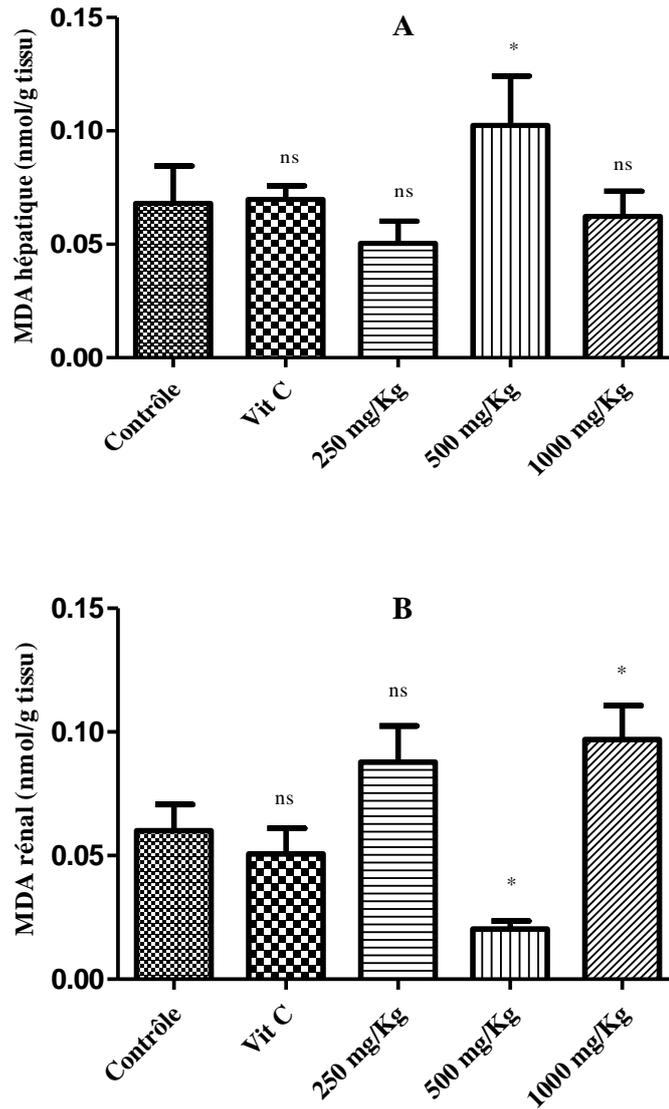
Dans ce travail on a déterminé le taux du MDA dans le foie et les reins des rats traités par les extraits de la grenade, la tomate, les dattes « Deglat-Nour » et le piment en comparaison avec un groupe contrôle et un groupe des rats traités par la vitamine C.

L'augmentation du taux du MDA indique l'augmentation de la peroxydation lipidique et les dommages au niveau du foie et des reins (Hamden, 2008).

L'évaluation de la peroxydation lipidique produite dans les cellules hépatiques et rénales a montré une génération variable du MDA dans les cellules hépatiques et rénales.

La **Figure 31** présente l'effet des extraits de grenade sur le taux du MDA dans le foie et les reins des rats. Par rapport au groupe contrôle, les résultats montrent que la grenade diminue significativement la concentration du MDA dans les reins d'une valeur égale à -53 % pour les doses 250 et 1000 mg/kg et -31% pour la dose 500 mg/kg. Cependant il n'a pas d'effet significatif sur le taux du MDA dans le foie.

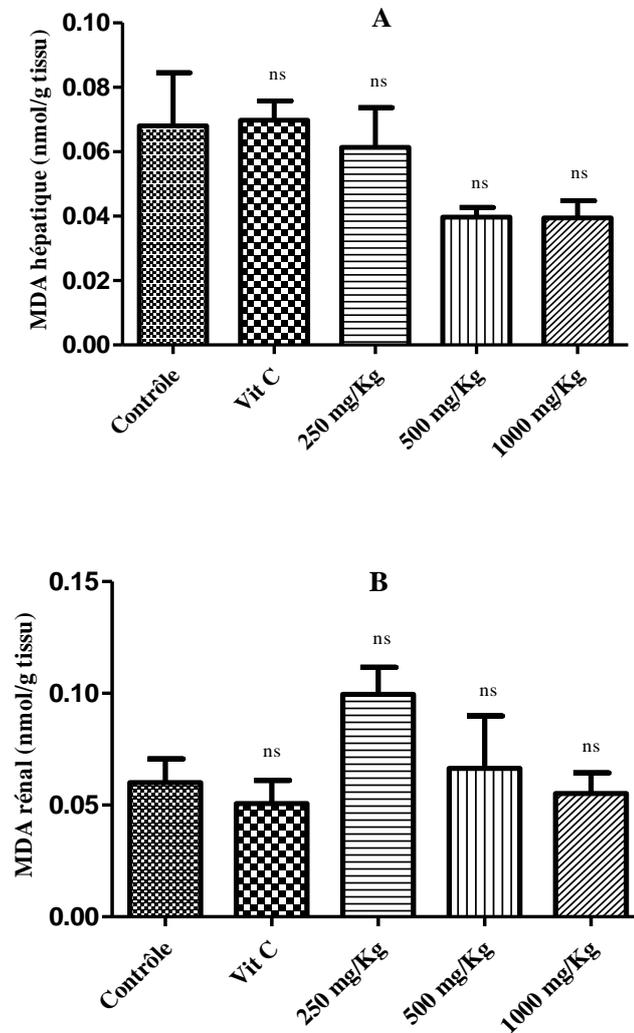
La comparaison avec le groupe traité par la vitamine C montre que la grenade diminue le taux du MDA au niveau du foie par un pourcentage égal à - 40 %, - 30% et - 42% pour les doses 250, 500 et 1000 mg/kg. Au niveau des reins les diminutions du MDA sont de - 44%, -18 % et - 44% pour les doses 250,500 et 1000 mg/kg.



**Figure 32 :** Effet de l'extrait de la tomate sur la concentration du MDA dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$

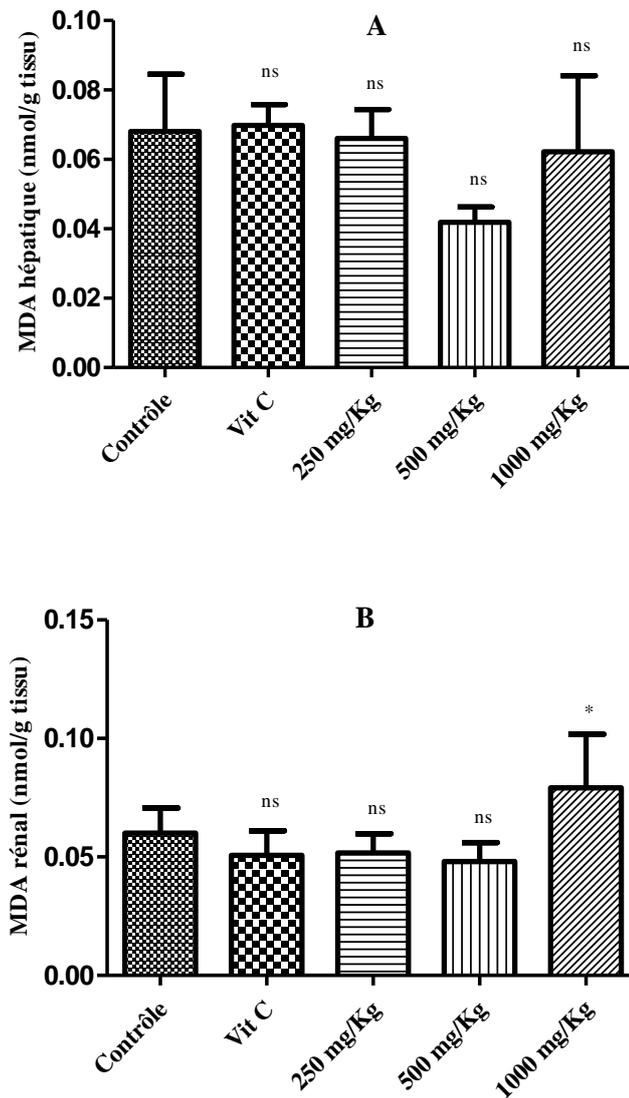
La comparaison avec le groupe contrôle montre que la tomate à 500 mg/kg diminue significativement la concentration du MDA (- 67%) dans les reins, mais elle n'a pas d'effet significatif au niveau du foie.

Par comparaison avec le groupe traité par la vitamine C, on observe une diminution du taux du MDA dans le foie (-27% et -10 %) pour les doses 250 et 1000 mg/kg. Au niveau des reins, la diminution du MDA est de - 60% pour la dose 500 mg/kg (**Figure 32**).



**Figure 33 :** Effet de l'extrait des dattes « Deglat-Nour » sur le taux du MDA dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$

Les dattes « Deglat-Nour » n'ont pas d'effet significatif sur le taux du MDA dans le foie et les reins par comparaison avec le groupe contrôle. Par comparaison avec la vit C on remarque une diminution du taux du MDA dans le foie (-11% et -43% nmol/ g de tissu) (**Figure 33**).



**Figure 34 :** Effet de l'extrait du piment sur le taux du MDA dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$

Le piment n'a pas d'effet significatif sur le taux du MDA dans le foie et les reins par comparaison avec le groupe contrôle (**Figure 34**).

Des hyperperoxydations observées qui pourraient être le résultat d'une modification importante du statut redox cellulaire dans le foie et les reins en faveur des prooxydants.

Au niveau du foie, le groupe des rats traités par les extraits des dattes « Deglat-Nour », la grenade et le piment présentent le taux du MDA le plus faible (0.039, 0.04 et 0.041 nmol/ g de tissu) suivis par la tomate (0.05 nmol/ g de tissu).

Au niveau des reins, le groupe des rats traités par les extraits de la tomate et la grenade présente le taux du MDA le plus faible (0.02 et 0.028 nmol/ g de tissu) suivis le piment et les dattes « Deglat-Nour » (0.048 et 0.055 nmol/ g de tissu).

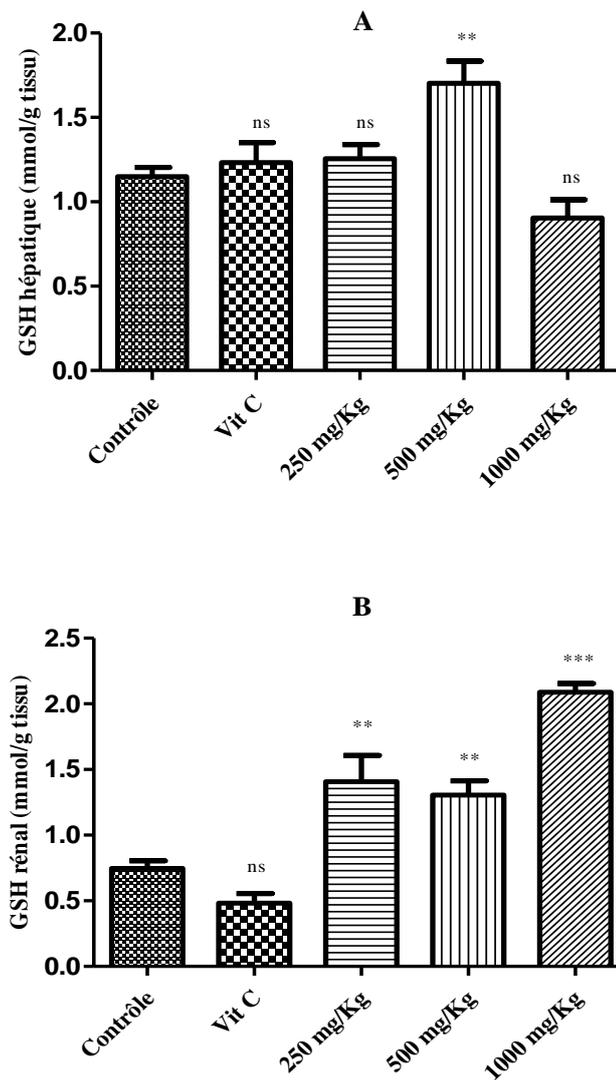
Ces résultats observés peuvent être dus aux polyphénols. De nombreuses études *in vivo* suggèrent que les extraits riches en polyphénols et en flavonoïdes présentent une capacité antioxydante en affectant la production de radicaux libres et la peroxydation lipidique. En effet, les antioxydants peuvent retarder ou empêcher l'oxydation des lipides en inhibant l'initiation ou la propagation de réactions d'oxydation (Wang et Chen, 2010 ; Jiang *et al.*, 2011).

Une amélioration du potentiel antioxydant a été trouvée après l'administration des aliments riches en polyphénols qui ont un effet sur la réduction des niveaux des TBARS (Bernabé *et al.*, 2013; Boaventura *et al.*, 2013; Athiroh *et al.*, 2014; Kardum *et al.*, 2014).

La différence dans l'inhibition de la peroxydation lipidique des extraits de fruits et légumes sélectionnés peuvent être attribués à leur composition en polyphénols (Bonarska-Kujawa *et al.*, 2011). La structure chimique des composés phénoliques affecte l'activité antioxydante tels que la glycosylation entraîne une diminution de l'activité antioxydante, probablement en raison de sa faible liaison aux membranes biologiques (Kardum *et al.*, 2014).

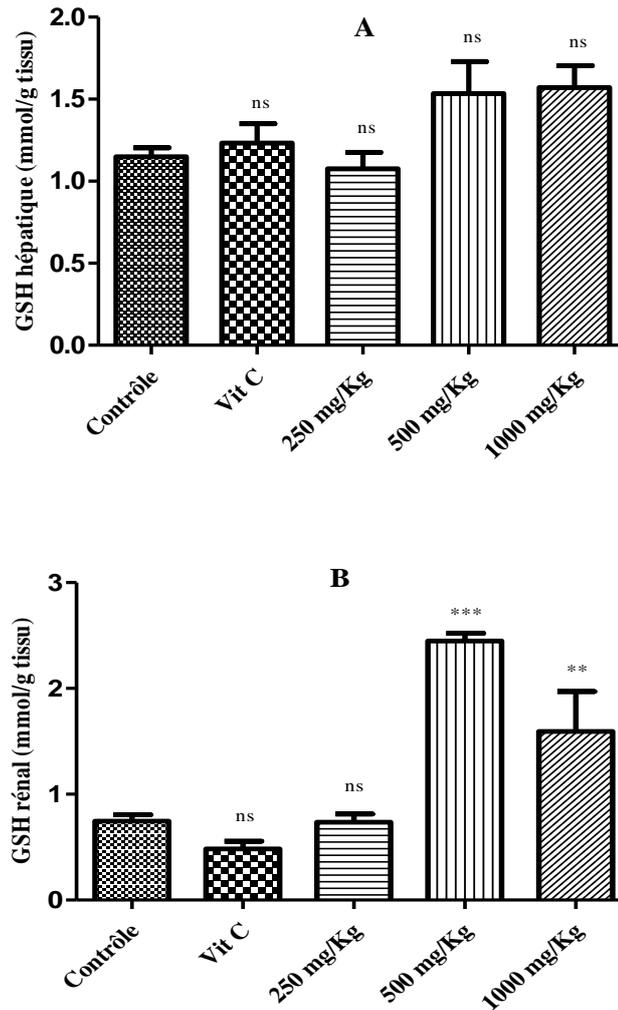
2.5.2. Effet des extraits sur le taux de glutathion réduit GSH

Le glutathion est un pseudo-tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine. Il intervient dans le maintien du potentiel redox du cytoplasme et dans un certain nombre des réactions de détoxification et d'élimination d'espèces réactives de l'oxygène.



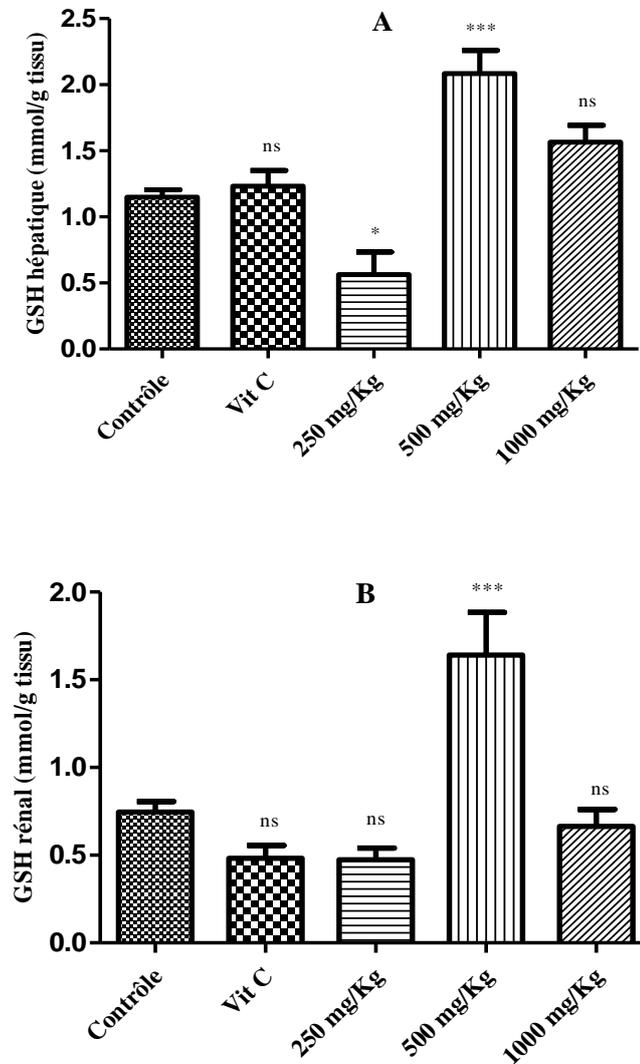
**Figure 35 :** Effet de l'extrait de la grenade sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$

La comparaison de l'effet des extraits sur le taux de glutathion réduit GSH avec le groupe contrôle montre que la grenade augmente significativement le taux du GSH dans le foie (+49% pour la dose de 500 mg/kg) et dans les reins (+89, +75 et +181 % pour les doses 250, 500 et 1000 mg/kg) (**Figure 35**).



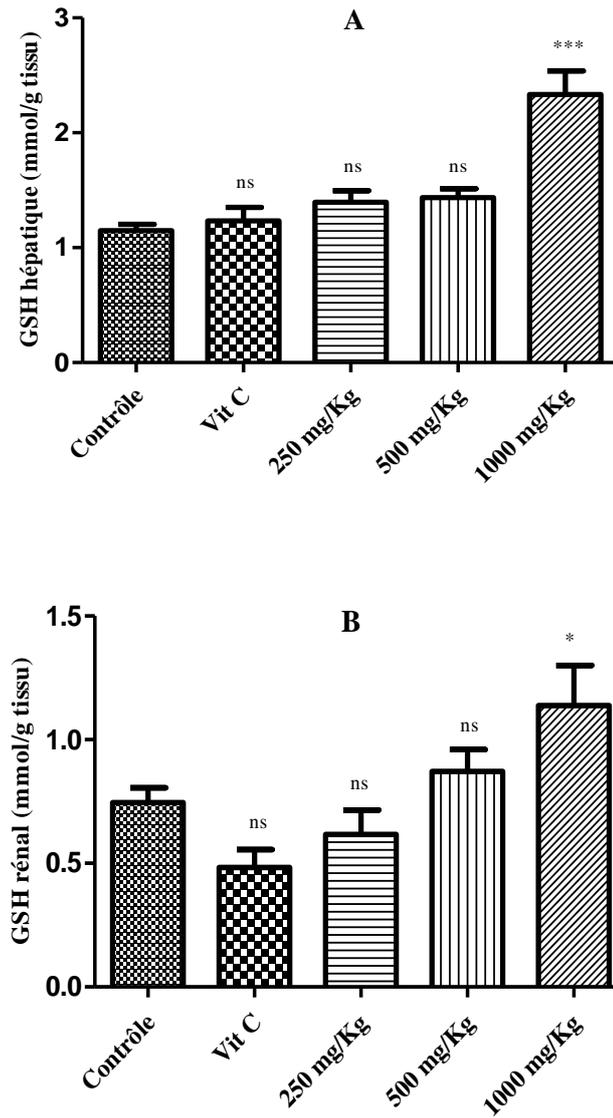
**Figure 36 :** Effet de l'extrait de la tomate sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001

La tomate augmente significativement le taux de glutathion réduit GSH dans les reins (+229 % et + 114 % par les doses 500 et 1000 mg/kg respectivement) (**Figure 36**).



**Figure 37** : Effet de l'extrait des dattes « Deglat-Nour » sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001

Les dattes « Deglat-Nour » à 500 mg/kg ont un effet très significatif sur l'augmentation de taux du GSH par une valeur égale à +82 % et +121 % dans le foie et les reins (**Figure 37**).



**Figure 38 :** Effet de l'extrait de piment sur le taux de glutathion réduit GSH dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$

Le piment à 1000 mg/kg augmente significativement le taux de glutathion réduits GSH (+104% et +52%) dans le foie et les reins respectivement (**Figure 38**).

Au niveau du foie, le groupe des rats traités par l'extrait de piment présente le taux du glutathion réduit GSH le plus élevé (2.33 mmol/g tissu), suivi par les dattes (2.08 mmol/g tissu), la grenade (1.70 mmol/g tissu) et la tomate (1.57 mmol/g tissu).

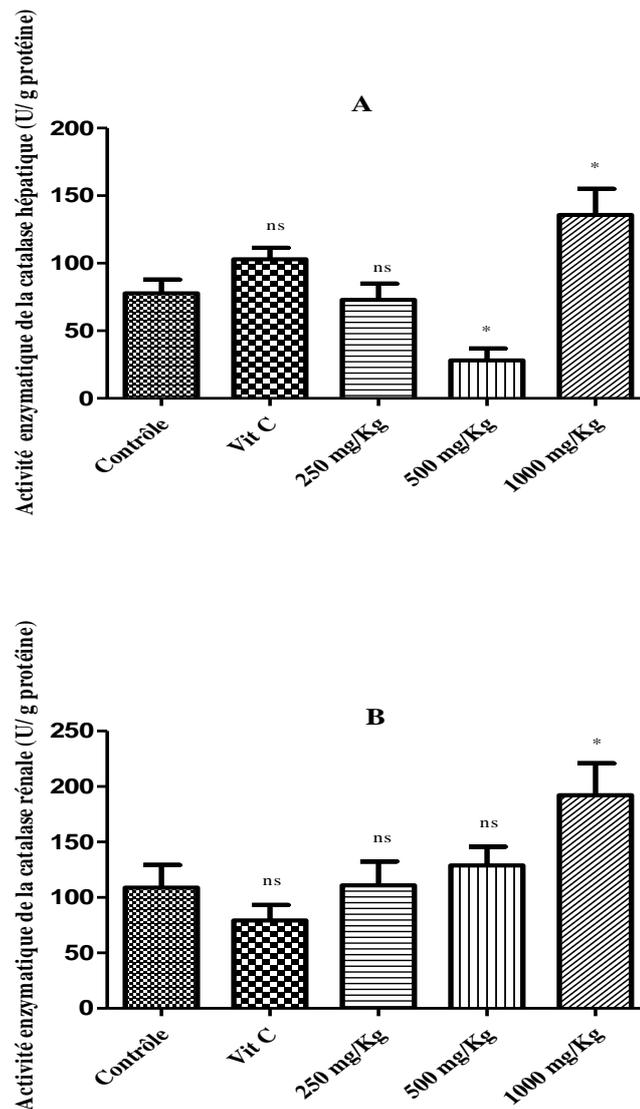
Au niveau des reins, le groupe des rats traités par l'extrait de la tomate (2.44 mmol/g tissu) présente le taux du glutathion réduit GSH le plus élevé, suivi par la grenade (2.08 mmol/g tissu), les dattes « Deglat-Nour » (1.64 mmol/g tissu) et le piment (1.13 mmol/g tissu).

Le système antioxydant GSH joue un rôle fondamental dans la défense cellulaire contre les radicaux libres. Ce système se compose du glutathion réduit GSH et d'autres enzymes, dont la glutathion réductase GR est responsable de la régénération du GSH, alors que la glutathion peroxydase GPx et la Glutathion S-transférase GST travaillent ensemble avec le GSH pour la décomposition du peroxyde d'hydrogène, les anions superoxydes (Srivastava et Shivanandappa, 2010 ; Huo *et al.*, 2011; Lavie, 2015). Des études montrent que la diminution du niveau de GSH est associée à une augmentation de la peroxydation des lipides (Akilavalli *et al.*, 2011 ; Kaushik *et al.*, 2011 ; Nasir *et al.*, 2013).

Plusieurs études montrent que les extraits des aliments riches en polyphénols et en flavonoïdes augmentent le GSH (Wang et Chen, 2010 ; Srivastava et Shivanandappa, 2010 ; Singh *et al.*, 2014). En outre, l'augmentation des niveaux de GSH pourrait être due à la synthèse ou la régénération du GSH et l'activation de la glutathion réductase (Nasir *et al.*, 2013).

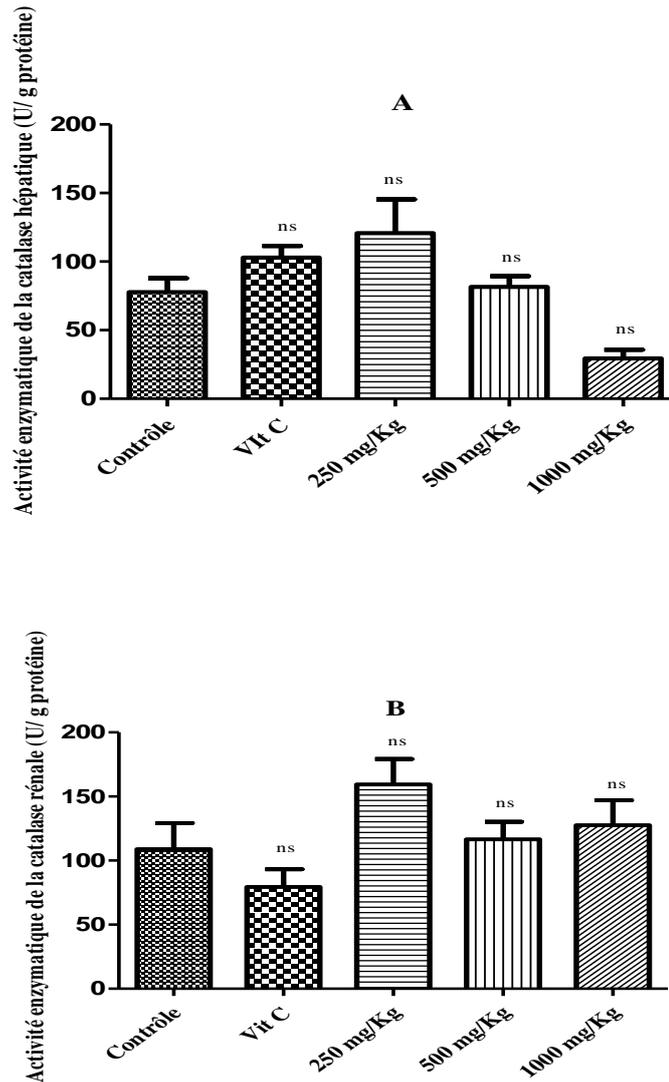
2.5.3. Effet des extraits sur l'activité enzymatique de la catalase

Les antioxydants endogènes comme la SOD détoxifie le radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et la catalase convertit ce produit en eau et oxygène moléculaire.

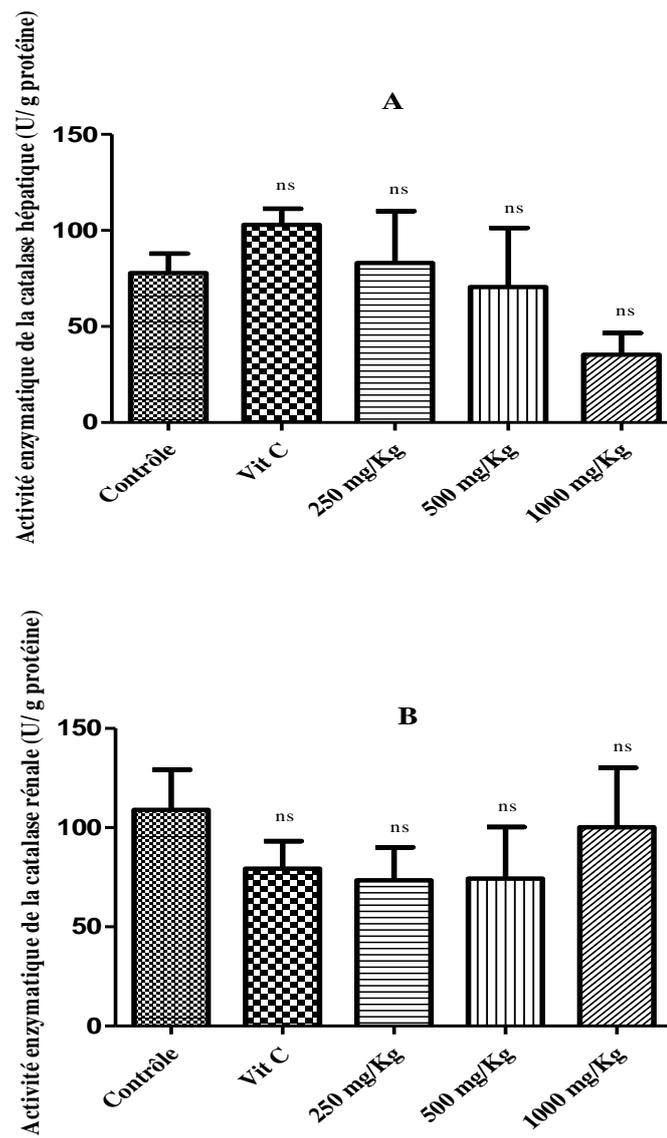


**Figure 39 :** Effet de l'extrait de la grenade sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001

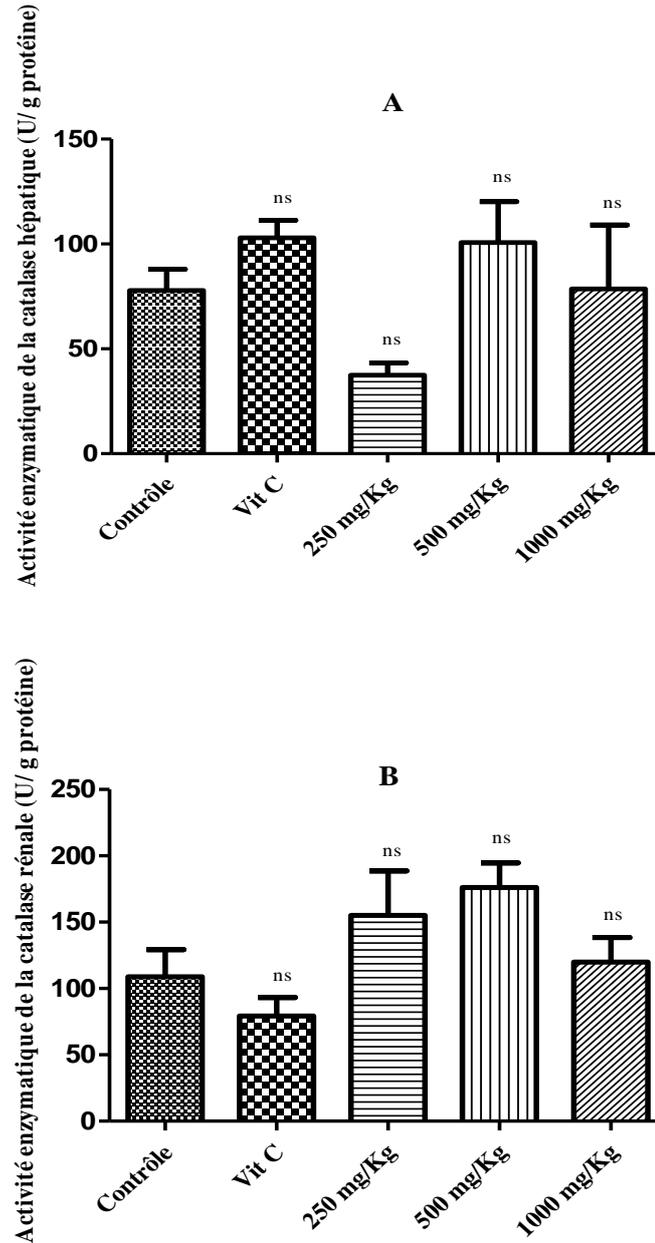
Les résultats montrent que l'extrait de la grenade à une dose de 1000 mg/kg augmente significativement l'activité du catalase (+74% qui égale à 135,76 U/g de protéines) dans le foie et dans les reins (+81% qui est égale à 192,16 U/g de protéines) par comparaison avec le groupe contrôle qui a une activité enzymatique égale à 77,79 et 108,92 U/g de protéines dans le foie et les reins respectivement) (Figure 39).



**Figure 40 :** Effet de l'extrait de tomate sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$



**Figure 41** : Effet de l'extrait des dattes « Deglat-Nour » sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$



**Figure 42 :** Effet de l'extrait de piment sur l'activité enzymatique de la catalase dans le foie (A) et les reins (B), les valeurs sont présentées comme moyenne  $\pm$  SEM (n=6), ns : Différence non significative, \* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$

La tomate (**Figure 40**), les dattes « Deglat-Nour » (**Figure 41**) et le piment (**Figure 42**) n'ont pas d'effet significatif sur l'activité enzymatique de la catalase.

Au niveau du foie, le groupe des rats traités par l'extrait de grenade (135.762 U/g de protéine) présente l'activité enzymatique de la catalase la plus élevée suivi par la tomate (120.66 U/g de protéine), le piment (100.65 U/g de protéine) et les dattes (83.04 U/g de protéine).

Au niveau des reins, le groupe des rats traités par l'extrait de grenade (192.16 U/g de protéine) présente l'activité enzymatique de la catalase la plus élevée suivi par le piment (176.13 U/g de protéine), la tomate (159.45 U/g de protéine) et les dattes « Deglat-Nour » (100.22 U/g de protéine).

Dans la présente étude, l'augmentation de l'activité de la catalase observée après l'administration de l'extrait de grenade peut être due à la teneur élevée et la composition en polyphénols dans cet extrait.

Des études similaires ont montré un effet positif de différentes classes de polyphénols sur les activités enzymatiques des enzymes antioxydantes (SOD, CAT et GPx) (Feng *et al.*, 2010; Srivastava et Shivanandappa, 2010; Kim *et al.*, 2013, Avila-Nava *et al.*, 2014; Kardum *et al.*, 2014 ; Khan *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015).

Les mécanismes de l'activation des enzymes antioxydantes par les polyphénols ne sont pas entièrement compris, mais un certain nombre d'études ont également indiqué une association entre polyphénols et l'expression d'une enzyme antioxydante par l'activation des facteurs nucléaires comme le facteur : nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) (Mitjavila et Moreno, 2012; Oliveras-López *et al.*, 2014; Nakayama *et al.*, 2015).

Les mécanismes par lesquels les polyphénols peuvent avoir des effets protecteurs sur la santé via une action antioxydante ne sont toutefois pas très clairs et cela en raison de la relative faible biodisponibilité de ces molécules (Pincemail *et al.*, 2007).

## Conclusion générale et perspectives

Les aliments d'origine végétale contiennent plusieurs métabolites secondaires tels que les polyphénols qui jouent un rôle important dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies associées au stress oxydatif comme le cancer, les maladies neurodégénératives, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement.

La lutte contre ces phénomènes oxydatifs délétères semble primordiale, diverses stratégies sont envisagées pour lutter contre le développement du stress oxydatif, on peut citer le rééquilibrage alimentaire associé aux exercices physiques et la thérapie antioxydante par les suppléments alimentaires qui de leur composition chimique procurent un bénéfice de santé au consommateur. Cette étude s'est ainsi intéressée aux aliments d'origine végétale notamment les fruits et les légumes susceptibles de contribuer à l'amélioration du statut oxydatif.

Cette thèse a permis d'aborder la problématique de l'activité antioxydante des aliments sous 3 volets : le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les extraits de 36 fruits et légumes, l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de 36 fruits et légumes in vitro et l'évaluation de l'activité antioxydante in vivo des extraits de 4 fruits et légumes choisis.

Les fruits et les légumes renferment une richesse en polyphénols notamment la fève, le chou-fleur, la laitue et l'aubergine, la corète et la grenade, ce qui en renforce leur intérêt pour la prévention des diverses pathologies.

L'étude de l'activité antioxydante in vitro des fruits et légumes confirme que l'haricot vert, le pois vert, la courgette, la laitue et la corète ont une forte activité antioxydante par toutes les méthodes utilisées. En plus de ces échantillons, la blette, l'artichaut (fleur), l'aubergine, le raisin noir et la grenade ont l'activité antiradicalaire la plus élevée vis-à-vis le radical DPPH.

Cependant, la fève, la pomme de terre, la carotte, la citrouille, le navet, le concombre, le chou - fleur, l'artichaut (fleur), le chou et la blette ont l'activité chélatrice des métaux la plus forte. L'oignon, la pomme de terre, la fève et la blette ont le pouvoir réducteur du fer le plus élevé.

De plus, la fève, le chou-fleur, l'artichaut (tige), la pêche et l'abricot ont une activité antioxydante élevée par la méthode de blanchissement du  $\beta$ -carotène.

Les différentes méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* permettent une évaluation optimale et ciblée du potentiel antioxydant. Elles confirment que les molécules qui constituent les extraits des fruits et les légumes pouvant être de structures très différentes, n'agissent pas de la même manière pour l'ensemble de radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote.

L'étude *in vivo* de l'effet des extraits de la grenade, la tomate, les dattes « Deglat-Nour » et de piment sur les marqueurs du stress oxydants dans le foie et les reins des rats a révélé une réelle action préventive surtout de la grenade en diminuant la peroxydation lipidique et en augmentant le glutathion réduit et l'activité enzymatique de la catalase. Aussi les dattes « Deglat-Nour », le piment et la tomate révèlent un effet bénéfique en augmentant le taux du glutathion réduit.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante des fruits et légumes peuvent être considérés comme suffisants pour de nouvelles études visant à identifier les molécules responsables de cet effet antioxydant.

Il est à envisager l'étude de l'effet de la cuisson et la conservation des aliments sur l'activité antioxydante.

Il est aussi intéressant d'étudier l'activité antioxydante cellulaire et la biodisponibilité des molécules actives des extraits de fruits et légumes.

## Références bibliographiques

- Akilavalli, N., Radhika, J., & Brindha, P. (2011). Hepatoprotective activity of *Ocimum sanctum* Linn. against lead induced toxicity in albino rats. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 4(2), 84-87.
- Al Ghouleh, I., Khoo, N. K., Knaus, U. G., Griendling, K. K., Touyz, R. M., Thannickal, V. J., Barchowsky, A., Nausee, W.M., Kelley, E. E., Bauer, P.M., Darley-Usmar, V., Shiva, S., Cifuentes-Pagano, E., Freeman, B.A., Gladwin, M.T., & Pagano, P.J. (2011). Oxidases and peroxidases in cardiovascular and lung disease: new concepts in reactive oxygen species signaling. *Free radical biology and medicine*, 51(7), 1271-1288.
- Alfonso-Prieto, M., Biarnés, X., Vidossich, P., & Rovira, C. (2009). The molecular mechanism of the catalase reaction. *Journal of the American chemical society*, 131(33), 11751-11761.
- Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2008). Legumes as a source of natural antioxidants. *European journal of lipid science and technology*, 110(10), 865-878.
- Anahita, A., Asmah, R., & Fauziah, O. (2015). Evaluation of total phenolic content, total antioxidant activity, and antioxidant vitamin composition of pomegranate seed and juice. *International food research journal*, 22(3), 1212-1217.
- Araujo, A. R., Saraiva, M. L. M., & Lima, J. L. (2008). Determination of total and oxidized glutathione in human whole blood with a sequential injection analysis system. *Talanta*, 74(5), 1511-1519.
- Athiroh, N., Permatasari, N., Sargowo, D., & Widodo, M. A. (2014). Antioxidative and blood pressure-lowering effects of *Scurrula atropurpurea* on deoxycorticosterone acetate–salt hypertensive rats. *Biomarkers and genomic medicine*, 6(1), 32-36.

- Atmaca, G. (2004). Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei medical journal*, 45, 776-788.
- Avila-Nava, A., Calderón-Oliver, M., Medina-Campos, O. N., Zou, T., Gu, L., Torres, N., Tovar, A. R., & Pedraza-Chaverri, J. (2014). Extract of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes scavenges reactive oxygen species in vitro and enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of functional foods*, 10, 13-24.
- Babior, B. M., Lambeth, J. D., & Nauseef, W. (2002). The neutrophil NADPH oxidase. *Archives of biochemistry and biophysics*, 397(2), 342-344.
- Baginsky, C., Peña-Neira, Á., Cáceres, A., Hernández, T., Estrella, I., Morales, H., & Pertuzé, R. (2013). Phenolic compound composition in immature seeds of fava bean (*Vicia faba* L.) varieties cultivated in Chile. *Journal of food composition and analysis*, 31(1), 1-6.
- Baljeet, S. Y., Roshanlal, Y., & Ritika, B. Y. (2016). Effect of cooking methods and extraction solvents on the antioxidant activity of summer squash (*Cucurbita pepo*) vegetable extracts. *International food research journal*, 23(4), 1531-1540.
- Ball, G. F. (2006). Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability. Piotr Tomasik, CRC Press, Boca Raton London New York Washington, D.C, pp: 03-305.
- Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on toxicology*, 9(1), 5-21.
- Bastos, A. S., de Melo Loureiro, A. P., De Oliveira, T. F., Corbi, S. C. T., Caminaga, R. M. S., Júnior, C. R., & Orrico, S. R. (2012). Quantitation of malondialdehyde in gingival crevicular fluid by a high-performance liquid chromatography-based method. *Analytical biochemistry*, 423(1), 141-146.

- Bate-Smith, E. C. (1973). Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency. *Phytochemistry*, 12(4), 907-912.
- Beckman, K. B., & Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological reviews*, 78(2), 547-581.
- Bernabé, J., Mulero, J., Cerdá, B., García-Viguera, C., Moreno, D. A., Parra, S., Avilés, F., Gil-Izquierdo, A., Abellan, J., & Zafrilla, P. (2013). Effects of a citrus based juice on biomarkers of oxidative stress in metabolic syndrome patients. *Journal of functional foods*, 5(3), 1031-1038.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5(1), 9-19.
- Boaventura, B. C. B., Di Pietro, P. F., Klein, G. A., Stefanuto, A., de Moraes, E. C., de Andrade, F., Wazlawik, E., & da Silva, E. L. (2013). Antioxidant potential of mate tea (*Ilex paraguariensis*) in type 2 diabetic mellitus and pre-diabetic individuals. *Journal of functional foods*, 5(3), 1057-1064.
- Bonarska-Kujawa, D., Pruchnik, H., Oszmiański, J., Sarapuk, J., & Kleszczyńska, H. (2011). Changes caused by fruit extracts in the lipid phase of biological and model membranes. *Food biophysics*, 6(1), 58-67.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and technology*, 28(1), 25-30.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.

- Brown, J. E., Khodr, H., Hider, R. C., & Rice-Evans, C. A. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with  $\text{Cu}^{2+}$  ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical journal*, 330(Pt 3), 1173–1178.
- Brunneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie : Plantes médicinales, 4<sup>ème</sup> édition, Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, pp : 259-547.
- Buettner, G. R. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. *Archives of biochemistry and biophysics*, 300(2), 535-543.
- Cadet, J., Bellon, S., Berger, M., Bourdat, A. G., Douki, T., Duarte, V., Sandrine Frelon, S., Gasparutto, D., Muller, E., Jean-Luc Ravanat J.L., & Sauvaigo, S. (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biological chemistry*, 383(6), 933-943.
- Cash, T. P., Pan, Y., & Simon, M. C. (2007). Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free radical biology and medicine*, 43(9), 1219-1225.
- Chaurasia, S., & Saxena, R. (2014). Evaluation of total phenol and flavonoid content, antioxidant and Iron chelation activities of ethanolic extracts of green beans. *American journal of pharma tech research*, 4(3), 615-624.
- Chiarugi, P., & Fiaschi, T. (2007). Redox signalling in anchorage-dependent cell growth. *Cellular signalling*, 19(4), 672-682.
- Chuah, A. M., Lee, Y. C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L. J., & Matoba, T. (2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food chemistry*, 111(1), 20-28.
- Cieřlik, E., Gręda, A., & Adamus, W. (2006). Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food chemistry*, 94(1), 135-142.

- Cohen, G., Dembiec, D., & Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analytical biochemistry*, 34(1), 30-38.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A. J., & Berghe, D. V. (1998). Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of natural products*, 61(1), 71-76.
- Dangles, O., & Dufour, C. (2006). In *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*, Eds O. Andersen and K. Markham, CRC Press, Boca Raton., pp: 443-469
- Del Río, L. A., Palma, J. M., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Pastori, G. M., Bueno, P., & López-Huertas, E. (1996). Peroxisomes as a source of superoxide and hydrogen peroxide in stressed plants. *Biochemical society transactions*, 24(2), 434-438
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- Dos Reis, L. C. R., de Oliveira, V. R., Hagen, M. E. K., Jablonski, A., Flôres, S. H., & de Oliveira Rios, A. (2015). Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. *Avenger*) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. *Alphina F1*). *LWT-Food science and technology*, 63(1), 177-183.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

- Dugas, A. J., Castañeda-Acosta, J., Bonin, G. C., Price, K. L., Fischer, N. H., & Winston, G. W. (2000). Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: structure– activity relationships. *Journal of natural products*, 63(3), 327-331.
- Duthie, G., & Crozier, A. (2000). Plant-derived phenolic antioxidants. *Current opinion in lipidology*, 11(1), 43-47.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82(1), 70-77.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24(10), 851-874.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free radical biology and medicine*, 13(4), 341-390.
- Faller, A. L. K., & Fialho, E. (2009). The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food research international*, 42(1), 210-215.
- Farkas, O., Jakus, J., & Héberger, K. (2004). Quantitative structure–antioxidant activity relationships of flavonoid compounds. *Molecules*, 9(12), 1079-1088.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Feng, L., Jia, X., Zhu, M. M., Chen, Y., & Shi, F. (2010). Antioxidant activities of total phenols of *Prunella vulgaris* L. in vitro and in tumor-bearing mice. *Molecules*, 15(12), 9145-9156.

- Fraga, C. G., Galleano, M., Verstraeten, S. V., & Oteiza, P. I. (2010). Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. *Molecular aspects of medicine*, 31(6), 435-445.
- Freeman, B. L., Eggett, D. L., & Parker, T. L. (2010). Synergistic and antagonistic interactions of phenolic compounds found in navel oranges. *Journal of food science*, 75(6), C570-C576.
- Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G., & Daglia, M. (1998). Anti-and prooxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4118-4122.
- Gebhardt, R., & Fausel, M. (1997). Antioxidant and hepatoprotective effects of artichoke extracts and constituents in cultured rat hepatocytes. *Toxicology in vitro*, 11(5), 669-672.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of biological chemistry*, 177(2), 751-766.
- Ha, T. J., Nihei, K. I., & Kubo, I. (2004). Lipoygenase inhibitory activity of octyl gallate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(10), 3177-3181.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free radical research*, 31(4), 261-272.

- Hamden, K., Ayadi, F., Jamoussi, K., Masmoudi, H., & Elfeki, A. (2008). Therapeutic effect of phytoecdysteroids rich extract from *Ajuga iva* on alloxan induced diabetic rats liver, kidney and pancreas. *Biofactors*, 33(3), 165-175.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., & Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free radical biology and medicine*, 16(6), 845-850.
- Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural products*, 59(2), 205-215.
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- Heinonen, I. M., Lehtonen, P. J., & Hopia, A. I. (1998). Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(1), 25-31.
- Hernández-Ledesma, B., Davalos, A., Bartolome, B., & Amigo, L. (2005). Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(3), 588-593.
- Hertog, M. G., Hollman, P. C., & Katan, M. B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(12), 2379-2383.
- Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Brunton, N. P. (2010). Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food chemistry*, 123(1), 85-91.

- Huo, H. Z., Wang, B., Liang, Y. K., Bao, Y. Y., & Gu, Y. (2011). Hepatoprotective and antioxidant effects of licorice extract against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative damage in rats. *International journal of molecular sciences*, 12(10), 6529-6543.
- Ismail, A., Marjan, Z. M., & Foong, C. W. (2004). Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food chemistry*, 87(4), 581-586.
- Iswaldi, I., Gómez-Caravaca, A. M., Lozano-Sánchez, J., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Profiling of phenolic and other polar compounds in zucchini (*Cucurbita pepo* L.) by reverse-phase high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Food research international*, 50(1), 77-84.
- Jiang, M. Z., Yan, H., Wen, Y., & Li, X. M. (2011). In vitro and in vivo studies of antioxidant activities of flavonoids from *Adiantum capillus-veneris* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5 (18), 2079-2085.
- Jiménez- Monreal, A. M., García- Diz, L., Martínez- Tomé, M., Mariscal, M. M. M. A., et Murcia, M. A. (2009). Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *Journal of food science*, 74(3), 97-103.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N., & Soyer, Y. (2005). Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish journal of agriculture and forestry*, 29(4), 297-303.

- Kardum, N., Takić, M., Šavikin, K., Zec, M., Zdunić, G., Spasić, S., & Konić-Ristić, A. (2014). Effects of polyphenol-rich chokeberry juice on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in healthy women. *Journal of functional foods*, 9, 89-97.
- Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food chemistry*, 100(2), 584-589.
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International journal of food science and technology*, 37(2), 153-161.
- Kaushik, P., Kaushik, D., & Khokra, S. L. (2011). In vivo antioxidant activity of plant *Abutilon indicum*. *Journal of pharmaceutical education and research*, 2(1), 50.
- Khan, I. T., Nadeem, M., Imran, M., Ayaz, M., Ajmal, M., Ellahi, M. Y., & Khalique, A. (2017). Antioxidant capacity and fatty acids characterization of heat treated cow and buffalo milk. *Lipids in health and disease*, 16(1), 163.
- Khan, I., Yousif, A. M., Johnson, S. K., & Gamlath, S. (2015). Acute effect of sorghum flour-containing pasta on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and oxidative stress markers in healthy subjects: A randomised controlled trial. *Clinical nutrition*, 34(3), 415-421.
- Kim, Y. S., Hwang, J. W., Kang, S. H., Kim, H. R., Je, J. Y., Kim, E. H., Jeon, Y. J., Moon, S. H., Jeon, B.T., & Park, P. J. (2013). Protective effects of *Cornus walteri* W. extracts on t-BHP-induced cell damage through antioxidant activity. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 18(4), 819-826.

- Kohen, K., & Nyska, A. (2002). Oxidation of biological system: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and method for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30, 620-650.
- Kubo, I., Masuoka, N., Xiao, P., & Haraguchi, H. (2002). Antioxidant activity of dodecyl gallate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(12), 3533-3539.
- Landete, J. M. (2013). Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(7), 706-721.
- Lapidot, T., Harel, S., Granit, R., & Kanner, J. (1998). Bioavailability of red wine anthocyanins as detected in human urine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4297-4302.
- Lavie, L. (2015). Oxidative stress in obstructive sleep apnea and intermittent hypoxia—revisited—the bad ugly and good: implications to the heart and brain. *Sleep medicine reviews*, 20, 27-45.
- Le, K., Chiu, F., & Ng, K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food chemistry*, 105(1), 353-363.
- Leung, F. Y. (1998). Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. *The Journal of nutritional biochemistry*, 9(6), 304-307.
- Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- Liu, X., Ardo, S., Bunning, M., Parry, J., Zhou, K., Stushnoff, C., Stoniker, F., Yu, L., & Kendall, P. (2007). Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. *LWT-Food science and technology*, 40(3), 552-557.

- Maiani, G., Periago Castón, M. J., Catasta, G., Toti, E., Cambrodón, I. G., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., & Böhm, V. (2009). Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular nutrition and food research*, 53, S194-S218.
- Maisarah, A. M., Nurul Amira, B., Asmah, R., & Fauziah, O. (2013). Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*. *International food research journal*, 20(3), 1043-1048.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- Martinez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(3), 147-161.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.
- McGhie, T. K., & Walton, M. C. (2007). The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. *Molecular nutrition and food research*, 51(6), 702-713.
- Mitjavila, M. T., & Moreno, J. J. (2012). The effects of polyphenols on oxidative stress and the arachidonic acid cascade. Implications for the prevention/treatment of high prevalence diseases. *Biochemical pharmacology*, 84(9), 1113-1122.

- Mokhtar, M., Soukup, J., Donato, P., Cacciola, F., Dugo, P., Riazi, A., Jandera, P., & Mondello, L. (2015). Determination of the polyphenolic content of a *Capsicum annuum* L. extract by liquid chromatography coupled to photodiode array and mass spectrometry detection and evaluation of its biological activity. *Journal of separation science*, 38(2), 171-178.
- Monien, B. H., Henry, B. L., Raghuraman, A., Hindle, M., & Desai, U. R. (2006). Novel chemo-enzymatic oligomers of cinnamic acids as direct and indirect inhibitors of coagulation proteinases. *Bioorganic and medicinal chemistry*, 14(23), 7988-7998.
- Mukherjee, P. K., Nema, N. K., Maity, N., & Sarkar, B. K. (2013). Phytochemical and therapeutic potential of cucumber. *Fitoterapia*, 84, 227-236.
- Naczka, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography*, 1054 (1-2), 95-111.
- Nakayama, S., Kishimoto, Y., Saita, E., Sugihara, N., Toyozaki, M., Taguchi, C., Tani, M., Kamiya, T., & Kondo, K. (2015). Pine bark extract prevents low-density lipoprotein oxidation and regulates monocytic expression of antioxidant enzymes. *Nutrition research*, 35(1), 56-64.
- Nasir, A., Abubakar, M. G., Shehu, R. A., Aliyu, U., & Toge, B. K. (2013). Hepatoprotective effect of the aqueous leaf extract of *Andrographis paniculata* Nees against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Nigerian journal of basic and applied sciences*, 21(1), 45-54.
- Nicoli, M. C., Anese, M., & Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in food science and technology*, 10(3), 94-100.

- Nur Arina, A. J., & Azrina, A. (2016). Comparison of phenolic content and antioxidant activity of fresh and fried local fruits. *International food research journal*, 23(4), 1717-1724.
- Nwosu, C. V., Boyd, L. C., & Sheldon, B. (1997). Effect of fatty acid composition of phospholipids on their antioxidant properties and activity index. *Journal of the American oil chemists' society*, 74(3), 293-297.
- Oboh, G., Raddatz, H., & Henle, T. (2009). Characterization of the antioxidant properties of hydrophilic and lipophilic extracts of Jute (*Corchorus olitorius*) leaf. *International journal of food sciences and nutrition*, 60 (sup2), 124-134.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Oliveras-López, M. J., Berná, G., Jurado-Ruiz, E., de la Serrana, H. L. G., & Martín, F. (2014). Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds has beneficial antioxidant effects in healthy human adults. *Journal of functional foods*, 10, 475-484.
- Orak, H. H., Yagar, H., & Isbilir, S. S. (2012). Comparison of antioxidant activities of juice, peel, and seed of pomegranate (*Punica granatum* L.) and inter-relationships with total phenolic, tannin, anthocyanin, and flavonoid contents. *Food science and biotechnology*, 21(2), 373-387.
- Ortuno, A., Garcia-Puig, D., Fuster, M. D., Pérez, M. L., Sabater, F., Porras, I., Garcia-Lidon, A., & Del Rio, J. A. (1995). Flavanone and nootkatone levels in different varieties of grapefruit and pummelo. *Journal of agricultural and food chemistry*, 43(1), 1-5.
- Ott, M., Gogvadze, V., Orrenius, S., & Zhivotovsky, B. (2007). Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*, 12(5), 913-922.

- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3122-3128.
- Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., & Akev, N. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food chemistry*, 110(3), 571-583.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Vos, F., & Scalbert, A. (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *European journal of clinical nutrition*, 64, S112-S120.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science*, 4(2), 89.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.
- Pincemail, J., Degrune, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., & Defraigne, J. O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21(2), 66-75.
- Prabhakar, R., Vreven, T., Morokuma, K., & Musaev, D. G. (2005). Elucidation of the mechanism of selenoprotein glutathione peroxidase (GPx)-catalyzed hydrogen peroxide

- reduction by two glutathione molecules: a density functional study. *Biochemistry*, 44(35), 11864-11871.
- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.K., Bailleul, F., et Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) hulls and flour. *Journal of ethnopharmacology*, 72(1), 35-42.
- Quinones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2013). Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacological research*, 68(1), 125-131.
- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*, 2(2), 219.
- Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, 55(3), 207-216.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
- Sacan, O., & Yanardag, R. (2010). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris L. var. cicla*). *Food and chemical toxicology*, 48(5), 1275-1280.
- Saiga, A. I., Tanabe, S., & Nishimura, T. (2003). Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(12), 3661-3667.

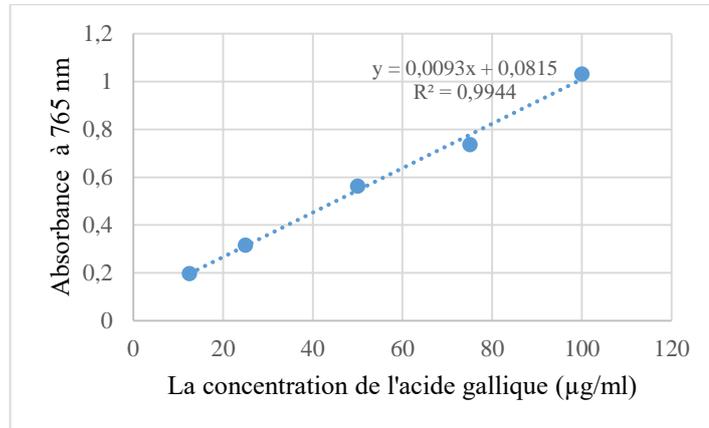
- Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., & Borderías, A. J. (2007). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: evaluation by different methodologies. *Food chemistry*, 101(1), 372-378.
- Satué-Gracia, M. T., Heinonen, M., & Frankel, E. N. (1997). Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin–liposome systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(9), 3362-3367.
- Scandalios, J. G. (2002). Oxidative stress responses-what have genome-scale studies taught us? *Genome biology*, 3(7), reviews1019.1-1019.6.
- Shahidi, F., & Naczk, M. (2003). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., pp: 132-237.
- Singh, M., Kaur, M., & Silakari, O. (2014). Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European journal of medicinal chemistry*, 84, 206-239.
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 81-86.
- Sohal, R. S., Mockett, R. J., & Orr, W. C. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis1, 2. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5), 575-586.
- Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes rendus biologies*, 327(7), 649-662.
- Srivastava, A., & Shivanandappa, T. (2010). Hepatoprotective effect of the root extract of *Decalepis hamiltonii* against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Food chemistry*, 118(2), 411-417.

- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Stahl, W., & Sies, H. (1993). Physical Quenching of Singlet Oxygen and cis- trans Isomerization of Carotenoids. *Annals of the New York academy of sciences*, 691(1), 10-19.
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345-351.
- Stratil, P., Klejdus, B., & Kubáň, V. (2006). Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(3), 607-616.
- Suzuki, S., & Umezawa, T. (2007). Biosynthesis of lignans and norlignans. *Journal of wood science*, 53(4), 273-284.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food chemistry*, 93(4), 713-718.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry and cell biology*, 39(1), 44-84.
- Van Acker, S. A., Tromp, M. N., Griffioen, D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J., & Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free radical biology and medicine*, 20(3), 331-342.

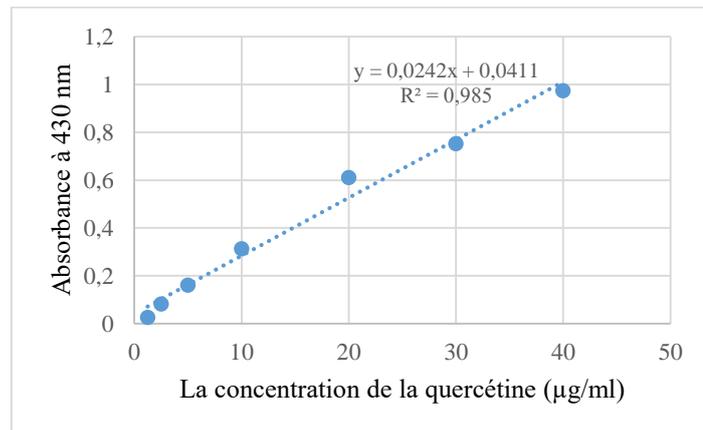
- Viacava, G. E., Roura, S. I., & Agüero, M. V. (2015). Antioxidant activity of butterhead lettuce: evaluation of significant factors affecting antioxidant extraction and quantification. *Journal of food measurement and characterization*, 9(2), 206-214.
- Wang, H., Cao, G., & Prior, R. L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 44(3), 701-705.
- Wang, S. Y., & Chen, C. T. (2010). Effect of allyl isothiocyanate on antioxidant enzyme activities, flavonoids and post-harvest fruit quality of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Duke). *Food chemistry*, 122(4), 1153-1158.
- Wilson, J. X. (2002). The physiological role of dehydroascorbic acid. *FEBS letters*, 527(1-3), 5-9.
- Wu, P., Ma, G., Li, N., Deng, Q., Yin, Y., & Huang, R. (2015). Investigation of in vitro and in vivo antioxidant activities of flavonoids rich extract from the berries of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. *Food chemistry*, 173, 194-202.
- Xiao, Z. P., Peng, Z. Y., Peng, M. J., Yan, W. B., Ouyang, Y. Z., & Zhu, H. L. (2011). Flavonoids health benefits and their molecular mechanism. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11(2), 169-177.
- Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological reviews*, 74(1), 139-162.
- Zhang, D., & Hamauzu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food chemistry*, 88(4), 503-509

Zineb, G., Boukouada, M., Djeridane, A., Saidi, M., & Yousfi, M. (2012). Screening of antioxidant activity and phenolic compounds of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Algeria. *Mediterranean journal of nutrition and metabolism*, 5(2), 119-126.

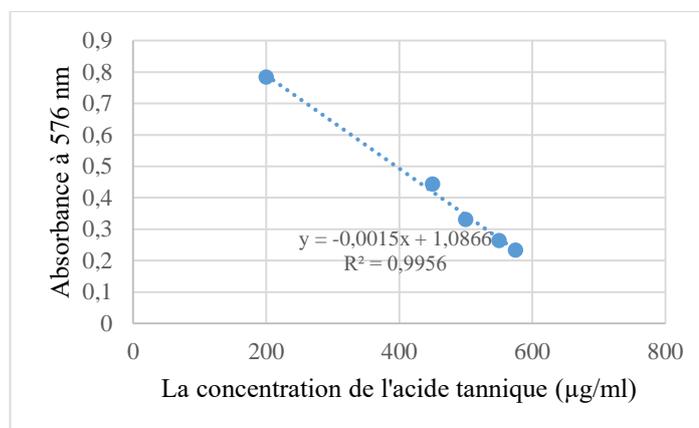
## Annexe 1



**Figure 1 :** Droite d'étalonnage de l'acide gallique

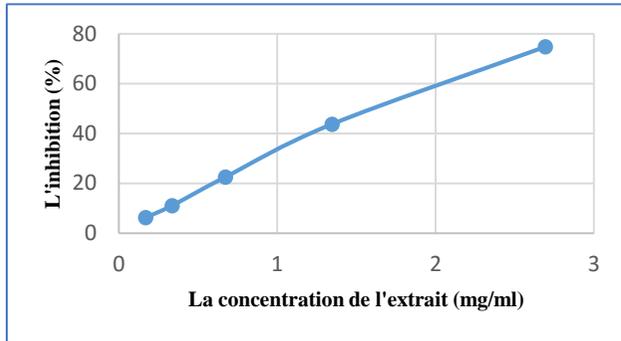


**Figure 2 :** Droite d'étalonnage de la quercétine

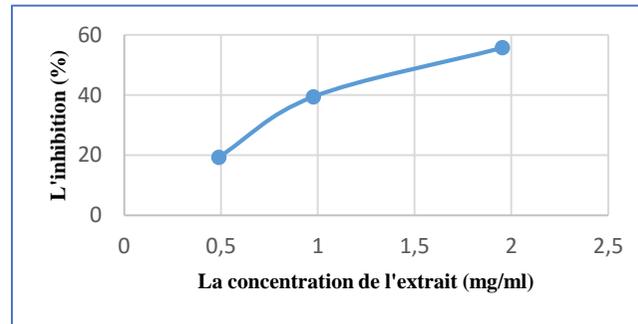


**Figure 3 :** Droite d'étalonnage de l'acide tannique

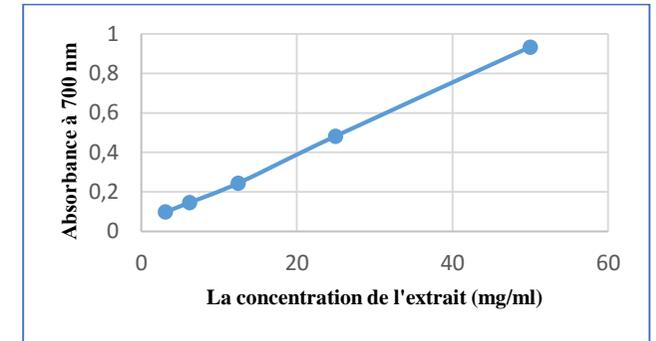
## Annexe 2



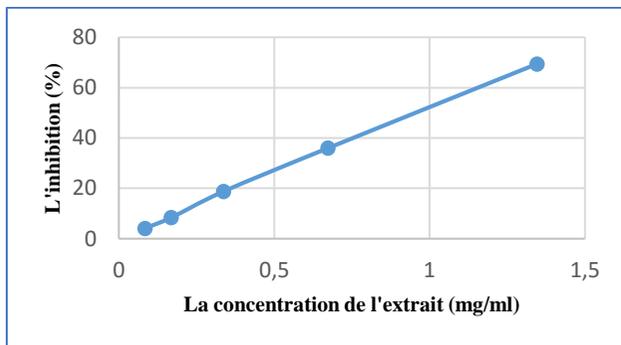
**Figure 1 :** L'activité antiradicalaire de piment vis-à-vis le radical DPPH



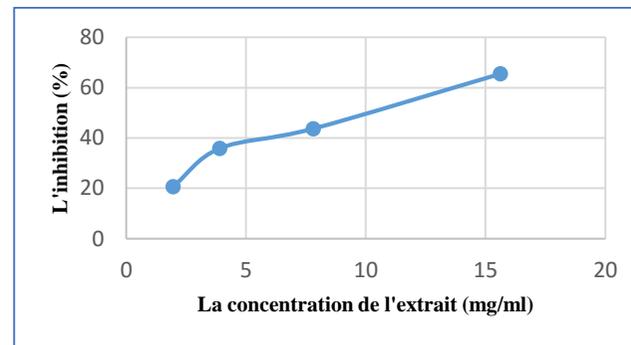
**Figure 2 :** L'activité chélatrice des ions ferreux du piment



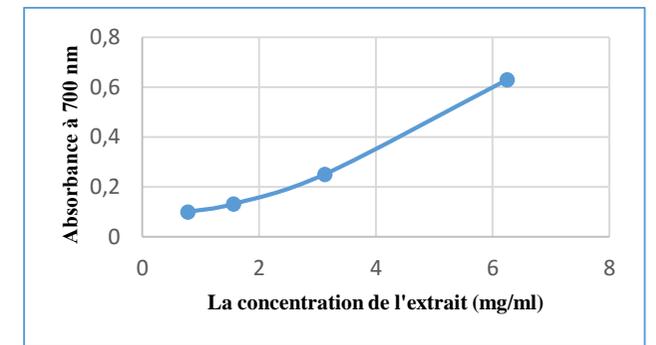
**Figure 3 :** Le pouvoir réducteur du piment



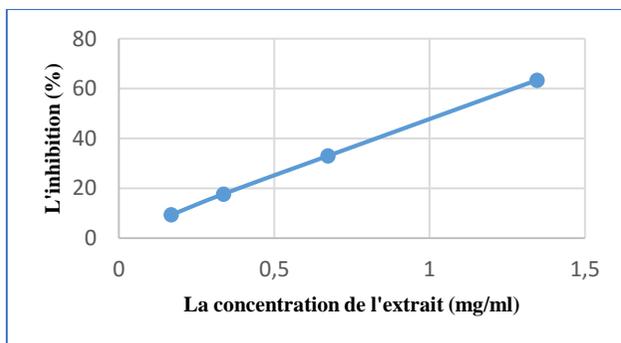
**Figure 4 :** L'activité antiradicalaire de la tomate vis-à-vis le radical DPPH



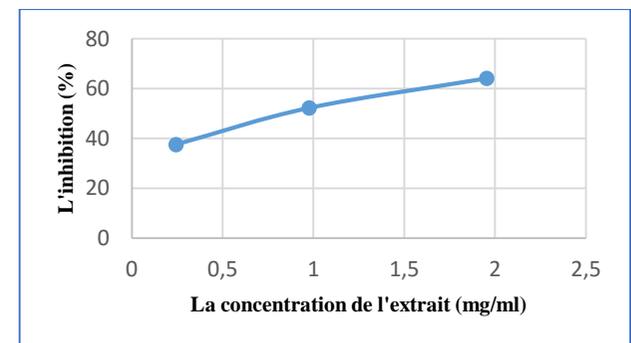
**Figure 5 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de la tomate



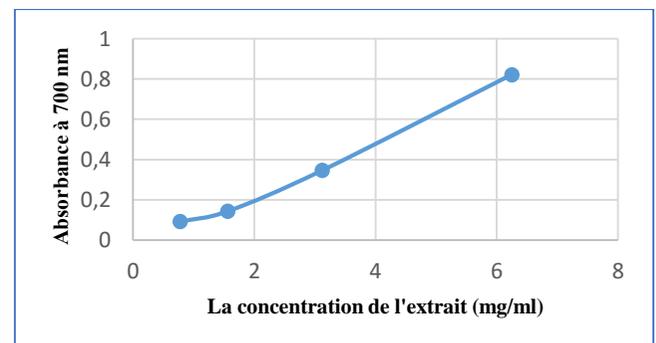
**Figure 6 :** Le pouvoir réducteur de la tomate



**Figure 7 :** L'activité antiradicalaire de l'oignon vis-à-vis le radical DPPH

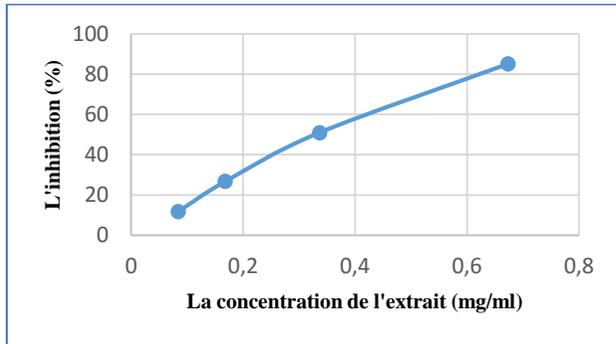


**Figure 8 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de l'oignon

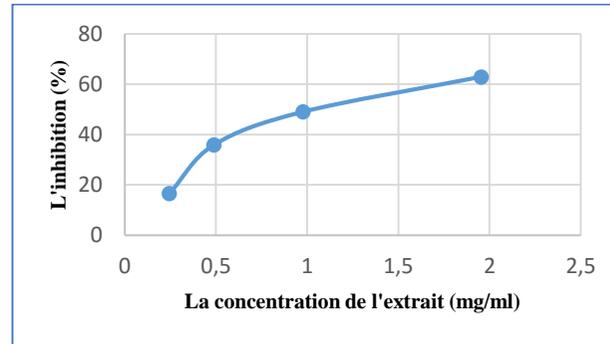


**Figure 9 :** Le pouvoir réducteur de l'oignon

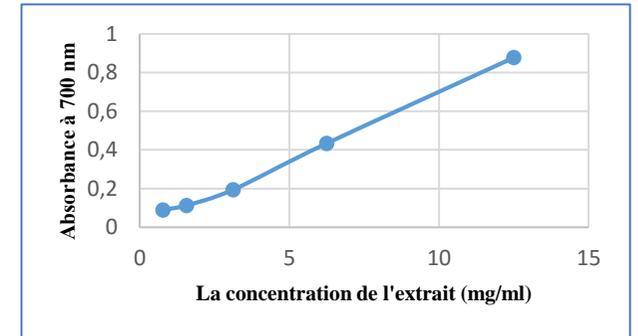
## Annexe 2



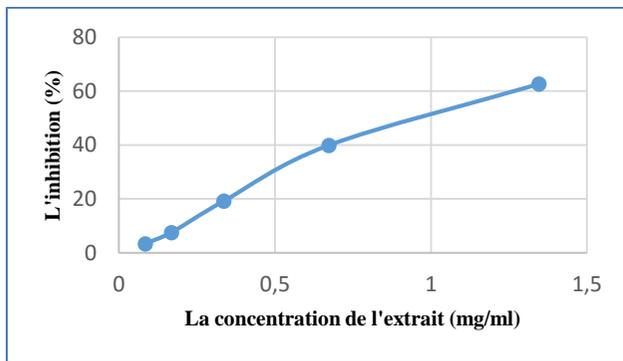
**Figure 10:** L'activité antiradicalaire de l'aubergine vis-à-vis le radical DPPH



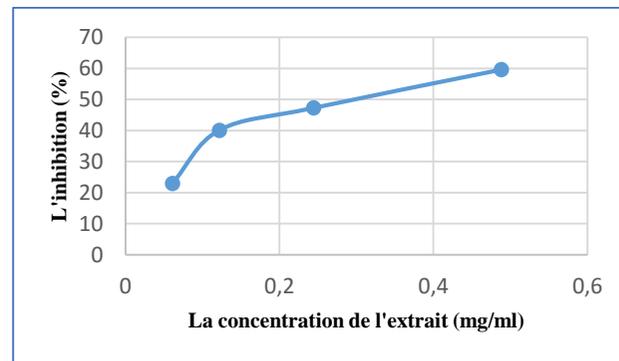
**Figure 11 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de l'aubergine



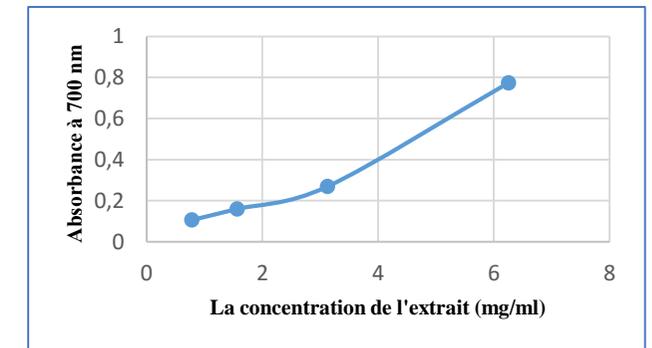
**Figure 12 :** Le pouvoir réducteur de l'aubergine



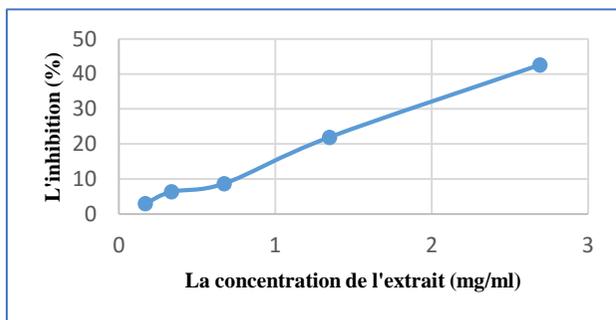
**Figure 13:** L'activité antiradicalaire de la pomme de terre vis-à-vis le radical DPPH



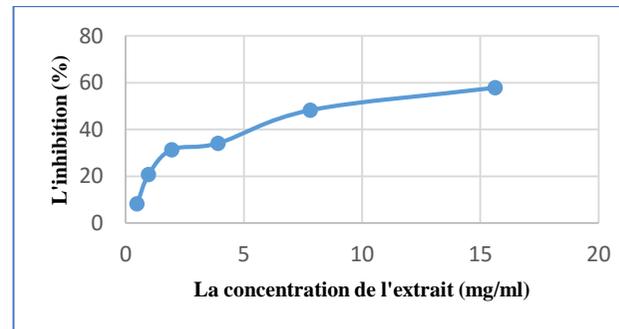
**Figure 14:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la pomme de terre



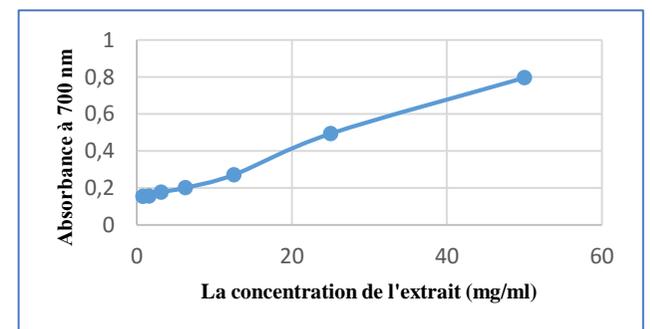
**Figure 15:** Le pouvoir réducteur de la pomme de terre



**Figure 16:** L'activité antiradicalaire de la poire vis-à-vis le radical DPPH

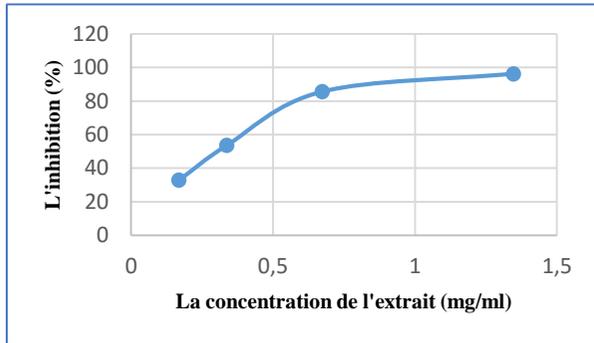


**Figure 17:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la poire

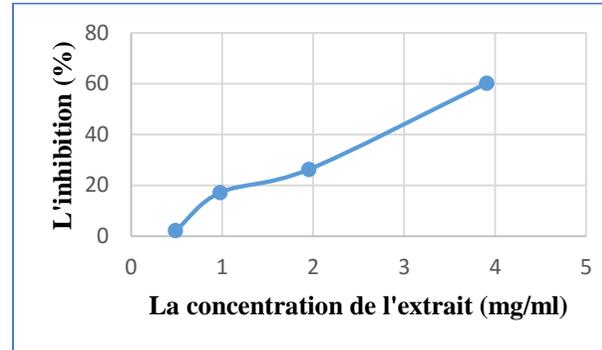


**Figure 18:** Le pouvoir réducteur de la poire

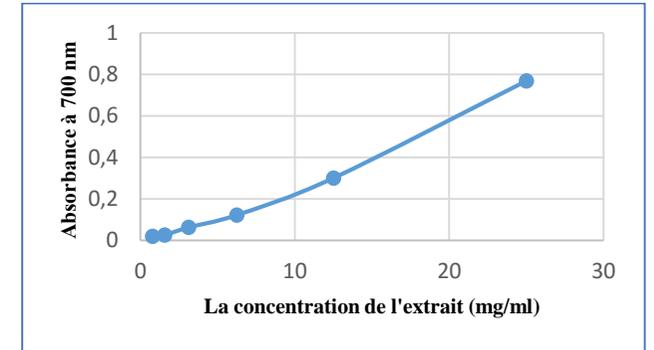
## Annexe 2



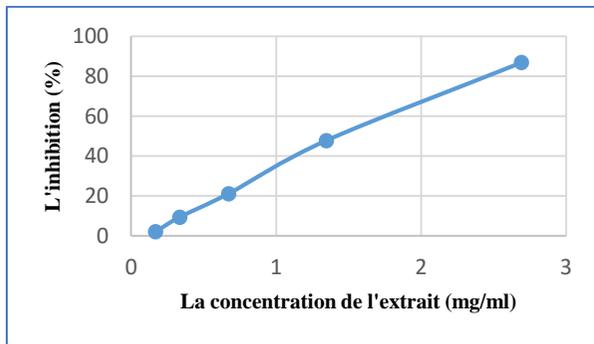
**Figure 19 :** L'activité antiradicalaire du raisin (noir) vis-à-vis le radical DPPH



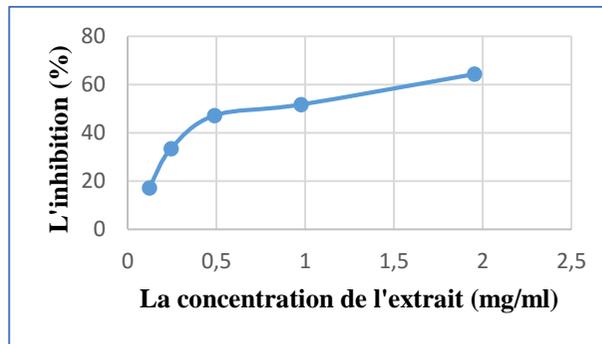
**Figure 20 :** L'activité chélatrice des ions ferreux du raisin (noir)



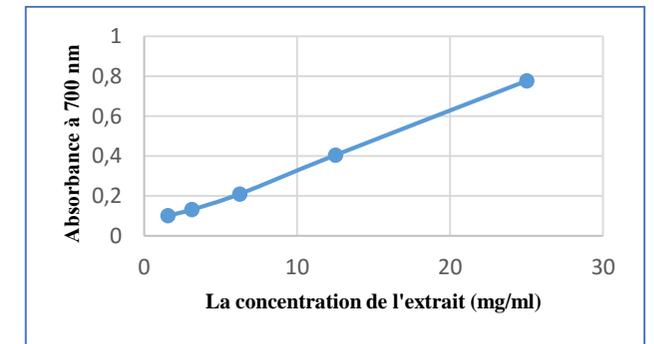
**Figure 21:** Le pouvoir réducteur du raisin (noir)



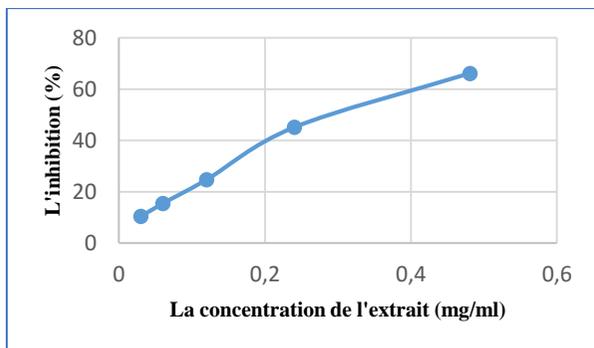
**Figure 22:** L'activité antiradicalaire du raisin (blanc) vis-à-vis le radical DPPH



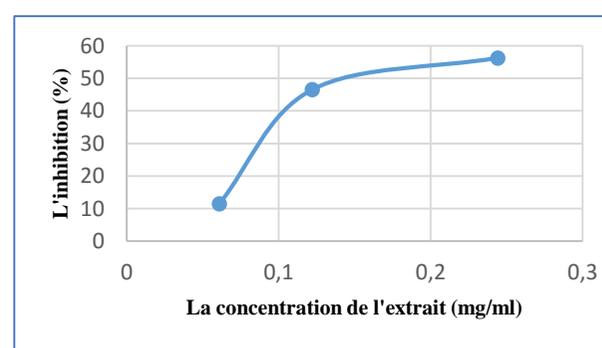
**Figure 23 :** L'activité chélatrice des ions ferreux du raisin (blanc)



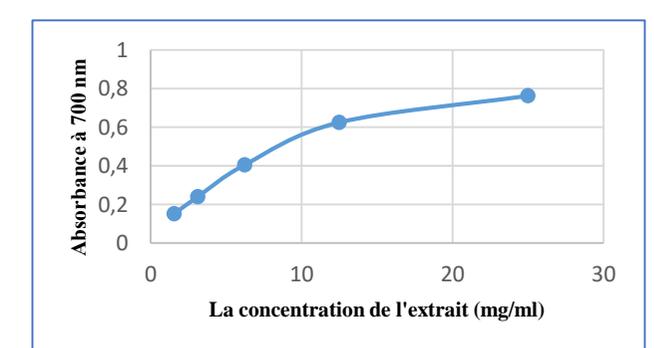
**Figure 24 :** Le pouvoir réducteur du raisin (blanc)



**Figure 25:** L'activité antiradicalaire de la laitue vis-à-vis le radical DPPH

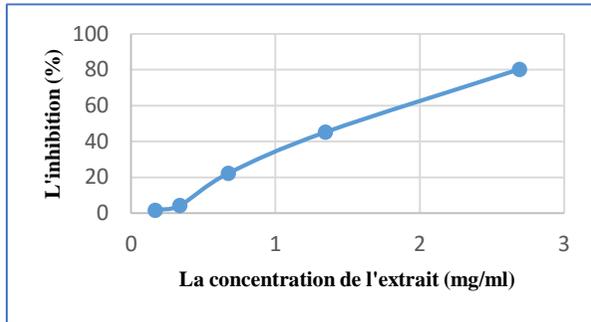


**Figure 26:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la laitue

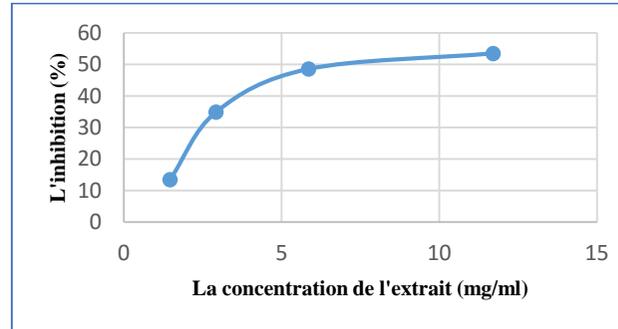


**Figure 27 :** Le pouvoir réducteur de la laitue

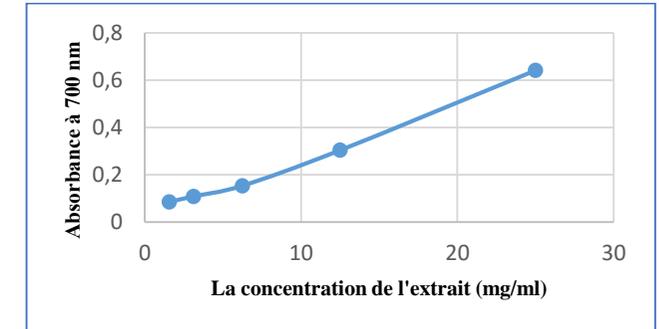
## Annexe 2



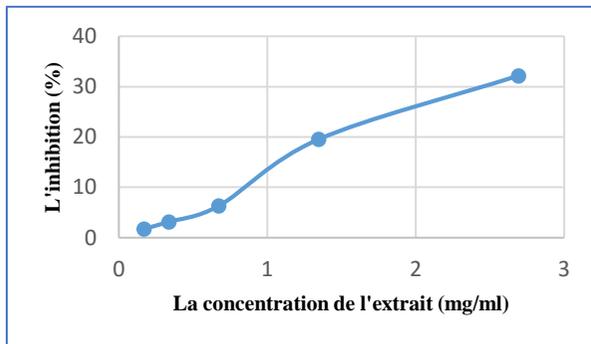
**Figure 28:** L'activité antiradicalaire de la pomme vis-à-vis le radical DPPH



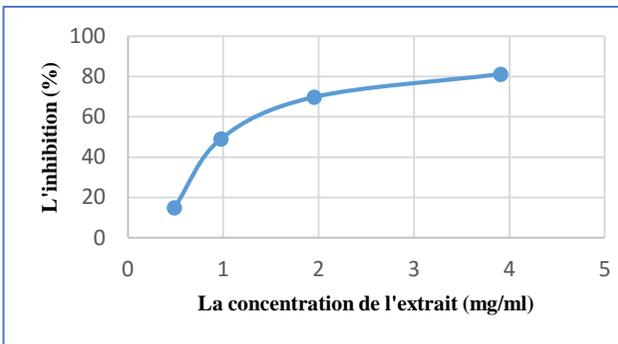
**Figure 29:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la pomme



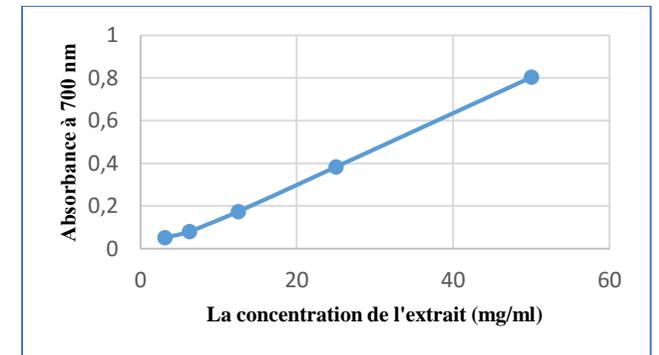
**Figure 30:** Le pouvoir réducteur de la pomme



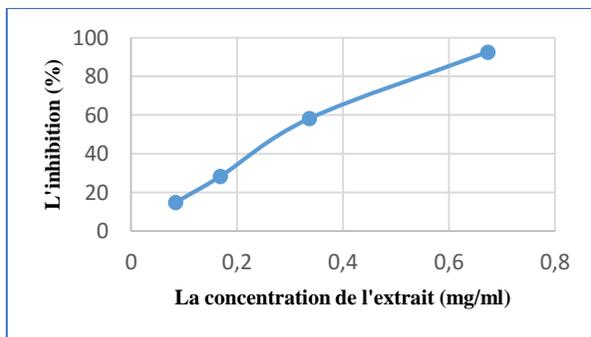
**Figure 31:** l'activité antiradicalaire des dattes « Gharas » vis-à-vis le radical DPPH



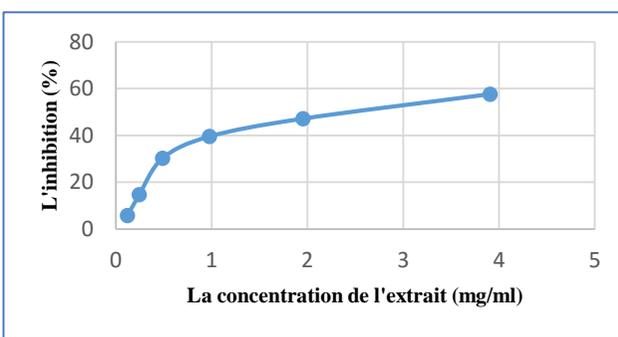
**Figure 32:** L'activité chélatrice des ions ferreux des dattes « Gharas »



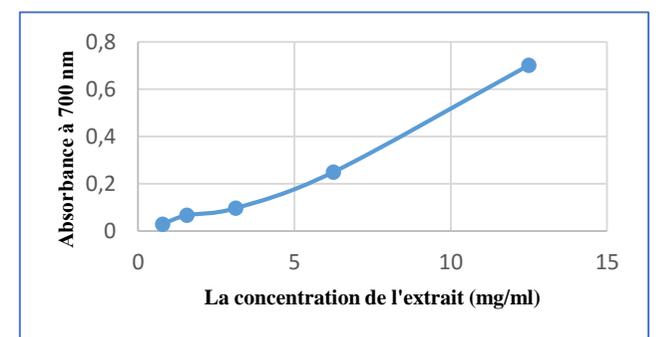
**Figure 33 :** Le pouvoir réducteur des dattes « Gharas »



**Figure 34:** L'activité antiradicalaire de la grenade vis-à-vis le radical DPPH

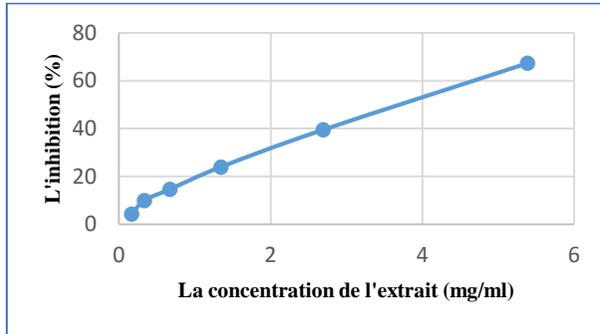


**Figure 35:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la grenade

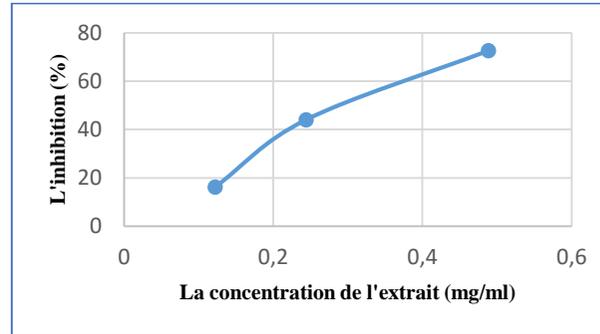


**Figure 36:** Le pouvoir réducteur de la grenade

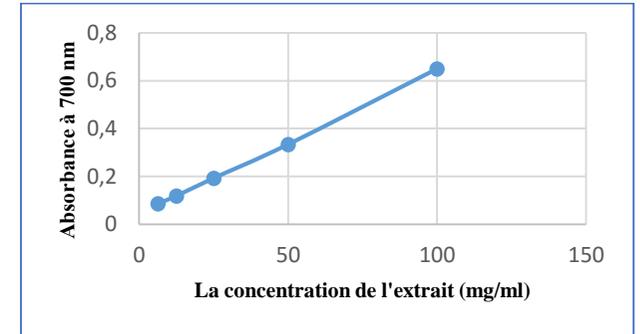
## Annexe 2



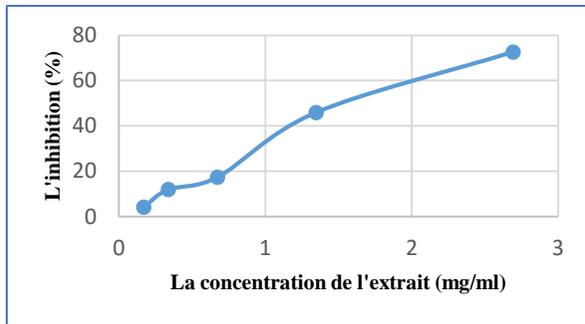
**Figure 37 :** L'activité antiradicalaire de la carotte vis-à-vis le radical DPPH



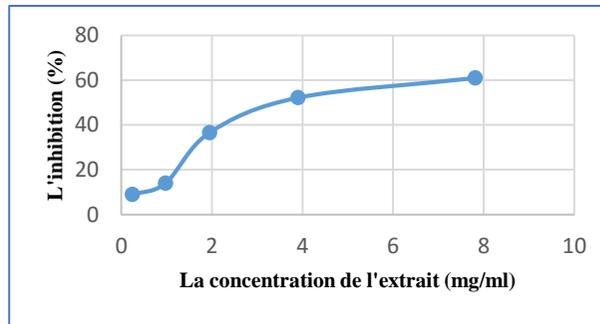
**Figure 38:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la carotte



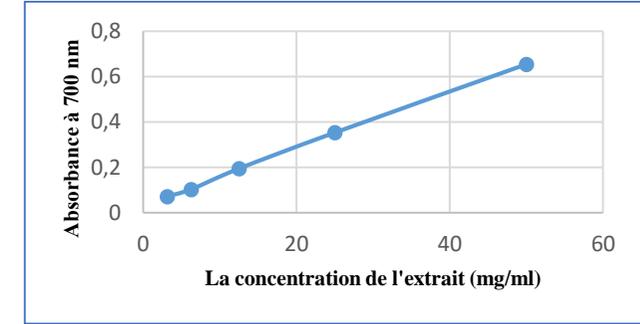
**Figure 39 :** Le pouvoir réducteur de la carotte



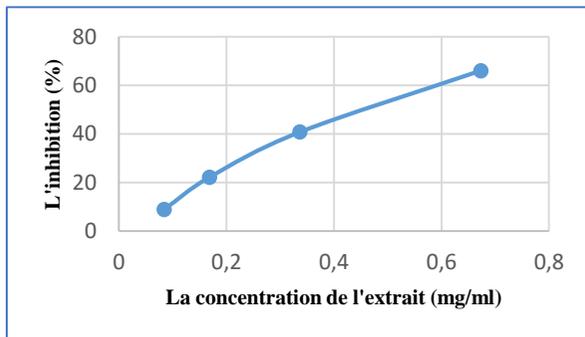
**Figure 40:** L'activité antiradicalaire de la betterave vis-à-vis le radical DPPH



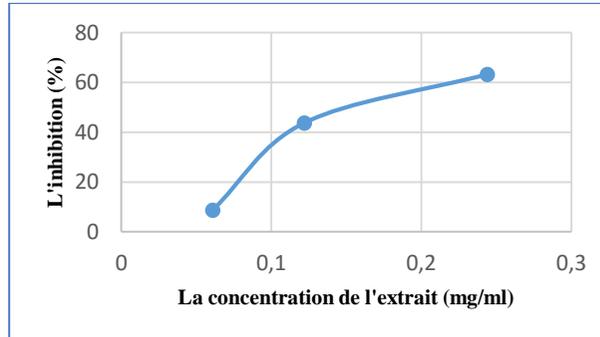
**Figure 41:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la betterave



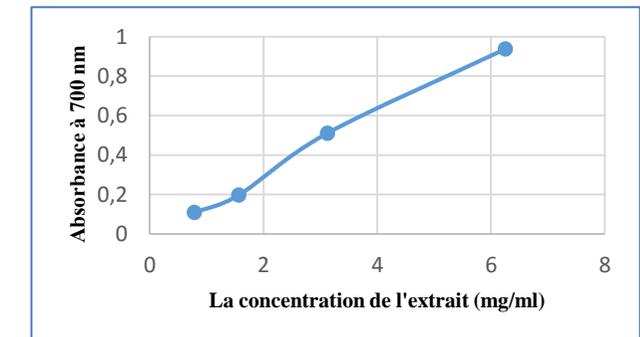
**Figure 42:** Le pouvoir réducteur de la betterave



**Figure 43 :** L'activité antiradicalaire de la courgette vis-à-vis le radical DPPH

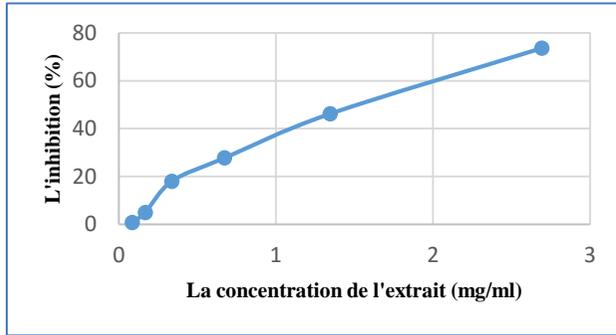


**Figure 44 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de la courgette

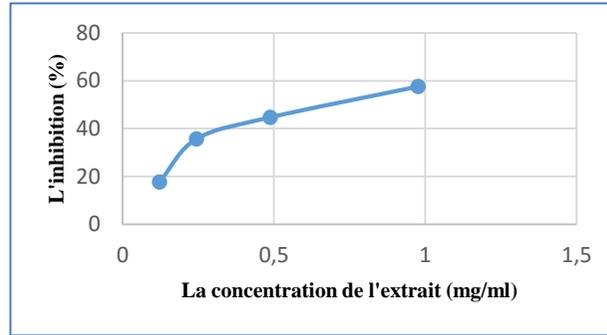


**Figure 45 :** Le pouvoir réducteur de la courgette

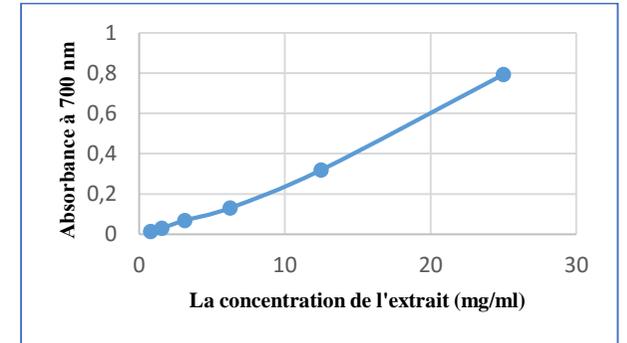
## Annexe 2



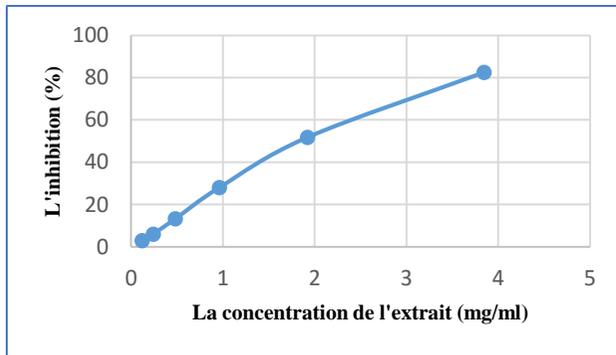
**Figure 46:** L'activité antiradicalaire du chou-fleur vis-à-vis le radical DPPH



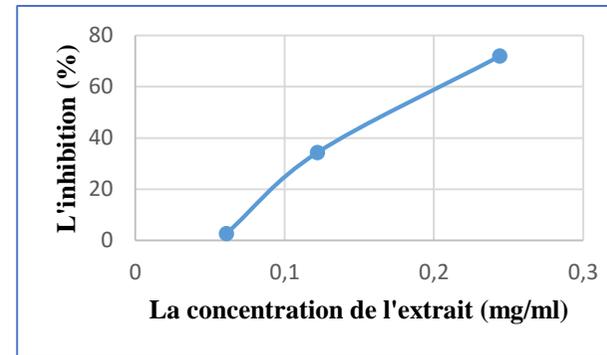
**Figure 47:** L'activité chélatrice des ions ferreux du chou-fleur



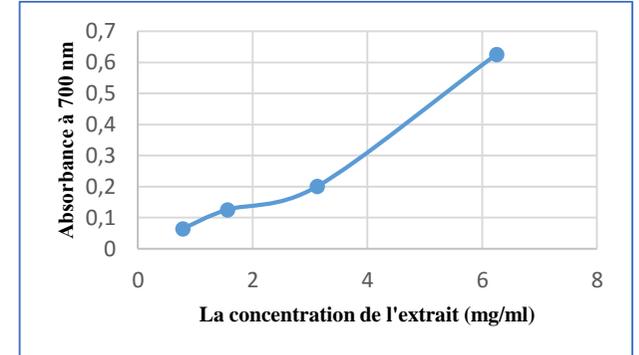
**Figure 48 :** Le pouvoir réducteur du chou-fleur



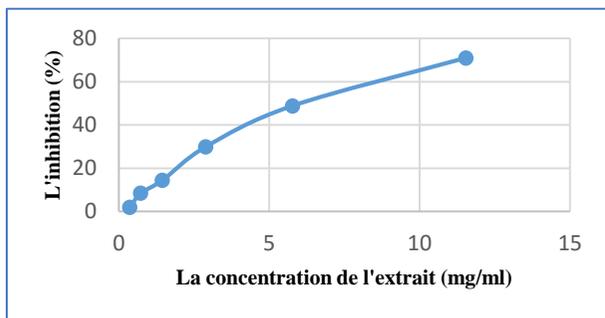
**Figure 49:** L'activité antiradicalaire du navet vis-à-vis le radical DPPH



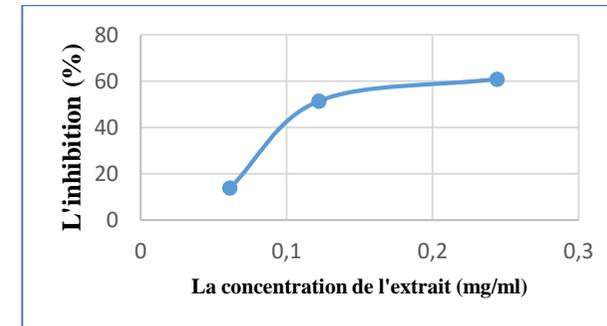
**Figure 50:** L'activité chélatrice des ions ferreux du navet



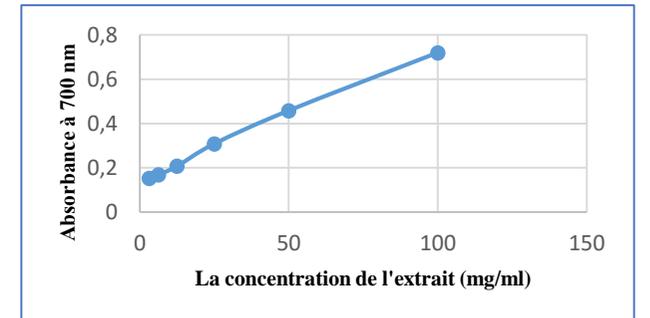
**Figure 51:** Le pouvoir réducteur du navet



**Figure 52:** L'activité antiradicalaire du concombre vis-à-vis le radical DPPH

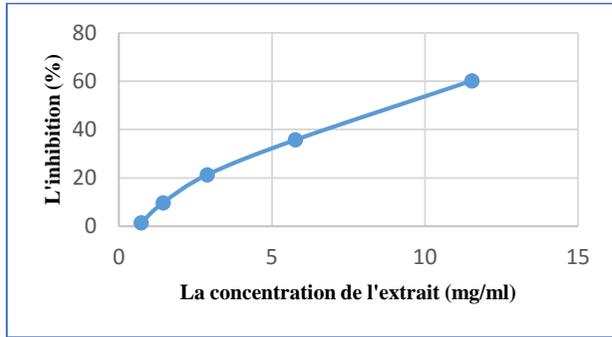


**Figure 53:** L'activité chélatrice des ions ferreux du concombre

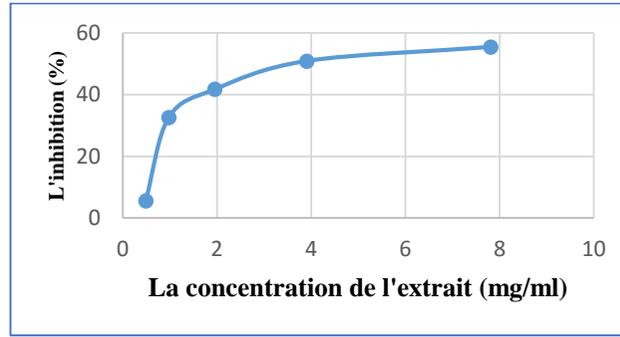


**Figure 54:** Le pouvoir réducteur du concombre

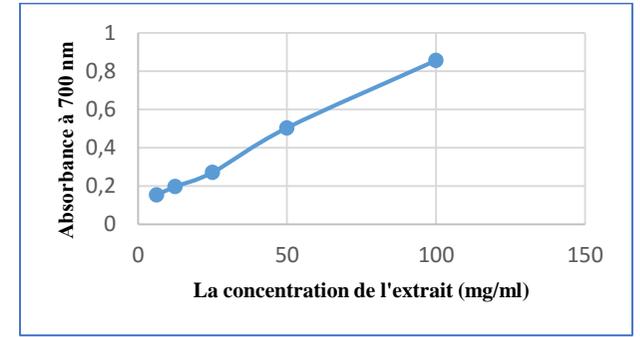
## Annexe 2



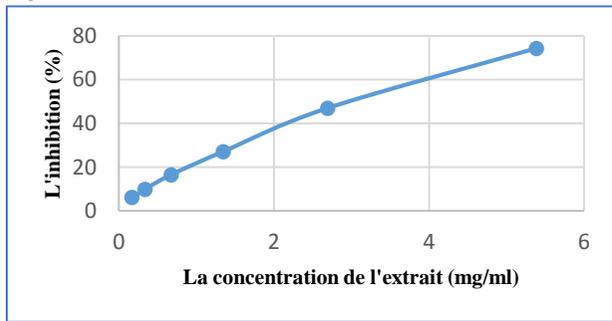
**Figure 55:** L'activité antiradicalaire de la banane vis-à-vis le radical DPPH



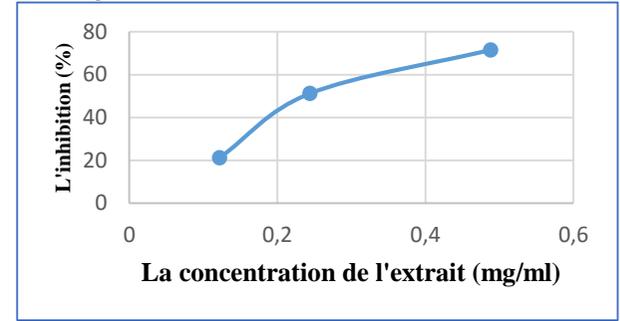
**Figure 56:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la banane



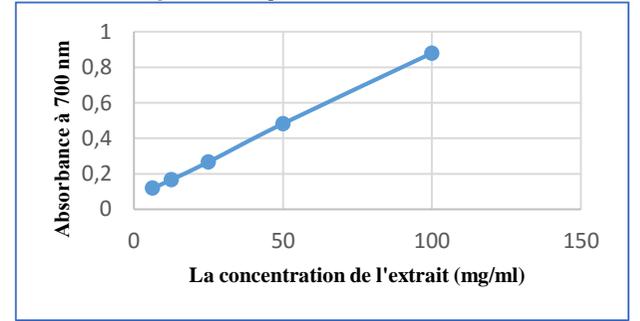
**Figure 57 :** Le pouvoir réducteur de la banane



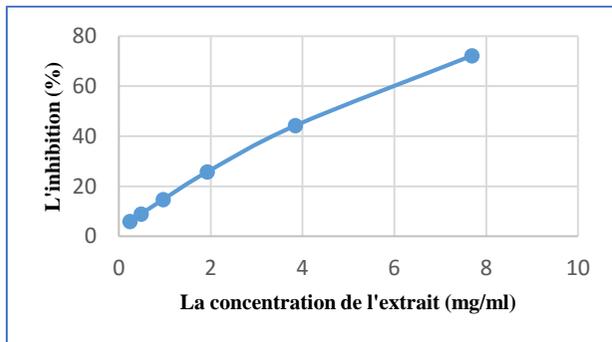
**Figure 58:** L'activité antiradicalaire du fenouil vis-à-vis le radical DPPH



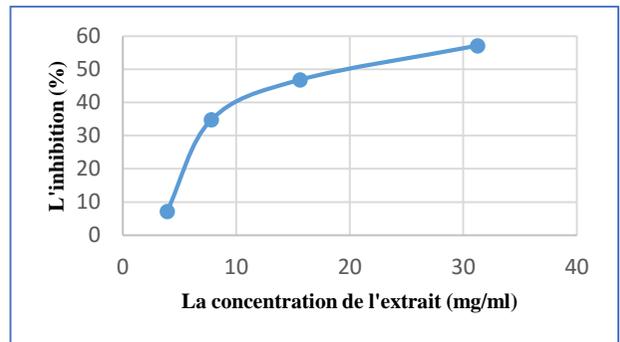
**Figure 59:** L'activité chélatrice des ions ferreux du fenouil



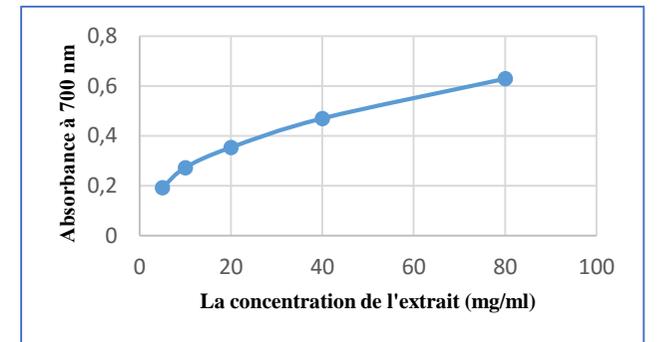
**Figure 60:** Le pouvoir réducteur du fenouil



**Figure 61 :** L'activité antiradicalaire de la mandarine vis-à-vis le radical DPPH



**Figure 62:** L'activité chélatrice des ions ferreux de la mandarine



**Figure 63:** Le pouvoir réducteur de la mandarine

## Annexe 2

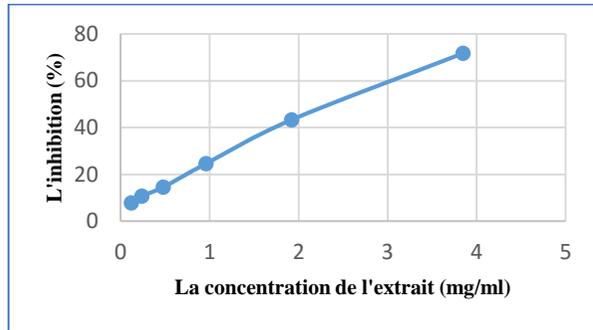


Figure 64 : L'activité antiradicalaire de l'orange vis-à-vis le radical DPPH

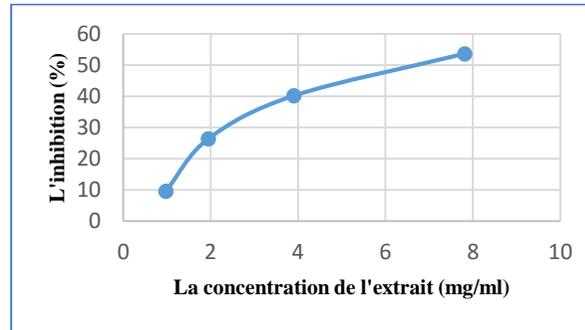


Figure 65 : L'activité chélatrice des ions ferreux de l'orange

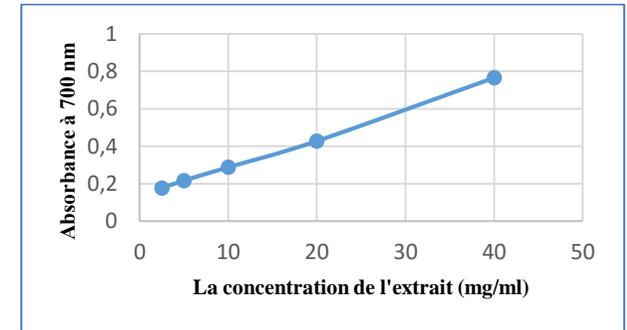


Figure 66 : Le pouvoir réducteur de l'orange

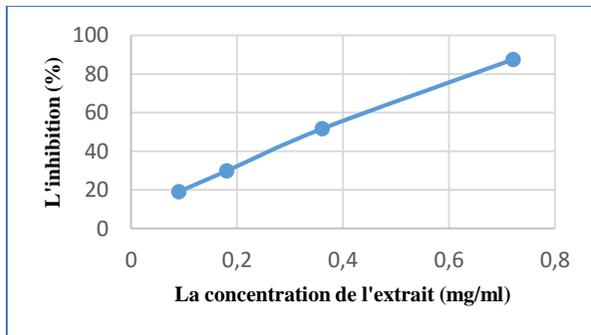


Figure 67 : L'activité antiradicalaire de l'artichaut (fleur) vis-à-vis le radical DPPH

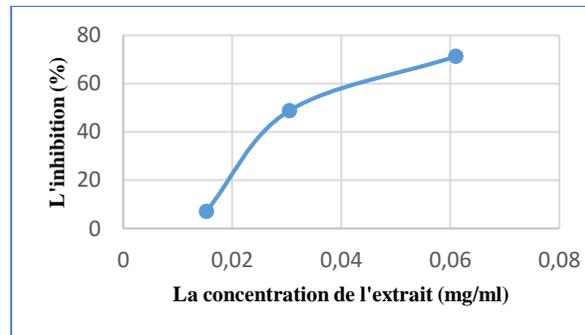


Figure 68 : L'activité chélatrice des ions ferreux de l'artichaut (fleur)

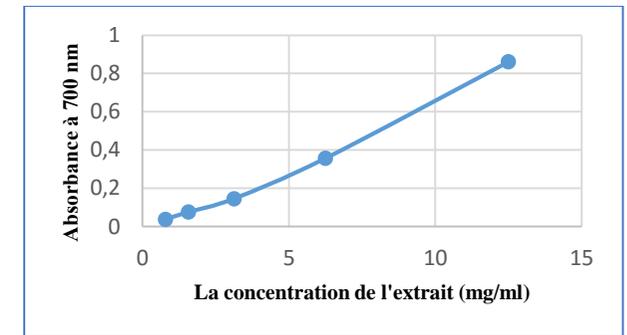


Figure 69 : Le pouvoir réducteur de l'artichaut (fleur)

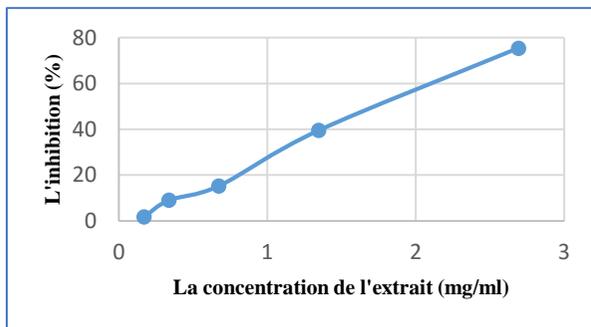


Figure 70 : L'activité antiradicalaire du chou vis-à-vis le radical DPPH

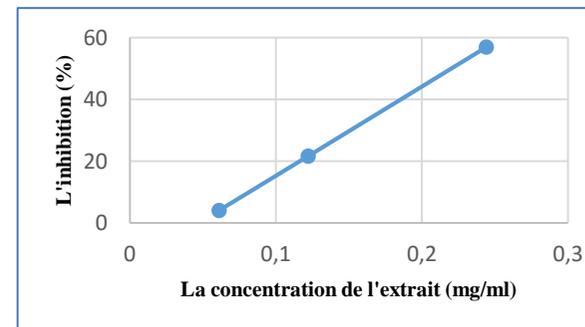


Figure 71 : L'activité chélatrice des ions ferreux du chou

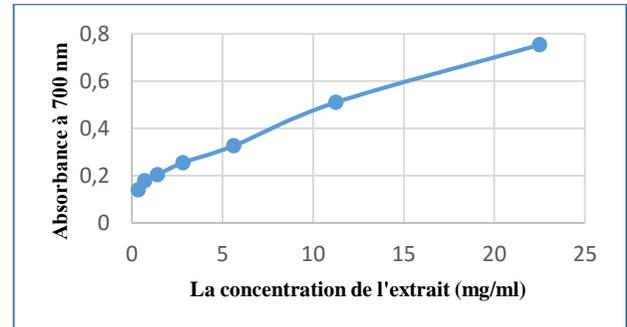
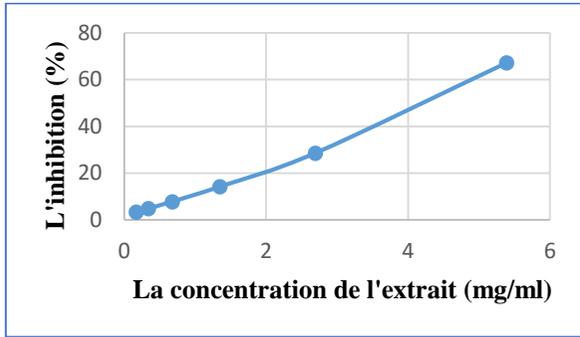
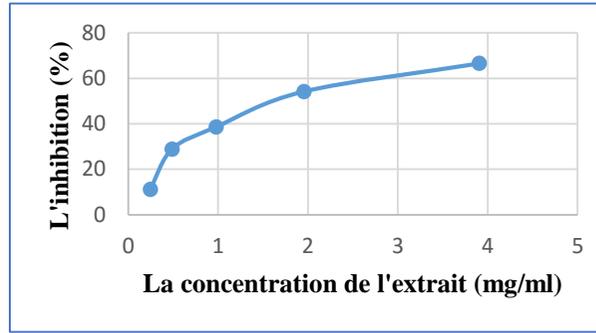


Figure 72 : Le pouvoir réducteur du chou

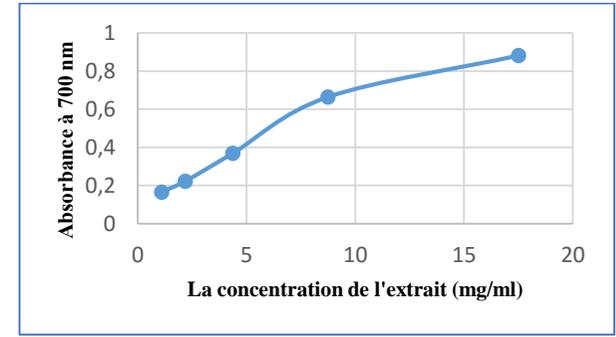
## Annexe 2



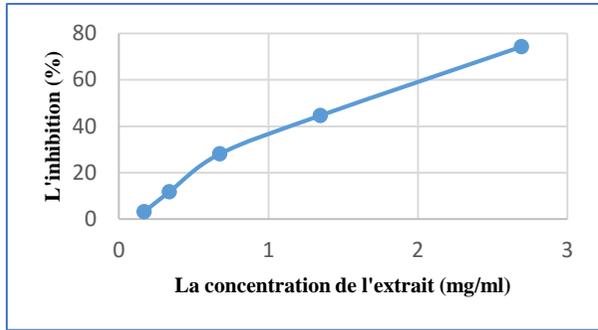
**Figure 73 :** L'activité antiradicalaire de l'artichaut (tige) vis-à-vis le radical DPPH



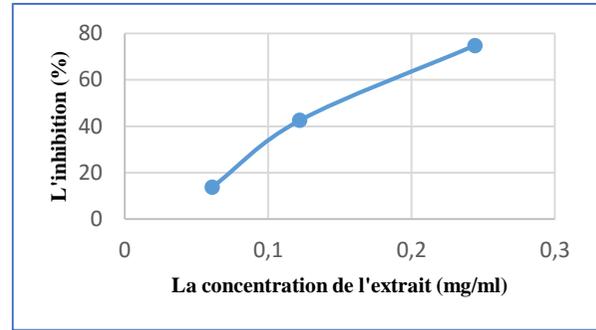
**Figure 74 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de l'artichaut (tige)



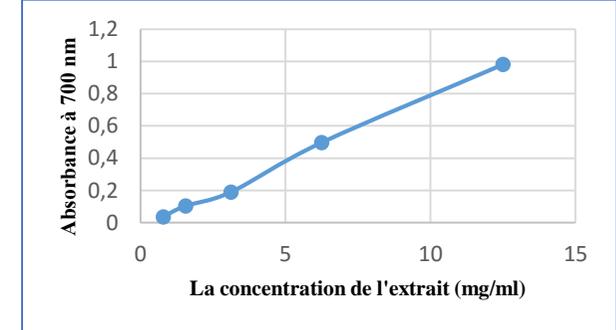
**Figure 75 :** Le pouvoir réducteur de l'artichaut (tige)



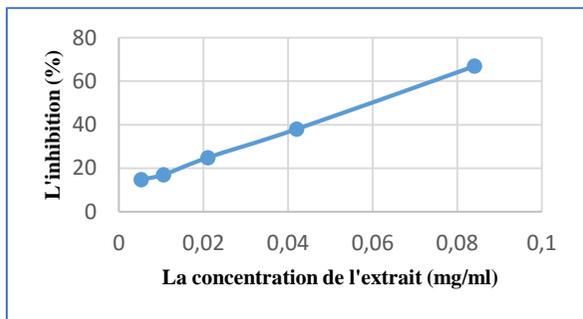
**Figure 76 :** L'activité antiradicalaire de la citrouille vis-à-vis le radical DPPH



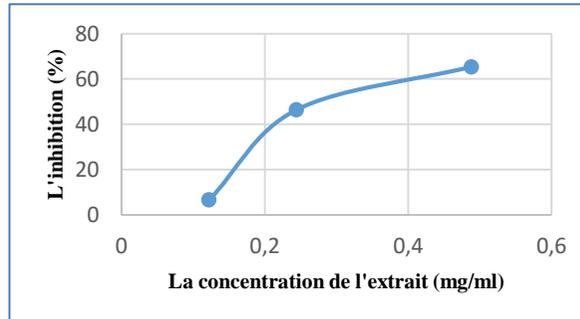
**Figure 77 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de la citrouille



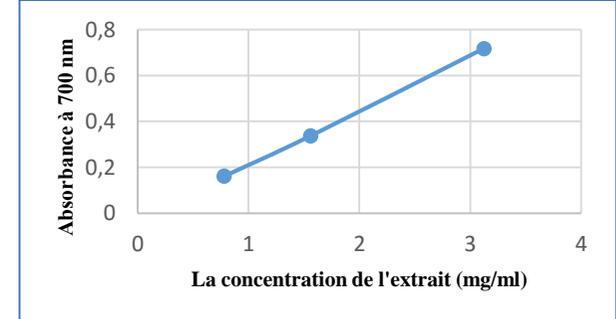
**Figure 78 :** Le pouvoir réducteur de la citrouille



**Figure 79 :** L'activité antiradicalaire de la corète vis-à-vis le radical DPPH

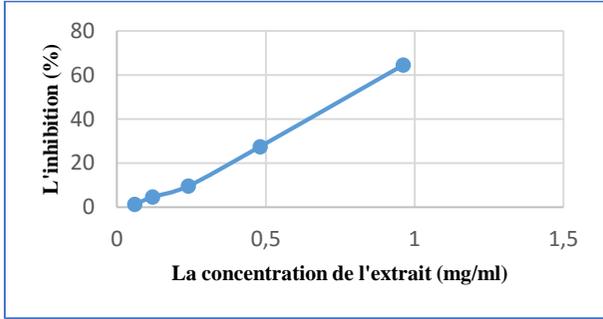


**Figure 80 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de la corète

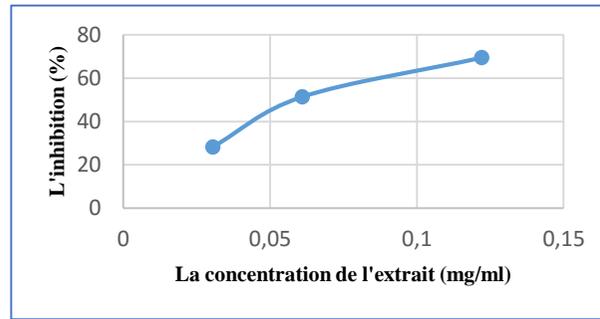


**Figure 81 :** Le pouvoir réducteur de la corète

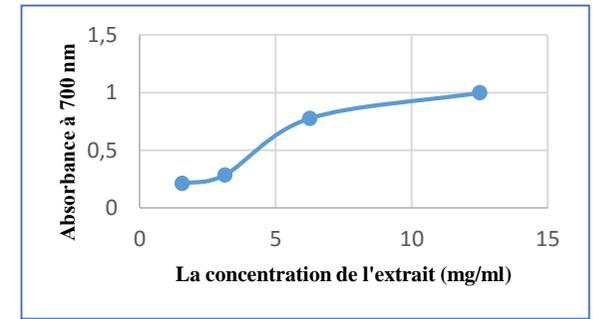
## Annexe 2



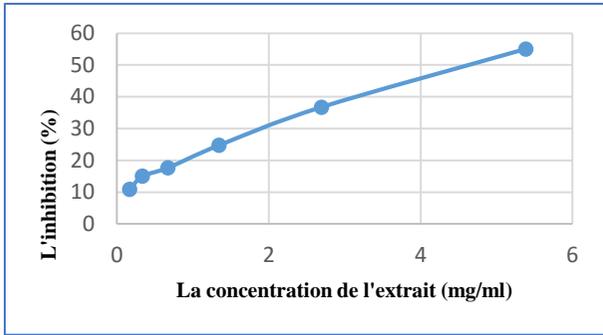
**Figure 82 :** L'activité antiradicalaire de la blette vis-à-vis le radical DPPH



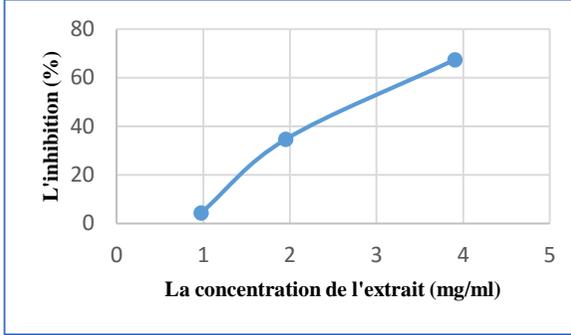
**Figure 83 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de la blette



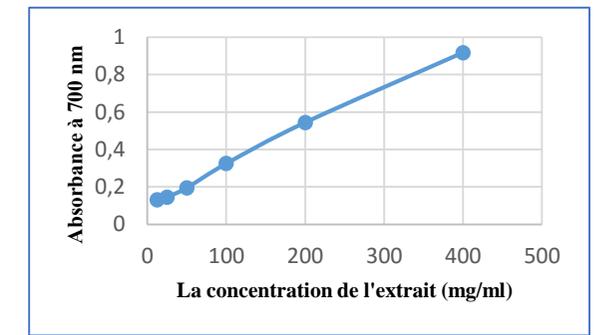
**Figure 84 :** Le pouvoir réducteur de la blette



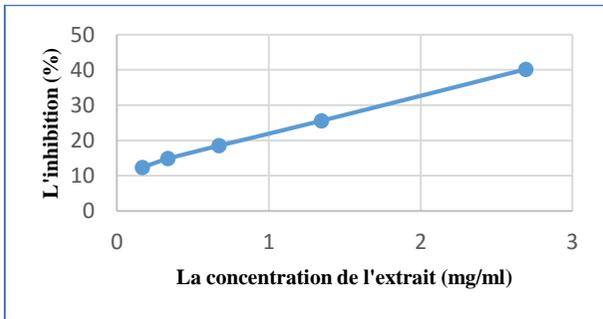
**Figure 85 :** L'activité antiradicalaire de dattes « Mech-Degla » vis-à-vis le radical DPPH



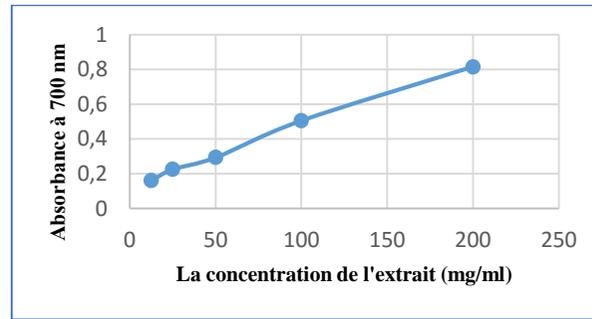
**Figure 86 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de dattes « Mech-Degla »



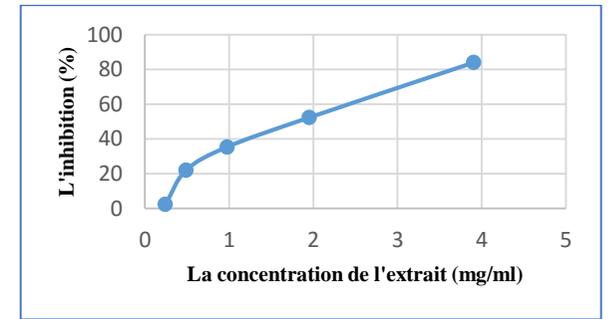
**Figure 87 :** le pouvoir réducteur de dattes « Mech-Degla »



**Figure 88 :** L'activité antiradicalaire de dattes « Deglat-Nour » vis-à-vis le radical DPPH



**Figure 89 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de dattes « Deglat-Nour »



**Figure 90 :** Le pouvoir réducteur de dattes « Deglat-Nour »

## Annexe 2

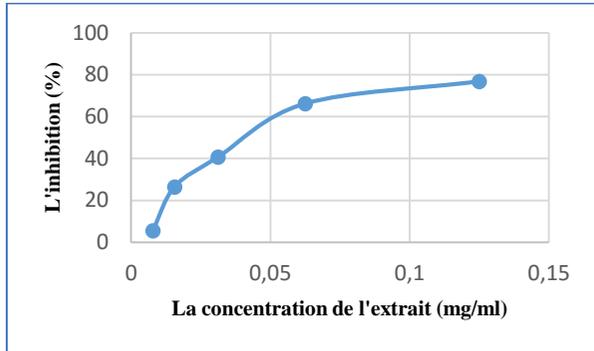


Figure 91: L'activité antiradicalaire de l'haricot vert vis-à-vis le radical DPPH

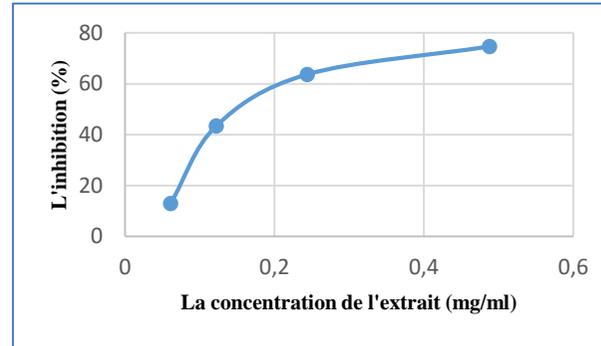


Figure 92 : l'activité chélatrice des ions ferreux de l'haricot vert

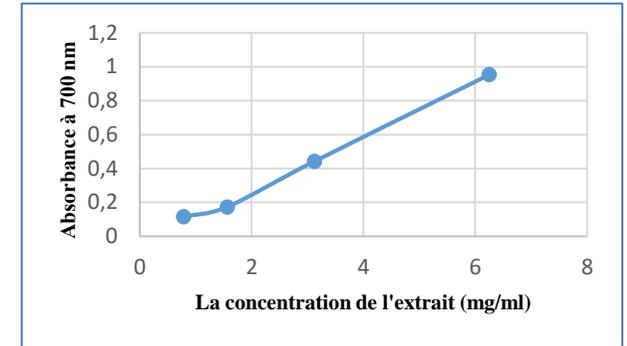


Figure 93 : Le pouvoir réducteur de l'haricot vert

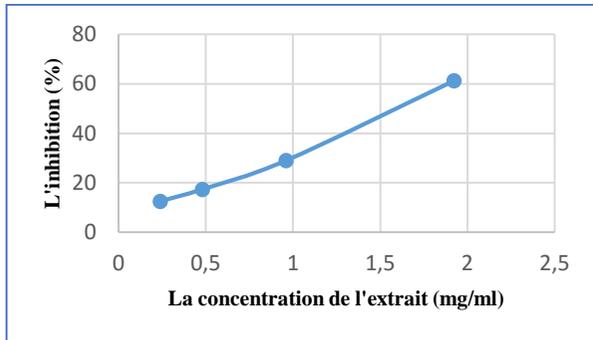


Figure 94 : L'activité antiradicalaire de la fève vis-à-vis le radical DPPH

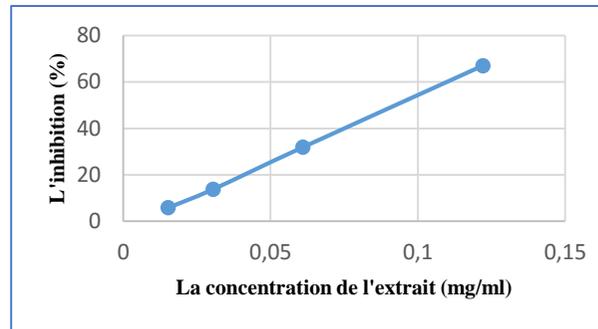


Figure 95 : L'activité chélatrice des ions ferreux de la fève

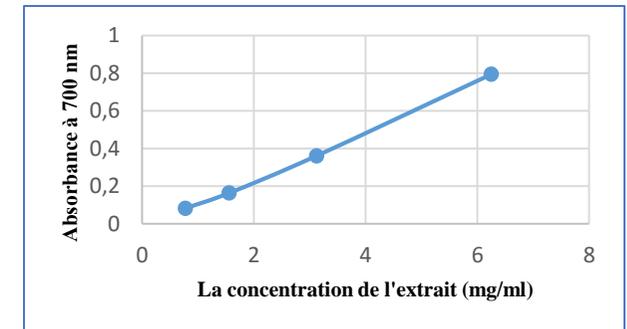


Figure 96 : Le pouvoir réducteur de la fève

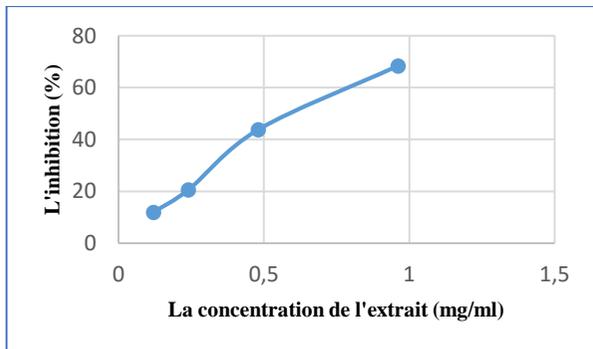


Figure 97: L'activité antiradicalaire du pois vert vis-à-vis le radical DPPH

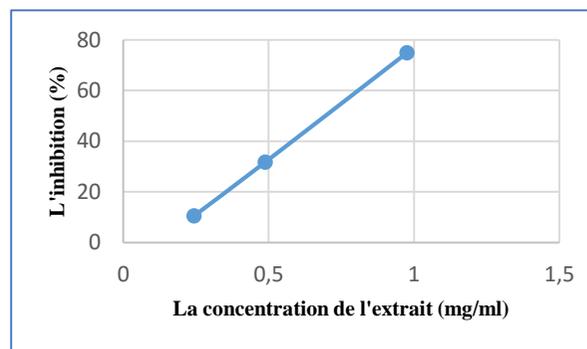


Figure 98: L'activité chélatrice des ions ferreux du pois vert

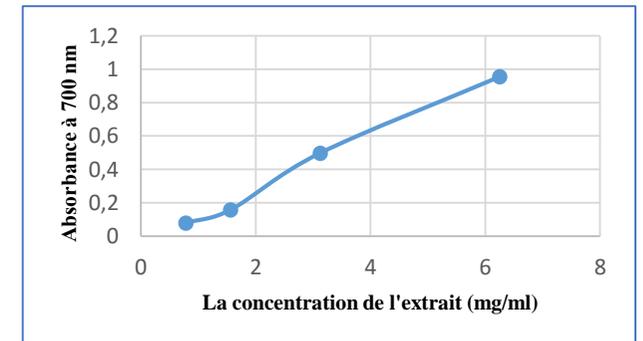
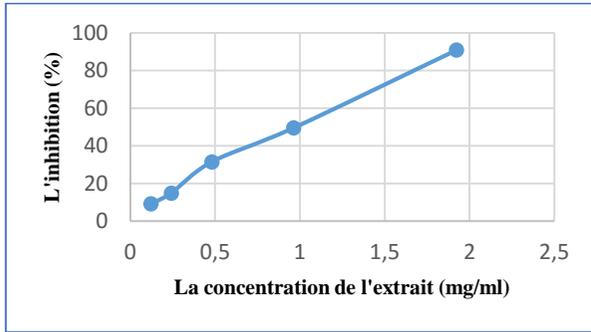
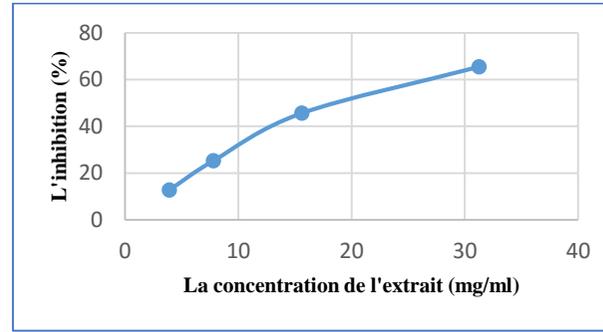


Figure 99: Le pouvoir réducteur du pois vert

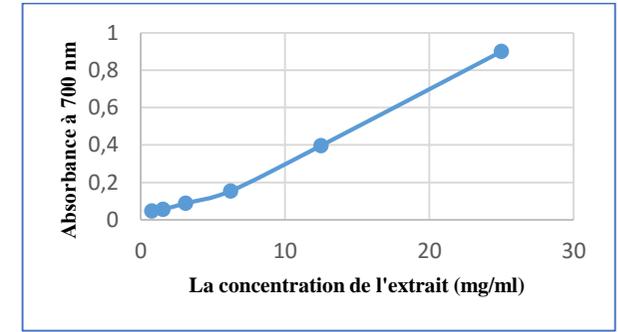
## Annexe 2



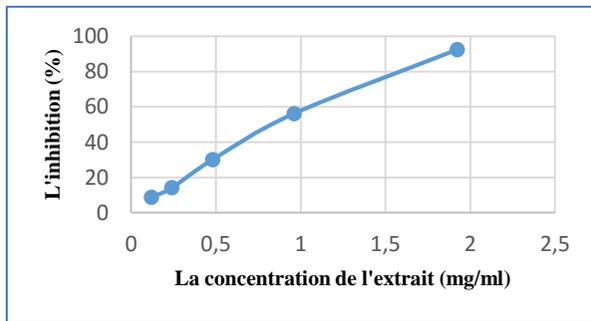
**Figure 100 :** L'activité antiradicalaire de la pêche vis-à-vis le radical DPPH



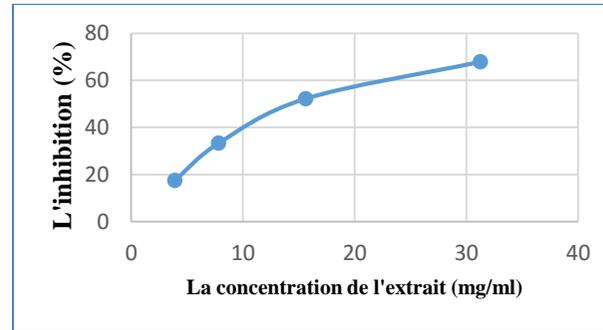
**Figure 101 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de la pêche



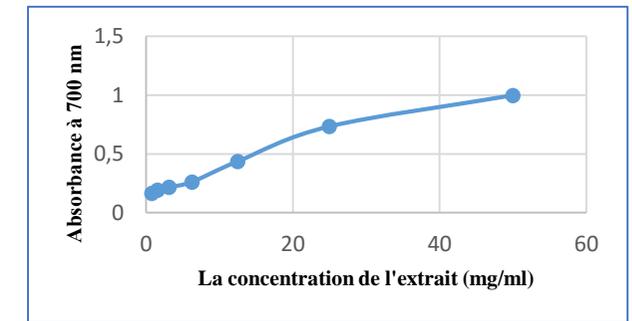
**Figure 102 :** Le pouvoir réducteur de la pêche



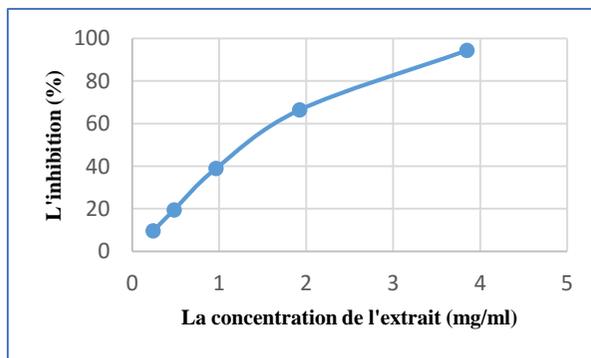
**Figure 103 :** L'activité antiradicalaire du néflier du Japan vis-à-vis le radical DPPH



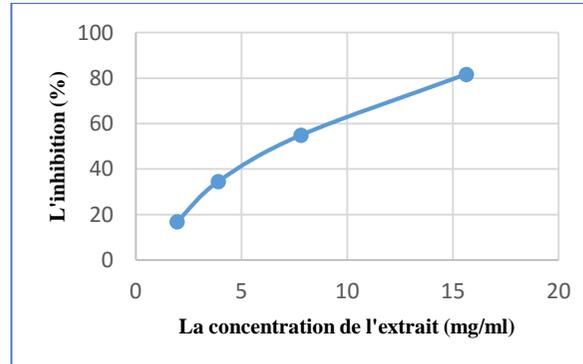
**Figure 104 :** L'activité chélatrice des ions ferreux du néflier du Japan



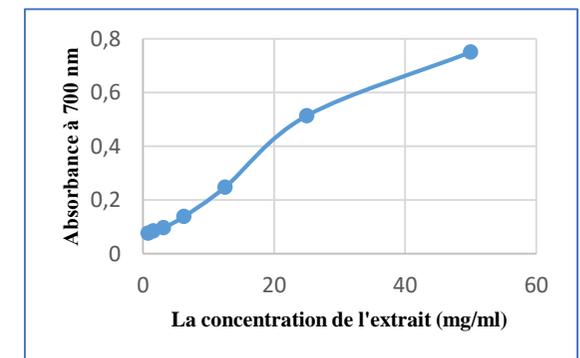
**Figure 105 :** Le pouvoir réducteur du néflier du Japan



**Figure 106 :** L'activité antiradicalaire de l'abricot vis-à-vis le radical DPPH

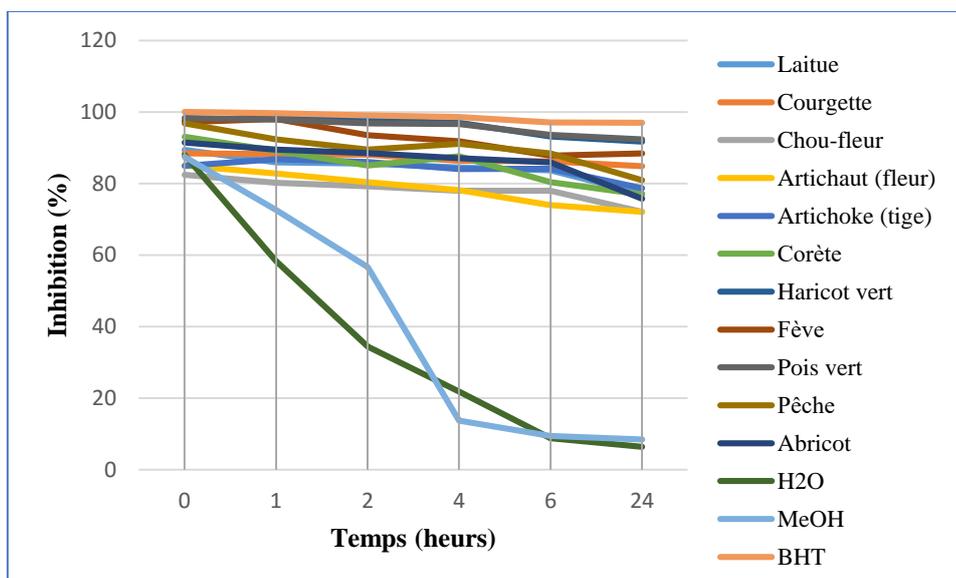


**Figure 107 :** L'activité chélatrice des ions ferreux de l'abricot

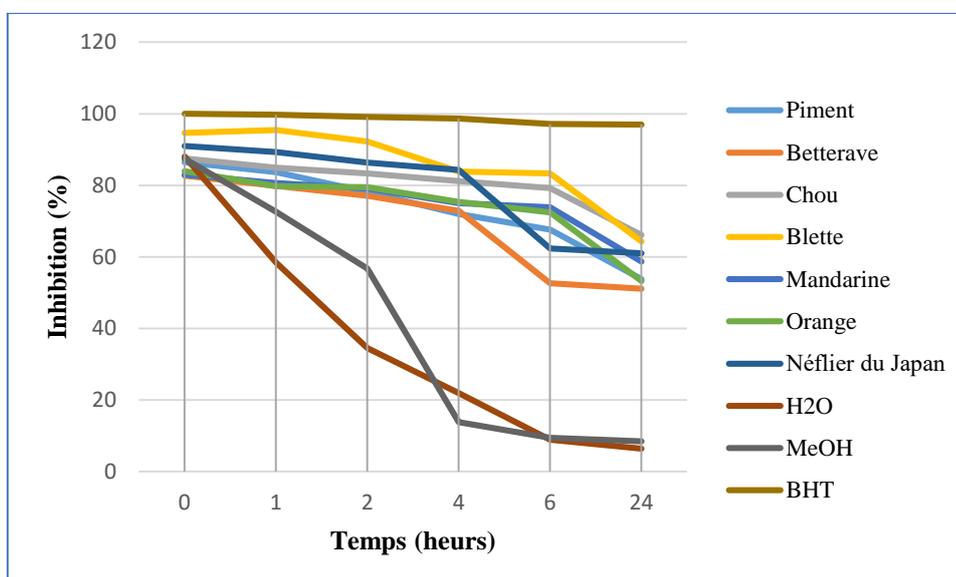


**Figure 108 :** Le pouvoir réducteur de l'abricot

### Annexe 3

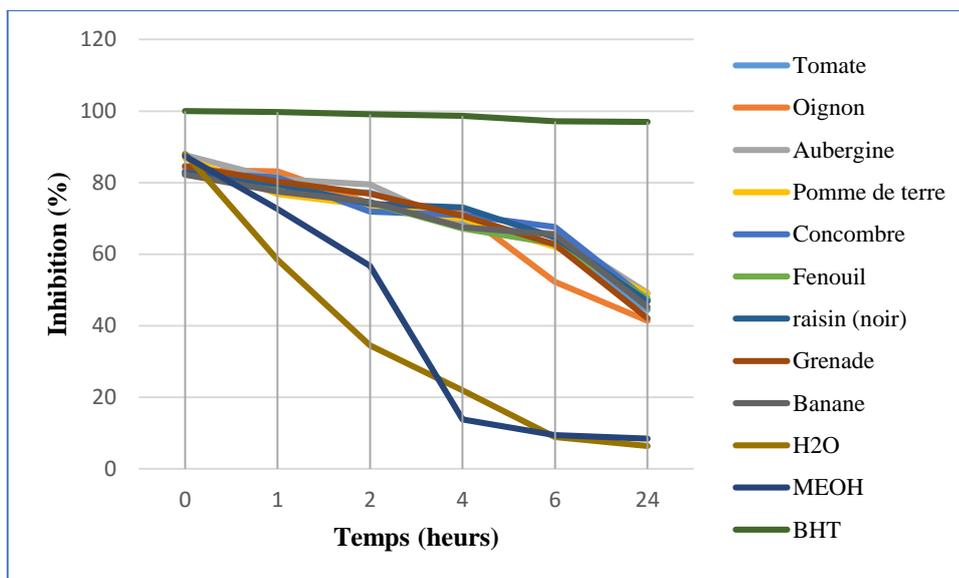


**Figure 1 :** Le changement du pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique des extraits de fruits et légumes (le groupe qui une activité antioxydante élevée) par la méthode de blanchissement de  $\beta$ -carotène, en comparaison avec le BHT comme un antioxydant standard durant 24 h d'incubation.

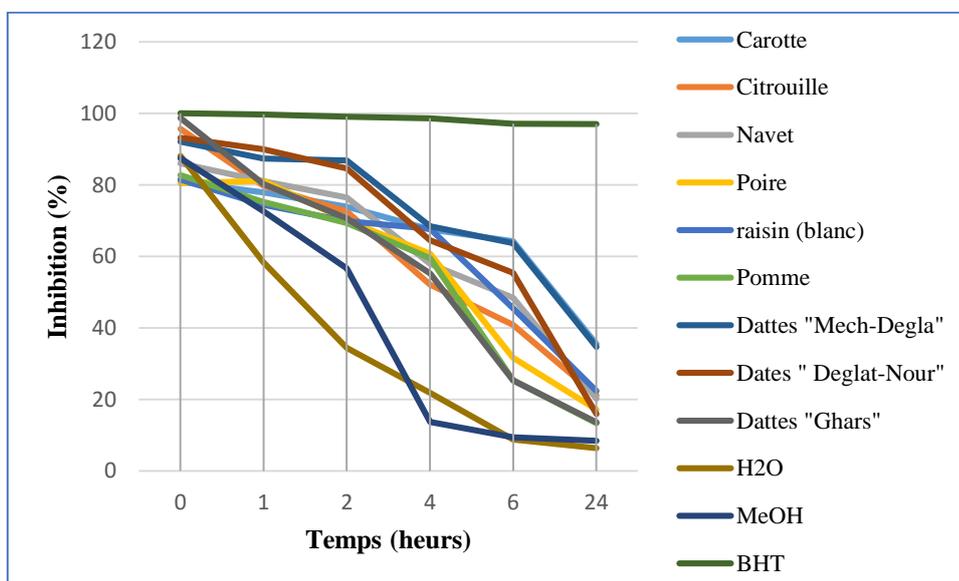


**Figure 2 :** Le changement du pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique des extraits de fruits et légumes (le groupe qui une activité antioxydante moyenne) par la méthode de blanchissement de  $\beta$ -carotène, en comparaison avec le BHT comme un antioxydant standard durant 24 h d'incubation.

### Annexe 3

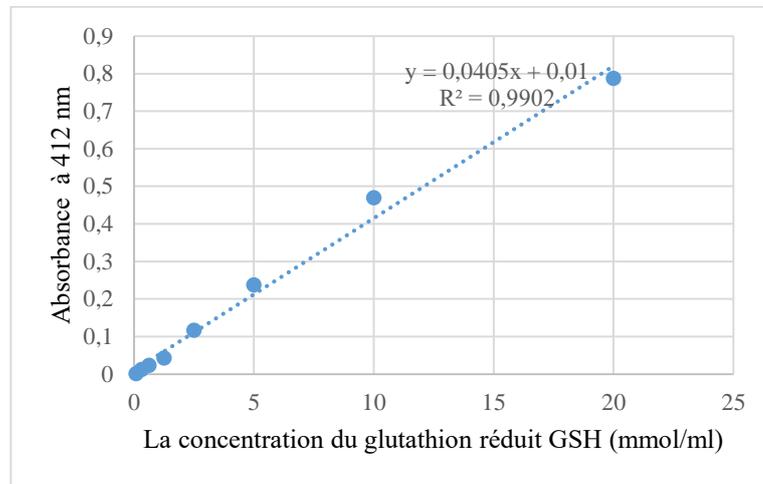


**Figure 3 :** Le changement du pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique des extraits de fruits et légumes (le groupe qui une activité antioxydante faible) par la méthode de blanchissement de  $\beta$ -carotène, en comparaison avec le BHT comme un antioxydant standard durant 24 h d'incubation.

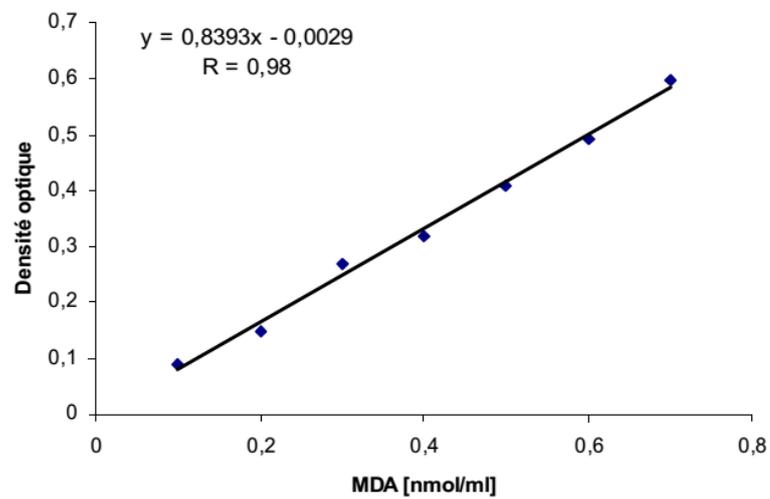


**Figure 4 :** Le changement du pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique des extraits de fruits et légumes (le groupe qui une activité antioxydante très faible) par la méthode de blanchissement de  $\beta$ -carotène, en comparaison avec le BHT comme un antioxydant standard durant 24 h d'incuba

## Annexe 4



**Figure 1 :** Droite d'étalonnage du glutathion réduit (GSH)



**Figure 2 :** Droite d'étalonnage du malondialdéhyde (MDA)

# Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria

*Habiba Djenidi, Seddik Khennouf, Amel Bouaziz*

Laboratory of Phytotherapy Applied to Chronic Diseases, Department of Biology and Animal Physiology, Faculty of Nature and Life Sciences, University Setif 1, Algeria - E-mail: habibadjenidi@yahoo.fr

**Summary.** The purpose of this study was to evaluate the phenolic content and the antioxidant activity of some commonly foods consumed in Algeria. 22 vegetables and 14 fruits extracts were evaluated for their polyphenolic content and antioxidant potential using different methods. Results showed that beans, cauliflower and courgette were rich in total polyphenols. However, Jew's mallow was the richest in flavonoids and the highest content of tannins was noticed in the pomegranate. The antioxidant activity of fruits and vegetables extracts using  $\beta$ -carotene bleaching assay showed that lettuce, courgette, cauliflower, artichoke, mallow, bean, green bean, green pea, peach and apricot were the most effective with antioxidant activity percentage greater than 70%. However, eggplant, lettuce, courgette, artichoke, mallow, chard, green bean, green pea, black grapes and pomegranate showed the highest antioxidant activity against DPPH radical with  $IC_{50} \leq 0.8$  mg/ml. Also, potato, lettuce, carrot, courgette, pumpkin, turnip, cucumber, fennel, cauliflower, cabbage, artichoke (flower), Jew's mallow, chard, green bean, bean and green pea showed the highest chelating activity with  $IC_{50} \leq 0.8$  mg / ml and onion, potato, courgette, Jew's mallow, chard, green bean, bean and green pea showed the highest reducing power ( $IC_{50} \leq 5$  mg / ml). Finally, these selected consumed fruits and vegetables are natural source of polyphenols and have an important antioxidant activity and their consumption may reduce the risk of pathologies induced by oxidative stress.

**Keywords:** antioxidant activity, phenolic content, fruits, vegetables, DPPH, chelating activity, reducing power,  $\beta$ -carotene bleaching

## Introduction

Oxidative stress is an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant defense mechanisms, leading to damage to lipids, proteins and nucleic acids (1), which are involved in several diseases such as cancer, aging skin, inflammatory, cardiovascular and neurodegenerative diseases (2).

Antioxidants which can neutralize free radicals are of great importance in preventing the development of these diseases (3). Thus, to avoid the toxic effect of synthetic antioxidants, many studies have investigated new antioxidants of natural origin as polyphenols (4).

Polyphenols are bioactive compounds usually found in fruits, vegetables, legumes, grains, chocolate,

and beverages such as fruit juices, tea, coffee and red wine (5). These secondary metabolites can act as scavengers of free radicals which are responsible for the initiation of oxidation, as well as chain breaking antioxidants, singlet oxygen deactivators, reducing agents, metal chelating agents and inhibitors of specific oxidative enzymes (6).

Many studies showed that diets rich in fruits and vegetables are good antioxidants and can reduce the risk of development of many diseases associated with oxidative stress as cancers, atherosclerosis, aging, inflammatory, cardiovascular and neurodegenerative diseases (7, 8).

The health effects of polyphenols and their properties, especially when these compounds are present in

large quantities in food, are important to consumers, which requires the evaluation of their antioxidant activity. Thus, the objective of this study was to evaluate the total polyphenols content and *in vitro* antioxidant activity of some consumed vegetables and fruits in Algeria.

## Material and methods

### *Plants materials*

All fresh vegetables and fruits used in this study (Table 1) were bought from the local market in Biskra (south eastern of Algeria) and Setif (north eastern of Algeria) regions at the time of their most frequent consumption during 2012-2013. At least 1 kg of the good quality produces without bruises and damage were purchased.

### *Extraction of phenolics from food samples*

The extraction was carried out according to the method described by Hossain et al (9). 1 kg of consumed part of fresh fruits and vegetables previously cleaned and washed with distilled water, except for Jew's mallow which was used in dry form were cut into small pieces and crushed. Then 100 g of each crushed material were macerated in 625 ml of methanol / water mixture (80/20: V / V) for 3 days at 4 °C. The macerate was filtered and the filtrate was subjected to a rotary evaporation under reduced pressure at 45 °C. The extract obtained was dried and stored at 4 °C until use.

### *Determination of total phenolic content*

Total polyphenol content was assayed by Folin-Ciocalteu reagent described by Li et al (10). 100 µl of each extract were added to 500 µl of Folin-Ciocalteu reagent (10 times diluted in distilled water). After 4 min of incubation, 400µl of 7.5% sodium carbonate were added and the solution mixtures were kept in the dark for 1 h and 30 min at room temperature. Then, the absorbance of each solution was read at 765 nm against a blank by a spectrophotometer.

The concentration of the total polyphenols was calculated from the regression equation of the calibration curve of gallic acid at different concentrations (12.5 to 100 µg/ml) and expressed in micrograms of

gallic acid equivalent per milligram of dry extract (µg of GAE / mg of extract).

### *Determination of total flavonoids content*

The flavonoids evaluation was assayed by the method of Quettier-Deleu et al (11) using aluminum trichloride (AlCl<sub>3</sub>). 500µl of each extract was added to an equal volume of a solution of AlCl<sub>3</sub> (2% in methanol). The mixture was vigorously stirred and after 10 minutes of incubation, the absorbance was read at 430 nm by a spectrophotometer. The quantification of flavonoids was evaluated from the calibration curve of quercetin at different concentrations (1.25 to 40 µg /ml). The results were expressed in micrograms of quercetin equivalent per milligram of dry extract (µg of QE / mg of extract).

### *Determination of total tannins content*

Tannins were assayed by the method described by Bate-Smith (12). A volume of 500 µl of fresh bovine blood (which had an absorbance equal to 1.6 at a wavelength of 576 nm) was added to 500 µl of the extract. After stirring and centrifugation for 10 min at 4000 rpm, the absorbance of the supernatant was read at 576 nm. The quantification of tannins was carried out using the calibration curve of tannic acid at different concentrations (200 to 600 µg/ml).

The results were expressed in micrograms of equivalent tannic acid per milligram of dry extract (µg of TAE / mg of extract).

### *In vitro antioxidant activity*

The diversity of nature and the structure of plant compounds require the development of many methods to evaluate their antioxidant activity. Thus, different methods are used to measure the antioxidant activity of the extracts. Each method uses or generates a different radical that is involved in the oxidation process. Only one method is insufficient to represent the total antioxidant capacity of the extracts, and for this purpose four different tests were used to evaluate the antioxidant activities of the extracts which are DPPH radical scavenging assay, ferrous ion chelating, ferric reducing power and β-carotene/ linoleic acid bleaching assay.

**Table 1.** Common name, region of purchase, scientific name and used part of fruits and vegetables

	Common name	Region of purchase	Scientific name	Used part
Vegetables	Artichoke (flower)	Setif	<i>Cynara cardunculus</i> L.var. <i>scolymus</i>	Flower
	Artichoke (stem)	Setif	<i>Cynara cardunculus</i> L.var. <i>scolymus</i>	Stem
	Bean	Setif	<i>Vicia faba</i> L.	Seed
	Beetroot	Biskra	<i>Beta vulgaris</i> L.var. <i>rapacea</i> Koch	Root
	Cabbage	Setif	<i>Brassica oleracea</i> L.	Leaves
	Carrot	Biskra	<i>Daucus carota</i> ssp. <i>sativus</i>	Tuber
	Cauli flower	Biskra	<i>Brassica oleracea</i> L.	Flower
	Chard	Setif	<i>Beta vulgaris</i> L.var. <i>cicla</i> Pers	Leaves
	Courgette	Biskra	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Fruit
	Cucumber	Biskra	<i>Cucumis sativus</i> L.	Fruit
	Eggplant	Biskra	<i>Solanum melongena</i> L.	Fruit
	Fennel	Biskra	<i>Foeniculum dulce</i> Mill.	Leaves
	Green bean	Setif	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fruit (clove)
	Green pea	Setif	<i>Pisum sativum</i>	Seed
	Jew's mallow	Biskra	<i>Corchorus olitorius</i> L.	Leaves
	Lettuce	Setif	<i>Lactuca sativa</i> L.	Leaves
	Onion	Biskra	<i>Allium cepa</i> L.	Bulb
	Pepper	Biskra	<i>Capsicum annum</i> L.	Fruit
	Potato	Biskra	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Tuber
	Pumpkin	Setif	<i>Cucurbita maxima</i> Duch.	Fruit
Tomato	Biskra	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Fruit	
Turnip	Biskra	<i>Brassica napus</i> L.	Root	
Fruits	Apple	Biskra	<i>Malus communis</i> Poir.	Fruit
	Apricot	Setif	<i>Prunus armeniaca</i> L.	Fruit
	Banana	Setif	<i>Musa sapientum</i> L.	Fruit
	Dates "Deglat-Nour"	Biskra	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Fruit
	Dates "Ghars"	Biskra	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Fruit
	Dates "Mech-Degla"	Biskra	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Fruit
	Grapes (black)	Biskra	<i>Vitis venifera</i> L.	Fruit
	Grapes (white)	Biskra	<i>Vitis venifera</i> L.	Fruit
	Mandarin	Setif	<i>Citrus reticulata</i>	Fruit
	Medlar of Japan	Setif	<i>Eryobotrya japonica</i> Lindl.	Fruit
	Orange	Setif	<i>Citrus sinensis</i> Osb.	Fruit
	Peach	Setif	<i>Prunus persica</i> L.	Fruit
	Pear	Biskra	<i>Pyrus communis</i> L.	Fruit
	Pomegranate	Setif	<i>Punica granatum</i> L.	Fruit

#### DPPH radical scavenging assay

The DPPH radical scavenging method is a spectrophotometric procedure used to determine the antioxidant capacity of the components. It is based on the ability of the DPPH radical to discolor from purple to

yellow color in the presence of antioxidants by accepting an electron or hydrogen atom given by an antioxidant compound (13).

The antiradical activity of the extracts in this study was measured by the 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl

(DPPH) test according to the method of Brand-Williams et al (14) with slight modification. A range of extract concentrations and quercetin as antioxidant reference were prepared. A volume of 50 $\mu$ L of each extract solution was mixed with 1.25 ml of DPPH (0.04 mg / ml) prepared in methanol. After stirring, the mixture was incubated for 30 minutes in the darkness at room temperature and the absorbance was read at 517 nm against a blank. The inhibition of free radical activity was calculated according to the following equation: **The antiradical activity (%) = [(Abs<sub>control</sub> - Abs<sub>sample</sub>) / Abs<sub>control</sub>] x 100.**

The IC<sub>50</sub>, which is the concentration of extract or quercetin responsible for 50% of inhibition of DPPH radical was determined from the plot of inhibition percentage against extract or quercetin concentration.

#### *Ferrous ions chelating activity*

Transition metal ions such as copper and iron are important for the generation of highly reactive hydroxyl radicals via the Fenton reaction in *in vivo* and *in vitro* systems. Compounds that bind to metal ions can alter the redox potential of these ions, making them catalytically silent. Therefore, compounds that can act as effective chelators for the sequestration of copper and iron ions are considered antioxidants by intercepting and / or suppressing radicals (15).

The chelating activity of the extracts was measured following the inhibition of the formation of the Fe (II) -Ferrozine complex after incubation of the samples with divalent iron according to the method described by Le et al (16). The sample solutions (250  $\mu$ l) were initially mixed with 50  $\mu$ l FeCl<sub>2</sub> (0.6 mM in distilled water) and 450  $\mu$ l of methanol. After 5 min, 50  $\mu$ l of ferrozine (5 mM in methanol) were added to the reaction medium and the mixture was stirred well and then left to react for 10 min at room temperature. The red chromophore (Fe (II) -Ferrozine) had maximum absorption at 562 nm and the chelation activity was calculated according to the following equation:

$$\text{The chelating activity (\%)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}})}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$$

Where IC<sub>50</sub> is the concentration of extract responsible for chelate 50 % of iron ions.

#### *Ferric reduction power*

The reducing power of the extracts can provide a significant indication of the potential antioxidant

activity of the plant. The presence of antioxidants in the extracts would result in the reduction of Fe<sup>3+</sup> to Fe<sup>2+</sup> by giving an electron. The amount of Fe<sup>2+</sup> complex can be monitored by measuring the absorbance at 700 nm (13).

The reducing capacity of the various vegetables and fruits extracts was evaluated using the method of Ozsoy et al (17). 100 $\mu$ l of each extract was mixed with 100  $\mu$ l of phosphate buffer solution (0.2 M, pH 6.6) and 100 ml of 1% potassium hexacyanoferrate solution. The mixture was incubated for 20 minutes at 50 ° C in a water bath. After that, 250  $\mu$ l of 1% trichloroacetic acid was added and the mixture was centrifuged for 10 minutes. Then, 250  $\mu$ l of the supernatant were taken and mixed with 250  $\mu$ l of distilled water and 500  $\mu$ l of 0.1% aqueous solution of FeCl<sub>3</sub>. The absorbance was read at 700 nm. A calibration curve was plotted from the line obtained with the BHT used as reference at different concentrations. The IC<sub>50</sub> value was defined as the effective concentration of the extract or standard which had the absorbance of 0.5.

#### *$\beta$ -carotene/ linoleic acid bleaching assay*

The  $\beta$ -carotene bleaching test measures the ability of antioxidants to retard the  $\beta$ -carotene decolorization induced by conjugated diene hydroperoxides resulting from the oxidative degradation of linoleic acid (13).

In this test, the antioxidant capacity of the extracts is determined according to the method of Kartal et al (18). 25  $\mu$ l of linoleic acid and 200 mg of tween 40 were added to 0.5 mg of  $\beta$ -carotene dissolved in 1 ml of chloroform. After evaporation of chloroform by a rotavapor, 100 ml of distilled water saturated with oxygen were added with vigorous stirring. 2.5 ml of this emulsion were transferred into tubes and 350  $\mu$ l of each extract or BHT as reference antioxidant with a concentration of 2 mg / ml were added. The kinetics of discoloration of the emulsion in the presence and the absence of antioxidant (negative control in which the sample was replaced by 350  $\mu$ l of methanol) was monitored at 490 nm at regular intervals of time for 24 hours. The relative antioxidant activity of the extracts was calculated according to the following equation:

$$\text{Antioxidant Activity (\%)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{BHT}})}{\text{Abs}_{\text{BHT}}} \times 100$$

### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the Graph Pad Prism software (version 5.01 for Windows). The results were presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD) and were analyzed by the one way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's test. For the comparison of the results, the  $P \leq 0.05$  values were considered statistically significant.

## Results

### Total phenolic content

Phenolic compounds are widely distributed in the plant kingdom and have significant antioxidant activity because of their ability to yield hydrogen and to form stable intermediate radicals. The total polyphenols, flavonoids and tannins contents of vegetables and fruits was presented in Table 2 and 3.

**Table 2.** Polyphenols, flavonoids, tannins content in vegetables

Common name	Polyphenols content in extract ( $\mu\text{g GAE/mg}$ )	Flavonoids content in extract ( $\mu\text{g QE/mg}$ )	Tannins content in extract ( $\mu\text{g TAE/mg}$ )
Artichoke (flower)	108 $\pm$ 5.34	0.89 $\pm$ 0.02	2.74 $\pm$ 0.17
Artichoke (stem)	34.51 $\pm$ 4.35	1.46 $\pm$ 0.03	3.47 $\pm$ 0.07
Bean	360.2 $\pm$ 8.20	11.07 $\pm$ 0.56	7.89 $\pm$ 0.04
Beetroot	87.11 $\pm$ 3.79	2.37 $\pm$ 0.06	17.91 $\pm$ 0.74
Cabbage	62.22 $\pm$ 1.35	0.73 $\pm$ 0.09	4.48 $\pm$ 0.03
Carrot	43.88 $\pm$ 1.72	1.43 $\pm$ 0.05	7.35 $\pm$ 0.04
Cauliflower	340.22 $\pm$ 4.66	2.78 $\pm$ 0.28	5.26 $\pm$ 0.01
Chard	255.88 $\pm$ 4.87	32.13 $\pm$ 0.99	19.59 $\pm$ 0.12
Courgette	305.85 $\pm$ 3.79	19.93 $\pm$ 0.35	21.59 $\pm$ 0.12
Cucumber	69.11 $\pm$ 2.78	0.34 $\pm$ 0.00	5.53 $\pm$ 0.02
Eggplant	292.96 $\pm$ 4.29	4.50 $\pm$ 0.16	8.68 $\pm$ 0.18
Fennel	43.77 $\pm$ 9.23	0.53 $\pm$ 0.01	2.70 $\pm$ 0.21
Green bean	91.92 $\pm$ 9.00	2.53 $\pm$ 0.06	8.47 $\pm$ 0.52
Green pea	259.2 $\pm$ 3.95	10.07 $\pm$ 0.80	9.06 $\pm$ 0.06
Jew's mallow	276.37 $\pm$ 5.30	34.8 $\pm$ 0.80	20.91 $\pm$ 1.24
Lettuce	300.66 $\pm$ 5.97	12.28 $\pm$ 0.25	8.81 $\pm$ 0.25
Onion	245.88 $\pm$ 7.07	4.38 $\pm$ 0.07	6.54 $\pm$ 0.91
Pepper	294.07 $\pm$ 5.62	2.49 $\pm$ 0.20	6.51 $\pm$ 0.01
Potato	167.22 $\pm$ 3.61	2.72 $\pm$ 0.23	5.88 $\pm$ 0.24
Pumpkin	80 $\pm$ 3.14	2.90 $\pm$ 0.00	2.98 $\pm$ 0.51
Tomato	197.40 $\pm$ 9.06	2.08 $\pm$ 0.04	8.04 $\pm$ 0.54

Results were expressed as mean  $\pm$ SD, n=3

### Total phenolic content

As seen in Table 2, the total polyphenols content in vegetables ranged from 34.51 to 360.2  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract. Bean, cauliflower, courgette and lettuce showed the highest total polyphenol contents with values of 360.2  $\pm$  8.20, 340.22  $\pm$  4.66, 305.85  $\pm$  3.79 and 300.66  $\pm$  5.97  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract, respectively, followed by pepper (294.07  $\pm$  5.62  $\mu\text{g}$  GAE / mg extract), eggplant (292.96  $\pm$  4.29  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract) and Jew's mallow (276.37  $\pm$  5.30  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract).

However, artichoke stems (34.51  $\pm$  4.35  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract), fennel (43.77  $\pm$  9.23  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract), cabbage (62.22  $\pm$  1.35  $\mu\text{g}$  of GAE / mg extract) and cucumber (69.11  $\pm$  2.78  $\mu\text{g}$  GAE / mg extract) contained low phenolics content.

Concerning the quantification of phenolics in fruits, it was found that the pomegranate contained the highest total polyphenols content (200.51  $\pm$  1.26  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract) followed by pear (151.55  $\pm$  1.25  $\mu\text{g}$  of GAE / mg of extract), apple (115.77  $\pm$  0.00  $\mu\text{g}$  of

**Table 3.** Polyphenols, flavonoids, tannins content in fruits

Common name	Polyphenols content in extract ( $\mu\text{g GAE/mg}$ )	Flavonoids content in extract ( $\mu\text{g QE/mg}$ )	Tannins content in extract ( $\mu\text{g TAE/mg}$ )
Apple	115.77 $\pm$ 0.00	1.19 $\pm$ 0.01	5.33 $\pm$ 0.09
Apricot	48.3 $\pm$ 4.76	0.66 $\pm$ 0.13	2.26 $\pm$ 0.01
Banana	41.55 $\pm$ 2.19	0.04 $\pm$ 0.00	3.65 $\pm$ 0.02
Dates "Deglat-Nour" cultivar	84.15 $\pm$ 3.14	0.22 $\pm$ 0.01	1.86 $\pm$ 0.00
Dates "Ghars" cultivar	56.77 $\pm$ 1.72	0.20 $\pm$ 0.06	2.25 $\pm$ 0.10
Dates "Mech-Degla" cultivar	29.48 $\pm$ 7.18	2.94 $\pm$ 0.05	1.77 $\pm$ 0.06
Grapes (black)	91 $\pm$ 2.98	0.63 $\pm$ 0.02	4.99 $\pm$ 0.07
Grapes (white)	92.11 $\pm$ 3.45	0.41 $\pm$ 0.05	5.17 $\pm$ 0.01
Mandarine orange	115.25 $\pm$ 0.12	0.08 $\pm$ 0.00	10.91 $\pm$ 0.29
Medlar of Japan	80.36 $\pm$ 1.40	0.83 $\pm$ 0.09	1.84 $\pm$ 0.02
Orange	65.22 $\pm$ 1.72	1.14 $\pm$ 0.00	7.50 $\pm$ 0.19
Peach	46.86 $\pm$ 8.30	1.05 $\pm$ 0.11	2.27 $\pm$ 0.01
Pear	151.55 $\pm$ 1.25	1.03 $\pm$ 0.03	5.15 $\pm$ 0.10
Pomegranate	200.51 $\pm$ 1.26	0.86 $\pm$ 0.16	39.44 $\pm$ 0.83

Results were expressed as mean  $\pm$ SD, n=3

GAE / mg of extract) and mandarin ( $115.25 \pm 0.12 \mu\text{g}$  of GAE / mg of extract) (Table 3).

#### *Total flavonoids content*

As shown in Table 2, flavonoids content in vegetables ranged from  $0.34 \pm 0.00$  to  $34.8 \pm 0.80 \mu\text{g}$  of QE / mg of extract. Cucumber, turnip and fennel contained the lowest content, while Jew's mallow, chard, courgette and lettuce contained the highest flavonoids content with values of  $34.8 \pm 0.80$ ,  $32.13 \pm 0.99$ ,  $19.93 \pm 0.35$  and  $12.28 \pm 0.25 \mu\text{g}$  of QE / mg of extract, respectively. However, the dates "Mech-Degla", apple, orange, contained the highest content of flavonoids ( $2.94 \pm 0.05$ ,  $1.19 \pm 0.01$ ,  $1.14 \pm 0.00 \mu\text{g}$  of QE / mg of extract respectively) (Table 3).

#### *Total tannins content*

As shown in Table 2, tannins content in the vegetables was found to be ranged from  $2.70 \pm 0.21$  to  $21.59 \pm 1.24 \mu\text{g}$  of TAE / mg of extract. Courgette contained the highest content ( $21.59 \pm 0.12 \mu\text{g}$  of TAE / mg of extract) followed by Jew's mallow ( $20.91 \pm 1.24 \mu\text{g}$  of TAE / mg of extract), chard ( $19.59 \pm 0.12 \mu\text{g}$  of TAE / mg of extract) and beetroot ( $17.91 \pm 0.74 \mu\text{g}$  of TAE / mg of extract). Whereas, the pomegranate was the richest fruit in tannins with a content of  $39.44 \pm 0.83 \mu\text{g}$  of TAE / mg of extract (Table 3).

#### *In vitro antioxidant activity*

The antioxidant activity of 22 vegetables and 14 fruits extracts assessed by DPPH radical scavenging assay, ferrous ion chelating assay, reducing power and  $\beta$ -carotene/linoleic acid bleaching assay were presented in Table 4 and 5.

#### *DPPH radical scavenging activity*

In this study (Table 4 and 5), green bean, Jew's mallow, lettuce, eggplant, artichoke (flower), courgette, green pea, chard, pomegranate and black grapes showed high antioxidant activity against DPPH radical with  $\text{IC}_{50} \leq 0.8 \text{ mg/ml}$ . Pepper, tomato, onion, potato, beetroot, pumpkin, cauliflower, cabbage, bean, white grapes, apple, peach, medlar of Japan and apricot had  $\text{IC}_{50}$  value ranged between 0.8 and 2 mg / ml. Whereas, carrot, turnip, cucumber, fennel, artichoke (stem), pear, banana, mandarin, orange and dates had low antiradical activity with  $\text{IC}_{50} \geq 2 \text{ mg / ml}$ .

#### *Ferrous ion chelating activity*

As shown in Table 4 and 5, vegetables and fruits can be classified into four groups according to their chelating capacity (high, medium, low chelating capacity).

The chelating potential of the extracts was inversely proportional to the  $\text{IC}_{50}$  value. Vegetables and fruits with high chelating activity included potato, lettuce, carrot, courgette, pumpkin, turnip, cucumber, fennel, cauliflower, cabbage, artichoke (flower), Jew's mallow, chard, green bean, bean and green pea with  $\text{IC}_{50} \leq 0.8 \text{ mg / ml}$ . Pepper, onion, eggplant, white grapes and dates "Ghars" showed  $\text{IC}_{50}$  between 0.8 and 2 mg / ml. Tomato, beetroot, artichoke (stem), pear, black grapes, apple, pomegranate, banana, mandarin, orange, peach, medlar of Japan, apricot, dates "Mech-Degla" and "Deglat-Nour" had low chelating activity ( $\text{IC}_{50} \geq 2 \text{ mg / ml}$ ).

#### *Ferric reducing power*

In the same manner, vegetables and fruits have been classified into four groups according to their reducing capacity (high, medium, low reducing capacity).

Table 4 and 5 showed that extracts with high antioxidant activity ( $\text{IC}_{50} \leq 5 \text{ mg / ml}$ ) included onion, potato, courgette, Jew's mallow, chard, green bean, bean and green pea. Tomato, eggplant, pumpkin, turnip, cabbage, artichoke (flower), artichoke (stem), and pomegranate had the medium activity with  $\text{IC}_{50}$  ranged between 5 and 10 mg / ml. However, extracts with low reducing power ( $\text{IC}_{50} \geq 10 \text{ mg / ml}$ ) included pepper, lettuce, carrot, beetroot, cucumber, fennel, cauliflower, pear, black grapes, white grapes, apple, banana, mandarin, orange, peach, apricot, medlar of Japan and dates.

#### *$\beta$ -carotene/ linoleic acid bleaching assay*

According to our results, the tested fruits and vegetables can be classified also into four groups according to their antioxidant activity which is ranging from 13 % to 92% (high, medium, low and very low).

From the 22 vegetable and 14 fruit extracts which were tested for their inhibition of linoleic acid oxidation, 7 vegetables and 2 fruits were found in the group that had high antioxidant activity (> 70%) including lettuce, courgette, artichoke (flower), artichoke (stem),

Jew's mallow, green bean, bean, green peas, peach and apricot. The group having a medium activity (50-70%) was represented by pepper, beetroot, cabbage, chard, mandarin, orange, medlar of Japan. However, tomato, onion, eggplant, potato, cucumber, fennel, black grapes, pomegranate and banana represented a group with a low antioxidant activity (<50%). Carrot, pumpkin, turnip, pear, white grapes, apple and dates showed a very low antioxidant activity percent (<40%) (Table 4 and 5).

## Discussion

In the present study, the total phenolic, flavonoids and tannins contents of 14 fruits and 22 vegetables consumed commonly in Algeria were evaluated and their antioxidant activity using four different antioxidant assays were also assessed.

Phenolic compounds such as flavonoids and tannins are widely distributed in fruits and vegetables and have gained much attention due to their antioxidant

**Table 4:** Antioxidant activities of vegetables extracts

Common name	DPPH radical scavenging assay (IC <sub>50</sub> mg/ml)	Ferrous ion chelating activity (IC <sub>50</sub> mg/ml)	Ferric reducing power (EC <sub>50</sub> mg/ml)	β-carotene / linoleic acid assay bleaching assay (% of inhibition after 24 h of incubation)
Artichoke (flower)	0.36±0.02 <sup>(d)</sup>	0.04±0.01 <sup>(a)</sup>	7.73±0.076 <sup>(d)</sup>	72.12±2.53 <sup>(d)</sup>
Artichoke (stem)	4.02±0.28 <sup>(d)</sup>	2.21±0.16 <sup>(d)</sup>	7.68±0.57 <sup>(d)</sup>	78.73±1.43 <sup>(d)</sup>
Bean	1.58±0.04 <sup>(d)</sup>	0.09±0.00 <sup>(a)</sup>	4.08±0.20 <sup>(d)</sup>	88.42±2.97 <sup>(a)</sup>
Beetroot	1.76±0.01 <sup>(d)</sup>	5.23±0.17 <sup>(d)</sup>	37.30±1.27 <sup>(d)</sup>	51.11±5.37 <sup>(d)</sup>
Cabbage	1.79±0.06 <sup>(d)</sup>	0.22±0.01 <sup>(d)</sup>	9.07±0.18 <sup>(d)</sup>	66.06±3.64 <sup>(d)</sup>
Carrot	3.77±0.06 <sup>(d)</sup>	0.32±0.01 <sup>(d)</sup>	76.25±1.90 <sup>(d)</sup>	35.45±5.38 <sup>(d)</sup>
Cauliflower	1.67±0.03 <sup>(d)</sup>	0.72±0.02 <sup>(d)</sup>	16.75±0.66 <sup>(d)</sup>	72.07±1.55 <sup>(d)</sup>
Chard	0.77±0.01 <sup>(d)</sup>	0.07±0.01 <sup>(a)</sup>	4.95±0.18 <sup>(d)</sup>	64.31±7.69 <sup>(d)</sup>
Courgette	0.48±0.02 <sup>(d)</sup>	0.18±0.01 <sup>(d)</sup>	3.32±0.01 <sup>(d)</sup>	84.89±2.66 <sup>(c)</sup>
Cucumber	7.21±0.24 <sup>(d)</sup>	0.17±0.00 <sup>(d)</sup>	60.91±3.46 <sup>(d)</sup>	47.17±9.22 <sup>(d)</sup>
Eggplant	0.36±0.00 <sup>(d)</sup>	1.27±0.06 <sup>(d)</sup>	7.13±0.09 <sup>(d)</sup>	49.14±5.28 <sup>(d)</sup>
Fennel	3.29±0.07 <sup>(d)</sup>	0.29±0.02 <sup>(d)</sup>	53.28±2.28 <sup>(d)</sup>	47.72±1.20 <sup>(d)</sup>
Green bean	0.04±0.00 <sup>(b)</sup>	0.23±0.00 <sup>(d)</sup>	3.44±0.31 <sup>(d)</sup>	91.70±3.37 <sup>(a)</sup>
Green pea	0.65±0.01 <sup>(d)</sup>	0.69±0.01 <sup>(d)</sup>	3.40±0.11 <sup>(d)</sup>	92.31±7.64 <sup>(a)</sup>
Jew's mallow	0.06±0.00 <sup>(d)</sup>	0.35±0.03 <sup>(d)</sup>	2.30±0.03 <sup>(d)</sup>	76.92±2.93 <sup>(d)</sup>
Lettuce	0.22±0.00 <sup>(d)</sup>	0.19±0.00 <sup>(d)</sup>	12.19±0.48 <sup>(d)</sup>	77.17±5.38 <sup>(d)</sup>
Onion	1.14±0.16 <sup>(d)</sup>	0.97±0.08 <sup>(d)</sup>	4.02±0.18 <sup>(d)</sup>	41.36±5.47 <sup>(d)</sup>
Pepper	1.71±0.01 <sup>(d)</sup>	1.63±0.01 <sup>(d)</sup>	26.02±0.57 <sup>(d)</sup>	53.78±11.54 <sup>(d)</sup>
Potato	1.02±0.11 <sup>(d)</sup>	0.32±0.02 <sup>(d)</sup>	4.32±0.05 <sup>(d)</sup>	48.93±0.46 <sup>(d)</sup>
Pumpkin	1.69±0.03 <sup>(d)</sup>	0.16±0.00 <sup>(c)</sup>	6.59±0.54 <sup>(d)</sup>	21.13±2.92 <sup>(d)</sup>
Tomato	0.96±0.01 <sup>(d)</sup>	10.17±0.83 <sup>(d)</sup>	5.22±0.60 <sup>(d)</sup>	44.39±8.18 <sup>(d)</sup>
Turnip	2.15±0.03 <sup>(d)</sup>	0.18±0.01 <sup>(d)</sup>	5.35±0.44 <sup>(d)</sup>	20.25±3.81 <sup>(d)</sup>
Rutin	0.0072±0.00			
EDTA		0.0064±0.00		
BHT			0.32±0.00	94.94±3.69
H <sub>2</sub> O				6,41±0.38
MeOH				9.59±0.74

<sup>(a)</sup> : No significant difference, <sup>(b)</sup>. \* (P<0.05), <sup>(c)</sup>.\*\* (P<0.01), <sup>(d)</sup>. \*\*\* (P<0.001) compared to standards  
Results were expressed as mean ±SD, n=3

**Table 5:** Antioxidant activities of fruits extracts

Common name	DPPH radical scavenging assay (IC <sub>50</sub> mg/ml)	Ferrous ion chelating activity (IC <sub>50</sub> mg/ml)	Ferric reducing power (EC <sub>50</sub> mg/ml)	β-carotene bleaching / linoleic acid assay (% of inhibition after 24 h of incubation)
Apple	1.65±0.04 <sup>(d)</sup>	9.18±0.11 <sup>(d)</sup>	19.68±0.48 <sup>(d)</sup>	13.38±0.31 <sup>(d)</sup>
Apricot	1.67±0.03 <sup>(d)</sup>	7.94±1.33 <sup>(d)</sup>	30.00±1.47 <sup>(d)</sup>	75.76±2.00 <sup>(d)</sup>
Banana	9.20±0.87 <sup>(d)</sup>	5.48±0.38 <sup>(d)</sup>	52.30±3.01 <sup>(d)</sup>	45.15±5.21 <sup>(d)</sup>
Dates “Deglat-Nour” cultivar	3.72±0.08 <sup>(d)</sup>	2.04±0.04 <sup>(d)</sup>	108.53±15.98 <sup>(d)</sup>	15.93±2.19 <sup>(d)</sup>
Dates “Ghars” cultivar	4.15±0.13 <sup>(d)</sup>	1.60±0.07 <sup>(d)</sup>	31.73±0.54 <sup>(d)</sup>	13.58±0.08 <sup>(d)</sup>
Dates “Mech-Degla” cultivar	4.59±0.10 <sup>(d)</sup>	2.97±0.04 <sup>(d)</sup>	195.25±10.92 <sup>(d)</sup>	34.69±16.11 <sup>(d)</sup>
Grapes (black)	0.74±0.00 <sup>(d)</sup>	3.29±0.03 <sup>(d)</sup>	16.08±0.74 <sup>(c)</sup>	46.76±0.71 <sup>(d)</sup>
Grapes (white)	1.40±0.11 <sup>(d)</sup>	1.07±0.08 <sup>(d)</sup>	16.12±2.54 <sup>(c)</sup>	22.32±2.59 <sup>(d)</sup>
Mandarin	4.92±0.09 <sup>(d)</sup>	23.41±0.60 <sup>(d)</sup>	52.07±0.02 <sup>(d)</sup>	58.68±3.84 <sup>(d)</sup>
Medlar of Japan	0.95±0.02 <sup>(d)</sup>	18.81±0.06 <sup>(d)</sup>	18.43±0.34 <sup>(d)</sup>	61.01±0.80 <sup>(d)</sup>
Orange	2.48±0.04 <sup>(d)</sup>	6.66±0.18 <sup>(d)</sup>	23.64±2.18 <sup>(d)</sup>	53.18±5.50 <sup>(d)</sup>
Peach	0.98±0.02 <sup>(d)</sup>	21.47±1.44 <sup>(d)</sup>	14.62±0.66 <sup>(c)</sup>	80.97±1.30 <sup>(d)</sup>
Pear	3.16±0.04 <sup>(d)</sup>	11.08±0.89 <sup>(d)</sup>	28.28±0.30 <sup>(d)</sup>	17.17±1.00 <sup>(d)</sup>
Pomegranate	0.32±0.01 <sup>(d)</sup>	2.78±0.36 <sup>(d)</sup>	9.58±0.22 <sup>(d)</sup>	42.02±4.97 <sup>(d)</sup>
Rutin	0.0072±0.00 <sup>(d)</sup>			
EDTA		0.0064±0.00		
BHT			0.32±0.00	94.94±3.69
H <sub>2</sub> O				6.41±0.38
MeOH				9.59±0.74

<sup>(a)</sup> : No significant difference, <sup>(b)</sup>: \* (P<0.05), <sup>(c)</sup>:\*\* (P<0.01), <sup>(d)</sup>: \*\*\* (P<0.001) compared to standards.

Results were expressed as mean ±SD, n=3

activities and free radical scavenging abilities, which potentially have benefit for human health. Thus, many reports had evaluated the phenolic content of fruits and vegetables (7).

Results obtained in the present study revealed that the level of these phenolic compounds in beans, cauliflower and courgette extract were considerable. In comparison with other studies, the total polyphenols content in tomato, onion, courgette, white grapes, orange, bean, lettuce, eggplant and pepper have been found in this study were higher than those of Cie lik et al (19), Liu et al (20), Baginsky et al (21) and Mokhtar et al (22). However, phenolic content in cauliflower, carrot and pea were lower than those of Dos Reis et al (23) and Kähkönen et al (24). The total phenolic content estimated in pomegranate (200.51 ± 1.26 µg of GAE / mg of extract) was higher than that of Derakhshan et al (25) which was equal to 23.8 ± 6.74 µg GAE/mg of juice extract.

Flavonoids are plant polyphenols found frequently in fruits, vegetables, and grains and are divided into several subclasses including anthocyanins, flavanols (catechins), flavones, flavanones, and flavonols (26).

The flavonoids content in this study was higher in Jew's mallow and chard which were higher than those of Oboh (27) and Sacan and Yanardag (28). However, the flavonoids content in three varieties of dates and courgette were higher than those of other authors (29, 30).

The orange, red, and blue or violet coloration in vegetables, fruits, flowers, and plant storage tissue are due to water-soluble anthocyanins, which are natural pigments reduced from the yellow flavonoids due to loss of oxygen (26). Thus, the anthocyanins detected in eggplant, onion, apple, black grapes and pomegranate may be considered as responsible for the high phenolic content in this study.

Tannins are a group of polyphenols present in various concentrations in many fruits and vegetables

consumed by human. Studies revealed that the phyto-constituents belonging to tannins class possess potent antioxidant activity; some exhibit radical scavenging activity as well (31).

The obtained results showed that the highest level of tannins was detected in the pomegranate which was higher than that of Orak et al (32) who estimated the tannin content in Turkish pomegranate ( $16.38 \pm 0.35 \mu\text{g TAE/mg}$  of juice extract). Several classes of pomegranate tannins include ellagitannin such as ellagic acid, punicalagin and punicalin that are found in pomegranate juice and peel showed a great antioxidant activity as reported by Zarfeshany et al (33). Also, many vegetables and fruits have shown to be a rich source of polyphenols, flavonoids and tannins as ferulic, chlorogenic, coumaric and syringic acids, luteolin, quercetin, kaempferol, and catechins which showed marked antioxidant activities (34, 35). However, the comparison the presented results with those of bibliography remains difficult because each study uses a different extraction method.

In this study, the extraction of the polyphenols was carried out by maceration in a hydro-methanol mixture (80% methanol) which is frequently used for the extraction of phenolic compounds, where the solubility of the phenolic compounds was influenced by the degrees of polarity of solvent, the degree of polymerization of the phenolic compounds, and the interaction of the phenolic compounds with other food constituents and the formation of insoluble complexes. Thus, there is no uniform or completely satisfactory procedure suitable for the extraction of all phenols or a specific class of phenolic compounds in plant materials. (36). As mentioned by Pérez-Jiménez et al (37), a procedure for the extraction of antioxidants from plant foods should combine at least two extraction cycles performed with aqueous-organic solvents with different polarities in order to extract antioxidant compounds with different chemical structures. Also, several factors may influence the phenolic content of food plants such as the geographic region where they were cultivated (38, 39), altitude, environmental factors as soil, irrigation, temperature range, light quality, exposure to diseases and pests, the harvest season, industrial processing, the way of drying, storage and method of extraction and quantification (34). Furthermore, many studies showed that the highest polyphenol con-

tent and antioxidant activity has been reported for fruits and vegetables grown in arid zones which is explained by the fact that fruits and vegetables increase their phytochemicals to adapt with abiotic stress (38, 39).

The total antioxidant properties of plants cannot be evaluated by single method because of complex nature of their phytochemicals which may act through different mechanisms. Therefore, two or more methods should always be employed in order to evaluate the total anti-oxidative effects of fruits and vegetables extracts (40). Of these, DPPH scavenging, ferrous ion chelating, reducing power test and  $\beta$ -carotene bleaching assay are used for the evaluation of the antioxidant activities of the extracts.

The radical scavenging activity of extracts of fruits and vegetables was evaluated using DPPH assay which is a commonly used for its rapidity and effectiveness (41). In this assay, the lowest  $\text{IC}_{50}$  value indicated the more potent antioxidant activity of the extract in terms of hydrogen atom or electron donating capacity.

Results showed that fruits and vegetables extracts exhibited a good DPPH radical scavenging effect that may be related to their higher polyphenols contents. Hence, polyphenol-rich foods found in vegetables and fruits can serve as free radical scavenger. Furthermore, the obtained results corroborate with findings of Jiang et al (42), Lui et al (20), Oboh (27) and Marathe et al (43) who studied the correlation between the antioxidant activity and the polyphenolic content of different varieties of vegetables and fruits. Pincemail et al (44) reported also that fruits and vegetables rich in anthocyanins generally have a greater total antioxidant capacity than those rich in flavanones and flavonols and this may be explain the high antioxidant activity of eggplant, pomegranate and black grapes.

The metal chelating assay is based on the ability of extract to chelate transition metals by binding them to ferrous ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ion catalyzing oxidation and disrupting the formation of  $\text{Fe}^{2+}$ -ferrozine complex (intense red purplish in color). This chelating capacity is important, since it reduces concentration of the catalyzing transition metal in lipid peroxidation through the inhibition of lipid peroxides to peroxy and alkoxy radicals via the Fenton reaction (13).

The obtained results showed that the vegetables and fruits extracts exhibited appreciable chelating ef-

fect with the highest antioxidant capacity noticed by potato, lettuce, carrot, courgette, pumpkin, turnip, cucumber, fennel, cauliflower, cabbage, artichoke (flower), Jew's mallow, chard, green bean, bean and green pea. This iron chelating activity of extracts shown in this study could be related to their amount of total phenolic and flavonoids contents. Similar correlations between polyphenols and iron-chelating ability were also noted by Nathan and Brumaghim (45) whose reported that the strong iron-binding properties of polyphenols, whether the iron chelating ability of catechol or gallol containing polyphenols are actually plays a key role in their antioxidant activity and anti-lipid peroxidation by blocking the Fenton reaction. Gebhardt and Fausel (46) mentioned also that artichoke extract have a marked chelating potential which can be due, at least, to some ubiquitous and artichoke-specific polyphenolic and flavonoid compounds.

Reducing power assay is also widely used in evaluating antioxidant activity of plant polyphenols. The samples with higher reducing power show higher absorbance. The presence of reductants like antioxidants in the fruits and vegetables extracts causes the reduction of the ferric to the ferrous form, indicating that they are electron donors and can reduce the oxidized intermediates of lipid peroxidation process (41).

Onion, potato, courgette, Jew's mallow, chard, green bean, bean and green pea showed the a considerable reducing power indicating that they can act as electron donors and could react with free radicals to convert them into more stable products and then terminate the free radical chain reactions. These obtained results agree with other reports on reducing power of plants food who reported that the reducing power of polyphenolics is probably due to the presence of hydroxyl group, which might act as electron donors (47, 48).

$\beta$ -carotene bleaching test is based on the oxidation of linoleic acid generates peroxide radicals, following the abstraction of hydrogen atoms from diallyl methylene groups of linoleic acid. These free radicals will subsequently oxidize the highly unsaturated  $\beta$ -carotene, thus causing the disappearance of its red color. However, in the presence of an antioxidant compound, this degradation process is prevented. It also reflects the ability to inhibit the lipid peroxidation *in vitro* (13).

In this study, the vegetables and fruits extracts found to hinder the extent of  $\beta$ -carotene bleaching by neutralizing the linoleate free radical and other free radicals formed in the system which is in agreement with results of many studies (49) who studied the lipid peroxidation of food rich vegetables and fruits. The antioxidant activity percentage of peroxidation inhibition of the presented vegetables and fruits extracts was similar to that reported by Ismail et al (50). Also, Karadeniz et al (51) found close results for pears, grapes and apples. But, pomegranate showed a lower antioxidant activity (42.02%) than that found in the study of Singh et al (52).

The statistical analysis indicated that legumes (green bean, bean and green pea) and courgette had significantly high antioxidant activity (91.70%, 88.42%, 92.31%, 84.89%) compared with BHT as a reference antioxidant and the same results were reported by Amrowicz and Pegg (53). Also, previous studies indicated the good correlation between the antioxidant capacity of the fruits and vegetables and their phenolic content (54). However, many studies have found no correlation between total polyphenols content and antioxidant activity of plant extracts (50, 55) and this may be explained by the fact that the molecular antioxidant response of the phenolic compounds varies considerably according to their chemical structure (56). Thus, the antioxidant activity of fruits and vegetables depends on not only to its content of phenolic compounds but also on the type of phenolics and their relative distribution (57) and the interactions between antioxidants (58).

## Conclusion

This study showed that consumed fruits and vegetables in Algeria contain polyphenols, flavonoids and tannins which are affected mainly by the geographical region and harvesting time and showed a good antioxidant activity in relation to their phenolic content and their consumption may deliver greater health benefits thought the supply of natural antioxidant. So, the use of a balanced diet containing enough fruits and vegetables as a source of natural antioxidants could be much more effective and economical than artificial supplementation with antioxidants such as ascorbic acid

or -tocopherol for body protection against oxidative stress. Also, this work highlighted that it is important to use different free radicals and oxidation systems to evaluate the antioxidant activity of fruit and vegetable extracts because the extracts didn't present the same results in all methodologies and this could be due to difference in chemical composition of extracts and different mediums and principals of technics.

## References

- Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291-295.
- Pham-Huy L A, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci* 2008; 4: 89-96.
- Li S, Chen G, Zhang C, Wu M, Wu S, Liu Q. Research progress of natural antioxidants in foods for the treatment of diseases. *Food Sci Human Wellness* 2014; 3: 110-116.
- Xiu-Qin L, Chao J, Yan-Yan , Min-Li Y, Xiao-Gang C. Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chem* 2009; 113 : 692-700.
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Ré-mésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 230S-242S.
- Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 1997; 2: 152-159.
- Gunathilake K D P P, Ranaweera K K D S. Antioxidative properties of 34 green leafy vegetables. *J Funct Foods* 2016; 26: 176-186.
- Z et al. Profiling of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of 12 Cruciferous Vegetables. *Molecules* 2018; 23: 1139.
- Hossain M B, Barry-Ryan C, Martin-Diana A B, Brunton N P. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chem* 2010; 123: 85-91.
- Li H B, Cheng K W, Wong C C, Fan K W, Chen F, Ji-ang Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem* 2007; 102: 771-776.
- Quettier-Deleu C et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J Ethnopharmacol* 2000; 72: 35-42.
- Bate-Smith E C. Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency. *Phytochemistry* 1973; 12: 907-912.
- Bouaziz A, Abdalla S, Baghiani A, Charef N. Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Asian Pac J Trop Biomed* 2015; 5: 19-28.
- Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol* 1995; 28: 25-30.
- Bilto Y Y, Alabdallat N G, Salim M. Antioxidant properties of twelve selected medicinal plants commonly used in Jordan. *Br J Pharm Res* 2015; 6: 121-130.
- Le K, Chiu F, Ng K. Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chem* 2007; 105: 353-363.
- Ozsoy N, Can A, Yanardag R. Antioxidant activity of *Smi-lax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chem* 2008; 110: 571-583.
- Kartal N, Sokmen M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem* 2007 ; 100: 584-589.
- Cie lik E, Gr da A, Adamus W. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chem* 2006; 94: 135-142.
- Liu X et al. Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. *LWT-Food Sci Technol* 2007; 40: 552-557.
- Baginsky et al. Phenolic compound composition in immature seeds of fava bean (*Vicia faba* L.) varieties cultivated in Chile. *J Food Compos Anal* 2013; 31: 1-6.
- Mokhtar M et al. Determination of the polyphenolic content of a *Capsicum annum* L. extract by liquid chromatography coupled to photodiode array and mass spectrometry detection and evaluation of its biological activity. *J Sep Sci* 2015; 38: 171-178.
- Dos Reis L C R, de Oliveira V R, Hagen M E K, Jablonski A, Flôres S H, de Oliveira Rios A. Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. *Avenger*) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. *Alphina* F1). *LWT-Food Sci Technol* 2015; 63: 177-183.
- Kähkönen M P et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 3954-3962.
- Derakhshan Z et al. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food Chem Toxicol* 2018; 114 : 108-111.
- Merken H M, Beecher G R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 577-599.
- Oboh G, Raddatz H, Henle T. Characterization of the antioxidant properties of hydrophilic and lipophilic extracts of Jute (*Corchoru solitorius*) leaf. *Int J Food Sci Nutr* 2009; 60 : 124-134.
- Sacan O, Yanardag R. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*). *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 1275-1280.
- Zineb G, Boukouada M, Djeridane A, Saidi M, Yousfi M. Screening of antioxidant activity and phenolic compounds of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Algeria. *Med J Nutr Metab* 2012; 5: 119-126.
- Baljeet S Y, Roshanlal Y, Ritika B Y. Effect of cooking methods and extraction solvents on the antioxidant activity of summer squash (*Cucurbita pepo*) vegetable extracts. *Int*

- Food Res J 2016; 23: 1531-1540.
31. Ghosh, D. Tannins from foods to combat diseases. *Int J Pharm Res Rev* 2015; 4: 40-44.
  32. Orak H H, Yagar H, Isbilir S S. Comparison of antioxidant activities of juice, peel, and seed of pomegranate (*Punica granatum* L.) and inter-relationships with total phenolic, tannin, anthocyanin, and flavonoid contents. *Food Sci Biotechnol* 2012; 21: 373-387.
  33. Zarfeshany A, Asgary S, Javanmard S H. Potent health effects of pomegranate. *Adv Biomed Res* 2014; 3:1-8.
  34. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 727-747.
  35. Stafussa A P et al. Bioactive compounds of 44 traditional and exotic Brazilian fruit pulps: phenolic compounds and antioxidant activity. *Int J Food Prop* 2018; 21: 106-118.
  36. Naczek M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A* 2004; 1054 : 95-111.
  37. Pérez-Jiménez J, Neveu V, Vos F, Scalbert A. Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *Eur J Clin Nutr*, 2010; 64: S112-S120.
  38. Kumari D, Madhujith T, Chandrasekara A. Comparison of phenolic content and antioxidant activities of millet varieties grown in different locations in Sri Lanka. *Food Sci Nutr* 2017; 5: 474-485.
  39. Taghizadeh S F, Davarynejad G, Asili J, Nemati S H, Karimi G. Assessment of phenolic profile and antioxidant power of five pistachio (*Pistacia vera*) cultivars collected from four geographical regions of Iran. *Avicenna J Phytomed* 2018; 8: 33-42.
  40. Chu Y H, Chang C L, Hsu H F. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J Sci Food Agric* 2000; 80: 561-566.
  41. Amarowicz R, Pegg R B, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil J A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chem* 2004; 84: 551-562.
  42. Jiang H, Ji B, Liang J, Zhou F, Yang Z, Zhang H. Comparison on the antioxidant capacity of selected fruits and vegetables and their separations. *Chem Nat Compd* 2006; 42: 410-414.
  43. Marathe S A, Rajalakshmi V, Jamdar S N, Sharma A. Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India. *Food Chem Toxicol* 2011; 49 : 2005-2012.
  44. Pincemail J, Degrune F, Voussure S, Malherbe C, Paquot N, Defraigne J O. Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutr Clin Metab* 2007; 21: 66-75.
  45. Perron N R, Brumaghim J L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem Biophys* 2009; 53: 75-100.
  46. Gebhardt R, Fausel M. Antioxidant and hepatoprotective effects of artichoke extracts and constituents in cultured rat hepatocytes. *Toxicol In Vitro* 1997; 11: 669-672.
  47. Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agric Food Chem* 1992; 40: 945-948.
  48. Pellegrini N et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J Nutr* 2003; 133: 2812-2819.
  49. Kaur C, Kapoor H C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int J Food Sci Technol* 2002; 37: 153-161.
  50. Ismail A, Marjan Z M, Foong C W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem* 2004; 87: 581-586.
  51. Karadeniz F, Burdurlu H S, Koca N, Soyer Y. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turk J Agric For* 2005; 29: 297-303.
  52. Singh R P, Chidambara Murthy K N, Jayaprakasha G K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 81-86.
  53. Amarowicz R, Pegg R B. Legumes as a source of natural antioxidants. *Eur J Lipid Sci Technol* 2008; 110 : 865-878.
  54. Xiao Z P et al. Flavonoids health benefits and their molecular mechanism. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 169-177.
  55. Jaiswal S G, Patel M, Saxena D K, Naik S. Comparison of measurements of antioxidant activity in the selected leafy vegetables depending on extraction solvent. *J Hortic For* 2017; 25: 75-80.
  56. Satué-Gracia M T, Heinonen M, Frankel E N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 3362-3367.
  57. Heinonen I M, Lehtonen P J, Hopia A I. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 25-31.
  58. Freeman B L, Eggett D L, Parker T L. Synergistic and antagonistic interactions of phenolic compounds found in navel oranges. *J Food Sci* 2010; 75: C570-C576.

Correspondence:

Habiba Djenidi

Laboratory of Phytotherapy Applied to Chronic Diseases, Department of Biology and Animal Physiology, Faculty of Nature and Life Sciences

University Setif 1, Setif

19000, Algeria

E-mail: habibadjenidi@yahoo.fr

## **Publications**

Djenidi, H., Khenouf, S., & Bouaziz, A. (2020). Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria. *Progress in Nutrition*, 22(1), 00-00.

## **Communications affichées**

Djenidi, H., Khenouf, S. (16-17 Octobre 2018). Activité antioxydante et teneur en polyphénols de quelques légumes. Le premier séminaire international sur l'agroalimentaire « SIA 2018 », Guelma, Algérie.

Djenidi, H., Khenouf, S. (16-17 Octobre 2019). Activité antioxydante et teneur en polyphénols de quelques légumineuses. Séminaire international, avancés sur les antioxydants naturels : sources, mécanismes d'action et valorisation en santé, Béjaia, Algérie.

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاطية المضادة للأكسدة للأغذية النباتية المستهلكة في منطقتي بسكرة وسطيف. التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات والديباغ في مستخلصات 36 فاكهة وخضروات مختارة تعكس غنى الخضار والفاكهة بهاته المركبات خاصة الفول (360.22 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف)، القرنبيط (340.22 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف)، الخس (300.66 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف)، الباذنجان (292.96 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف)، الملوخية (276.37 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف) والرمان (200.51 ميكروغ معادل حمض الغاليك /مغ من المستخلص الجاف). أظهرت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا *in vitro* لمستخلصات الفواكه والخضار أن الفاصولياء، البازلاء، القرع، الخس والملوخية لها نشاطية مضادة للأكسدة قوية عن طريق ازالة الجذر الحر DPPH، طريقة استخلاص المعادن، القدرة الإرجاعية واختبار تبييض الـ  $\beta$ -كاروتين. بالإضافة إلى هذه العينات، يملك الباذنجان، العنب الأسود، الرمان، السلق و الخرشوف النجمي «القرنون» على أعلى مفعول ازالة الجذر الحر DPPH. أيضا، البطاطا، الجزر، البقطين، الفت، الخيار، القرنبيط، الملفوف، الخرشوف النجمي «القرنون» والسلق لديهم أقوى نشاطية استخلاص المعادن، بينما البصل، البطاطا، السلق و الفول لديهم أعلى قدرة إرجاعية. أيضا القرنبيط، الفول، الخرشوف، الخوخ والمشمش تملك نشاطية مضادة للأكسدة عالية عن طريق اختبار تبييض الـ  $\beta$ -كاروتين. دراسة تأثير مستخلصات الرمان والطماطم والتمر «دقلة نور» و الفلفل على النشاطية المضادة للأكسدة حيويا *in vivo* في كبد وكلية جردان التجارب أظهرت تأثير وقائي معنوي خاصة للرمان عن طريق خفض مستوى MDA (انخفاض اكبر من - 31%) ورفع مستوى GSH (اكبر من +49%) ورفع نشاطية أنزيم الكاتالاز (اكبر من +74%). هاته النتائج تؤكد امكانية الوقاية من العديد من الامراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي بتناول اغذية نباتية متنوعة وغنية بالخضار والفواكه.

**الكلمات المفتاحية:** الاغذية النباتية، خضر، فواكه، النشاطية المضادة للأكسدة، الاجهاد التأكسدي، عديدات الفينول، الفلافونويدات.

## Résumé

Le but de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire des aliments d'origine végétale consommés dans les régions de Biskra et Sétif. Le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les extraits de 36 fruits et légumes reflète une richesse notamment de la fève (360.2  $\mu\text{g}$  EAG/ mg d'extrait sec), le chou-fleur (340.22  $\mu\text{g}$  EAG/ mg d'extrait sec), la laitue (300.66  $\mu\text{g}$  EAG/ mg d'extrait sec), l'aubergine (292.96  $\mu\text{g}$  EAG/ mg d'extrait sec), la corète (276.37  $\mu\text{g}$  EAG/ mg d'extrait sec) et la grenade (200.51  $\mu\text{g}$  EAG/ mg d'extrait sec) en ces composés. L'étude *in vitro* de l'activité antioxydante des fruits et légumes confirme que l'haricot vert, le pois vert, la courgette, la laitue et la corète présentent une forte activité antioxydante évaluée par la méthode du piégeage du radical DPPH, la chélation du fer ferreux, le pouvoir réducteur du fer ferrique et le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène. En plus de ces plantes, la blette, l'artichaut (fleur), l'aubergine, le raisin noir et la grenade possèdent l'activité de piégeage du radical DPPH la plus élevée. Cependant, la fève, la pomme de terre, la carotte, la citrouille, le navet, le concombre, le chou-fleur et l'artichaut (fleur), le chou et la blette ont la plus forte activité chélatrice des métaux. L'oignon, la pomme de terre, la fève et la blette ont le pouvoir réducteur le plus élevé. De plus, la fève, le chou-fleur, l'artichaut (tige), la pêche et l'abricot ont une activité antioxydante élevée en utilisant le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène. L'étude *in vivo* de l'effet des extraits de la grenade, la tomate, les dattes « Deglat-Nour » et le piment sur les marqueurs du stress oxydants dans le foie et les reins des rats a révélé une action préventive significative surtout de la grenade en diminuant le taux du MDA (une diminution supérieure à - 31 % par rapport au groupe contrôle) et en augmentant le taux du glutathion réduit GSH (une augmentation supérieure à + 49% par rapport au groupe contrôle) et l'activité enzymatique de la catalase (une augmentation supérieure à +74 % par rapport au groupe contrôle). Ces résultats confirment la possibilité de prévention des maladies associées au stress oxydatif par une alimentation variée et riche en fruits et légumes.

**Mots clés :** Activité antioxydante, stress oxydatif, aliments d'origine végétale, fruits, légumes, polyphénols, flavonoïdes.

## Abstract

The purpose of this work is the evaluation of the antioxidant and antiradical activity of plant foods consumed in the regions of Biskra and Setif. The dosage of total polyphenols, flavonoids and tannins in the extracts of 36 fruits and vegetables reflects a wealth including the bean (360.2  $\mu\text{g}$  EAG/ mg of dry extract), cauliflower (340.22  $\mu\text{g}$  EAG/ mg of dry extract), lettuce (300.66  $\mu\text{g}$  EAG/ mg of dry extract), eggplant (292.96  $\mu\text{g}$  EAG/ mg of dry extract), mallow (276.37  $\mu\text{g}$  EAG/ mg of dry extract) and pomegranate (200.51  $\mu\text{g}$  EAG/ mg of dry extract) in these compounds. *In vitro* study of the antioxidant activity of fruits and vegetables confirms that green beans, green peas, courgette, lettuce and mallow have a strong antioxidant activity by the method of scavenging of the radical DPPH, the chelation of ferrous iron, the reducing power of ferric iron and the bleaching test of  $\beta$ -carotene. In addition to these plants, the chard, artichoke (flower), eggplant, black grape and pomegranate have the highest DPPH radical scavenging activity. However, the bean, potato, carrot, pumpkin, turnip, cucumber, cauliflower and artichoke (flower), cabbage and chard have the strongest chelating activity of metals. The onion, potato, bean and chard have the highest reductive power. In addition, the bean, cauliflower, artichoke, peach and apricot have high antioxidant activity using the  $\beta$ -carotene bleaching test. The *in vivo* study of the effect of pomegranate extracts, tomato, "Deglat-Nour" dates and pepper on the oxidative stress markers in the liver and kidneys of rats revealed a significant preventive action, especially pomegranate by decreasing the level of MDA (a decrease of more than - 31% compared to the control group) and increasing the reduced GSH glutathione an increase greater than + 49% compared to the control group) and catalase enzymatic activity (an increase greater than + 74% compared to the control group). These results confirm the possibility of preventing diseases associated with oxidative stress through a varied diet rich in fruits and vegetables.

**Key words:** Antioxidant activity, oxidative stress, plant foods, fruits, vegetables, polyphenols, flavonoids.