

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

Melle Zine Mahdjouba

Mr Amouri Mustapha

Thème

**Évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante
des extraits polyphénoliques issus d'*Allium cepa***

Soutenu publiquement le

Devant le Jury

Grade

Président M^{me} MAKHLOUFI C.

MCA Faculté SNV

Promoteur M^{me} BENARABA R.

MCA Faculté SNV

Co-promoteur M^{me} ABDELLAH F.

IR Institut des SV

Examineur M^{me} MEDJEBER N.

MCB Faculté de

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir données la force, le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairées le chemin de la réussite.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude vont particulièrement à Madame BENARABA R, qui nous a encadrées depuis les premiers instants. Sa pédagogie, son dévouement, ses précieux conseils, ses encouragements, sa patience, sa disponibilité et sa gentillesse ont été importants pour nous et on largement contribué à l'évolution de cette étude.

Nous remercions Madame ABDELLAH F. pour nous avoir fait l'honneur d'être notre Co-promotrice.

Nous tenons à remercier profondément Madame MAKHLOUFI pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

Aussi, nous tenons à remercier profondément Madame MEDJEBERN d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remerciment s'adressent à et Melle Noura Melle Naima pour leurs conseils et encouragements.

Enfin nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Amouri mustapha

Zine mahdjouba



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A ma chère mère,

A mon cher père,

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à
Mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour
Que je puisse atteindre mes objectifs.*

A mon frère, Mouhamed

A mes sœurs, Amel et Ikram

Pour ses soutiens moral et leur conseils précieux.

A ma chère grand-mère,

Qui je souhaite une bonne santé.

A ma binôme, Mahdjouba

Pour sa entente et sa sympathie.

A ma chère tante, Mlouka

A ma chère cousine Hanane

A toute ma famille

A mes chères amies, Loubna, Sourour

*Qui m'a aidé et supporté dans les moments
Difficiles.*

A tous ceux qui m'ont aidée dans la réalisation

De ce mémoire Surtout

*Mme Fatiha, Melle Naima, Melle Noura
, Mellesouraia, Melle fouzia.*

Mustapha

Dédicaces

A l'aide d'Allah le tout puissant, qui m'a tracée le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A Ma famille ZINE Et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents ;

A ma mère BAKHTA et mon père BENALI

A ceux qui m'ont toujours encouragée pour que je réussisse Dans mes études,

Pour leurs sacrifices et leurs soutiens tout au long mes étude.

À mes chers frères et soeur: mokhtar fathimohamad abdalmalk et mokhtaria

A tous mes professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire

Ou de l'enseignement supérieur surtout Mme Benaraba

Rachida et Mme Abdellah Fatiha pour son encadrements.

A tous ceux qui m'ont aidée dans la réalisation de ce mémoire surtout

Mme Fatiha, Melle Naima et Melle Noura.

A monbinôme, mustapha pour tout ce qu'on a eu à partager avec moi dans les moments difficiles de ce travail.

À Mes amies: fatima hafidha Iman Nadjah

Mahdjouba

LISTE DES ABREVIATIONS

AG : Acide gallique

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

C₁₅H₁₀O₇: Quercétine

CE50 : Concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50 % la concentration initiale de ferricyanure de potassium

CI50 : Concentration d'antioxydants Requisite pour diminuer la concentration de DPPH initiale de 50 %

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO: diméthylsulfoxyde

DO:Densité optique

DPPH :1, 1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

EAG : Equivalent en acide gallique

EAM : extrait d'*Allium Cepa* issu de la méthode de macération

EAS : extrait de d'*Allium Cepa* issu de la méthode de la sonication

EQ : équivalence en quercitrine

FeCl₃: Chlorure de fer III

FRAP:Reducing antioxidants power

H₃PMO₁₂O₄₀: d'acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique

K₃Fe(CN)₆: Ferricyanure de potassium

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

Qx : un symbole utilisé pour indiquer la production en quinaux

RFC: Réactif de Folin Ciocalteu

TCA:Acide Trichloracétique

Vit C:Vitamine C

LISTE DES FIGURES

Figure N°01 : l'oignon (<i>Allium cepa</i>).....	02
Figure N°02 :Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale.	09
Figure N°03 :Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire (DPPH•) et un antioxydant (AH)	15
Figure N°04 : Rendements de l'extraction des composés phénoliques d' <i>Allium cepa</i>	18
Figure N°05 :Teneur en composés phénoliques totaux des extraits d' <i>Allium cepa</i>	19
Figure N°06 :Teneur en flavonoïde des extraits d' <i>Allium cepa</i>	21
Figure N°07 :pouvoir réducteur des extraits d' <i>Allium cepa</i> et les antioxydants standards exprimé enCE50.....	22
Figure N°08 :Capacité de piégé du radical libre des extraits d' <i>Allium cepa</i> et les antioxydants standards exprimée enCI50.....	24

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°01 : La composition moyenne pour 100 g nets d'oignon	03
Tableau N°02 : Matériel et produits chimiques utilisés.....	08
Tableau N°03 : Valeurs de CMI des extraits d' <i>Allium cepa</i> testés.....	26

LISTE DES ANNEX

Annexe I : Description, classification d'*Allium cepa*

Annexe II : Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques

Annexe III : Courbes d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydante

Annexe IV : résultats des CMI d'extrait d'*Allium cepa* étudié

Annexe V : composition des milieux culture

LISTE DES ABREVIATIONS.....	<i>i</i>
LISTE DES FIGURES.....	<i>ii</i>
LISTE DES TABLEAUX.....	<i>iii</i>
LISTE DES ANNEXE.....	<i>iv</i>

INTRODUCTION

SOMMAIRE

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Historique.....	02
I.2. Types d'oignons.....	02
I.3. Composition chimique de l'oignon (<i>Allium cepa</i>).....	03
I.4. Composés bioactifs de l'oignon.....	04
I.5. Propriétés thérapeutiques de l'oignon (<i>Allium cepa</i>).....	04
I.5.1. Activités antioxydants.....	04
I.5.2. Activité antimicrobienne	04
I.5.3. Effet antidiabétique.....	04
I.5.4. Effets protecteur contre les maladies cardiovasculaires.....	04
I.5.5. Activités Anti-inflammatoires.....	05

II. ÉTUDE EXPERIMENTALE

II.1. Objectifs du travail	07
II.2. Lieu et durée de travail	07
II.3. Matériel et produits chimiques	08
II.4. Procédure expérimentale	09
II.4.1. Préparation du matériel végétal	10
II.4.2. Préparation d'extraits à partir d'<i>Allium cepa</i>.....	10
II.4.2.1. Technique d'extraction par macération.....	10
II.4.3.1. Technique d'extraction par sonication.....	10
II.4.4. Analyse quantitative d'échantillon.....	11
II.4.4.1. Détermination du rendement.....	11
II.4.4.2 Dosage des composés phénoliques	11

II.4.4.3. Dosage des flavonoïdes	12
II.4.5. Evaluation du pouvoir antioxydant d'extrait d' <i>Allium cepa</i>	13
II.4.5.1. Test de réduction de fer FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	13
II.4.5.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	14
II.5. Evaluation de l'activité antibactérien	15
II.5.1. Souches bactériennes utilisées	15
II.5.2. Préparation de l'inoculum	15
II.5.3. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide	16

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Rendements d'extraction	18
III.2. Quantification des composés phénoliques totaux et flavonoïdes	19
III.3. Quantification des flavonoïde	20
III.4. Résultat de l'activité antioxydante	22
III.4.1. pouvoir réducteur d'extraits d' <i>Allium cepa</i> Ferric Reducing Antioxydant Power).....	22
III.4.2. Pouvoir piégeur du radical libre DPPH• (2,2-diphenyl-1picrylhydrazil) par les extraits d' <i>Allium cepa</i>	23
III.5. Evaluation de l'activité antibactérien	25

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

Introduction

Au cours des dernières décennies, le domaine de la nutrition a radicalement changé. Il s'est transformé en une discipline qui s'intéresse non seulement aux éléments nutritifs essentiels, à la survie et la croissance, mais aussi aux composés bioactifs présents dans l'alimentation humaine, ces dernières sont des substances qui ne sont pas essentielles au maintien des fonctions corporelles, mais qui peuvent favoriser la santé et / ou prévenir contre l'apparition de certaines maladies.

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que le suivi d'un régime alimentaire riche en molécules bioactives, offrent à long terme, la protection contre le développement des cancers, des maladies cardio-vasculaires, du diabète et de l'ostéoporose (**Pandey et Rizvi, 2009**). Parmi ces molécules, les polyphénols végétaux représentent les composés phyto-chimiques les plus abondants dans l'alimentation humaine. Récemment l'activité biologique de ces composés a été largement décrite et font l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme une solution alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la conservation des aliments afin de remplacer les antioxydants de synthèse.

L'oignon (*Allium cepa*) fait partie des légumes riches en polyphénols, il est très consommé à travers le monde. Ce légume est utilisé à la fois comme aliment et également dans le domaine thérapeutique, en raison de ses propriétés anti-inflammatoire, anticancéreuse et antidiabétique (**Pagano et al., 2020 ; Kawabata et al., 2015**).

L'objectif de cette présente étude est l'évaluation des activités biologiques (antibactérienne et antioxydante) des extraits phénoliques issus de la pelure d'oignon (*Allium cepa*) et ce dans l'optique d'être utilisés comme des agents antibactérien et antioxydants naturels dans le traitement des maladies causées par le stress oxydatif et les bactéries pathogènes.

Synthèse
Bibliographique

I.1. Historique

A son origine, l'oignon est issu d'une espèce sauvage qui aujourd'hui n'existe plus dans la nature. C'est une plante potagère qui de nos jours n'est connue que sous forme cultivée. Cette plante originaire d'Asie centrale et de Palestine est l'un des premiers légumes cultivés par l'homme (depuis 5000 ans), déjà connue comme légume et condiment (**Hichri, 2019**).

En Algérie, l'oignon occupe la troisième place parmi les cultures légumières, juste après la pomme de terre et la tomate. Il est largement utilisé dans la cuisine algérienne, soit pour la consommation à l'état frais (récolte en vert) soit pour la conservation (bulbe). L'Algérie produit environ 11 à 13 millions Qx d'oignon sec par an (**Bennacer et Bouderbala, 2016**).



Figure N°01 : Oignon (*Allium cepa*)

<https://www.crushpixel.com/fr/stock-photo/bowl-red-onions-1800218.html>

I.2. Types d'oignons :

Il existe sept principaux types d'oignons ou de modes de culture : les oignons jaunes, les oignons espagnols, les oignons rouges, les oignons blancs, les oignons à bottelet, les oignons à marinades et les oignonets à semences (**Bennacer et Bouderbala, 2016**).

I.3. Composition chimique de l'oignon (*Allium cepa*)

L'oignon est considéré comme un aliment énergétique, protecteur et de soutien, car il contient des vitamines (vitamine B, vitamine C, provitamine A), des minéraux (potassium, sodium, zinc, fer, phosphore, sélénium, magnésium, manganèse, calcium...), des lipides, des protéines, des glucides, des huiles essentielles, des acides organiques et des fibres (**Konate et al., 2017**).

La composition moyenne pour 100 g nets d'oignon est représentée dans le tableau suivant :

Tableau N°01: Composition moyenne d'*Allium cepa*. (benatrehina, 2011)

Glucides	7.10 (g)	Phosphore	33.00 (mg)
Protides	1.30 (g)	Calcium	25.00 (mg)
Lipides	0.20 (g)	Magnésium	10.00 (mg)
Eau	9.00(g)	Soufre	50.00 (mg)
Fibres alimentaires	2.10 (g)	Sodium	6.00 (mg)
Vitamine C (Acide ascorbique)	7. (mg)	Chlore	25.00 (mg)
Provitamine A (carotène)	0.010 (mg)	Bore	0.170 (mg)
Vitamine B1 (thiamine)	0.060 (mg)	Fer	0.300 (mg)
Vitamine B2 (riboflavine)	0.020 (mg)	Cuivre	0.050 (mg)
Vitamine B3ou PP (nicotinamide)	0.300 (mg)	Zinc	0.200 (mg)
Vitamine B5 (Acide panothénique)	0.110 (mg)	Manganèse	0.150 (mg)
Vitamine B6 (pyridoxine)	0.140 (mg)	Nickel	0.002 (mg)
Vitamine B9 (Acide folique)	0.020 (mg)	Cobalt	0.013 (mg)
Vitamine E (tocophérols)	1.140 (mg)	Chrome	0.001 (mg)
Fluor	0.040 (mg)	Iode	0.002 (mg)
Molybdène	0.010 (mg)	Sélénium	0.003 (mg)

I.4. Composés bioactifs de l'oignon

L'oignon *Allium cepa* est une source riche en substances phénoliques en raison de sa forte teneur en flavonoïdes. Parmi les flavonoïdes de l'oignon, la quercétine et ses glycosides représentent 70% des flavonoïdes totaux des oignons, en acides phénoliques, et en composés soufrés (allicine). Les autres flavonoïdes présents en faible quantité sont le kaempférol, la rutine et leurs dérivés. (Bystrická et al., 2013).

I. 5. Propriétés thérapeutiques de l'oignon (*Allium cepa*)

L'oignon (*Allium cepa*) présente plusieurs activités biologiques dont on peut citer :

✓ Activités antioxydantes

Allium cepa est riche en composés phénoliques, principalement les flavonoïdes, qui ont des propriétés antioxydantes. Plusieurs études ont rapporté les activités antioxydantes d'*A cepa* et de ses constituants et ont présenté la plante comme une source potentielle d'antioxydants naturels (Marefati et al., 2021).

✓ Activité antimicrobienne

Des études *in vitro* ont montré que l'oignon possède une activité antibactérienne, et antifongique, le principal agent antibactérien de l'oignon est la quercétine et l'allicine. (Shrestha, 2016).

✓ Effet antidiabétique

Les constituants sulfurés (disulfure d'allyle et de propyle) et la diphénylalanine que contient *Allium cepa*, sont les principes actifs qui sont responsables de la stimulation de la diminution du taux de sucre dans le sang. Cette action a été retrouvée chez l'animal ainsi que chez l'homme (Imad et al., 2010).

✓ Effets protecteurs contre les maladies cardiovasculaires

L'oignon aide à la bonne circulation du sang et possède des propriétés antiagrégant qui sont dues aux composés sulfurés et aux antioxydants tels que l'anthocyanine et les flavonols qu'il contient. Ces composés antioxydants se trouvent les plus riches. L'oignon est également connu comme étant actif dans la réduction du

cholestérol grâce aux composés de type oméga 3 qu'il contient. En effet, l'activité de cette molécule associée à celle des antioxydants aide à baisser le taux de triglycéride dans le sang. **(Benatrehina, 2011)**.

✓ **Activités anti-inflammatoires**

Les propriétés anti-inflammatoires des espèces *Allium* sont dues à la présence de composés efficaces tels que le tanin, les flavonoïdes, l'anthocyanine, la saponine, etc. **(Marefati et al., 2021)**

Matériel et méthodes

II. Matériel et Méthodes

II.1. Objectifs du travail

- Déterminer la teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes d'*Allium cepa*;
- Evaluer l'activité antioxydante (via le pouvoir réducteur FRAP et la capacité de piéger les radicaux libres DPPH);
- Evaluer l'activité antibactérienne (par la méthode des CMI)

II.2. Lieu et durée de travail

La démarche expérimentale relative de cette présente étude, a été réalisée sur une période qui s'est étalée du 18 Janvier au 1 juin 2021. Elle a été effectuée au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoire d'Amélioration et de Valorisation des productions animales locales *Université Ibn Khaldoun- Tiaret*
- Laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de Vie *Université Ibn Khaldoun- Tiaret*

II.3. Matériel et produits chimiques

Le matériel et les produits chimiques nécessaires à l'accomplissement de ce travail sont cités dans le **tableau N°02**:

Tableau N°02 : Matériel et produits chimiques utilisé

Matériel et Appareillages	Produits Chimiques et réactifs
Agitateur magnétique (kika-mini-m)	Carbonate de sodium (Na_2CO_3 ; PM=106 g/mol)
Balance analytique (Ohaus)	Clorure de fer III (FeCl_3 ; PM=162,2g/mol)
Etuve (Heraeus)	2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle (DPPH•), ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$; PM= 394,32 g/mol)
Spectrophotomètre (Shimadzu)	Ethanol pure
Micropipettes	Ferricyanure de potassium, $\text{K}_3[\text{Fe}^{+3}(\text{CN})_6]$; PM= 329,26 g/mol
Vortex (Techno Kartell)	Quercétine ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$; PM=302,236 g/mol)
Microscope (Optika)	Réactif de Folin-ciocalteau (PM=188,14g/mol, 2N) Trichlorure d'aluminium (AlCl_3 ; PM=133,34g/mol) DMSO (diméthylsulfoxyde)

II.4. Procédure expérimentale

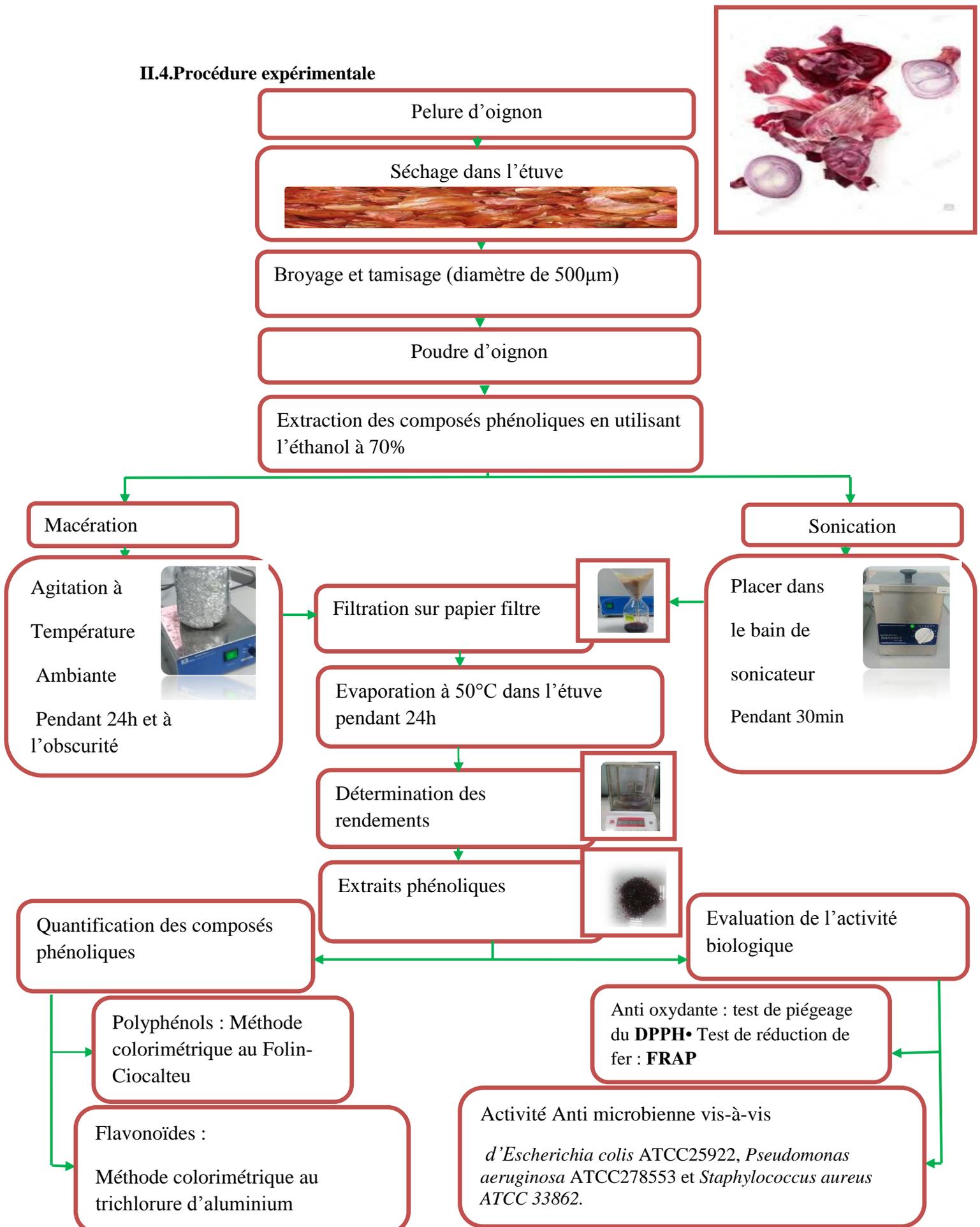


Figure N° 02 : Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale regroupant les différentes étapes réalisées au cours de cette étude

II.4.1. Préparation du matériel végétal

Les pelures d'oignon (*Allium cepa*) sont séchées dans l'étuve, à une température de 50 °C et par la suite ont été broyées et tamisées dans un tamis ayant un diamètre de 500 µm pour obtenir une poudre à partir de laquelle les extractions ont été réalisés.

II.4.2. Préparation des différents extraits à partir d'*Allium cepa* (pelure d'oignon) :

Différentes méthodes d'extraction peuvent être adaptées.

Parmi celles-ci nous avons choisi l'extraction par macération et par sonication.

II.4.2.1 Technique d'extraction par macération :

II.4.2.1.1 Principe

Le but de cette méthode est d'extraire les composés actifs d'un solide en le laissant séjourner dans un liquide. Pour cette raison, le solvant (son volume dépend de sa capacité d'absorption) doit traverser la barrière de l'interface solide/liquide, ensuite dissoudre le composé actif présent à l'intérieur et le conduire vers l'extérieur. L'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Lumbu et al., 2005**).

II.4.2.1.2 Mode opératoire

Selon la méthode décrite par **Boubakeur et al. (2017)**, en apportant une légère modification. 10g de poudre ont été mis à macérer dans 100ml d'éthanol à 70%. Sous agitation magnétique à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h. Le macérant résultant a été soumis à une filtration sur du papier-filtre, ensuite le filtrat a été séché dans l'étuve pendant 24h à 50°C. L'extrait obtenu au final est conservé à une basse température (-20°C) pour les futures expérimentations.

II.4.3.1 Technique d'extraction par sonication :

II.4.3.2 Principe

Cette extraction est aussi appelée extraction assistée aux ultrasons, cette méthode est efficace, simple et peu coûteuse, elle a pour avantages d'augmenter le rendement et d'accélérer la cinétique, cependant son effet reste lié à la nature de la matrice végétale. Elle permet également d'utiliser une large gamme de solvants (**Kiriamiti, 2003**).

II.4.3.3 Mode opératoire

10g de la poudre du matériel végétal ont été mélangés avec 100ml d'éthanol à 70% dans un flacon, ce dernier est placé dans le bain sonicateur déjà rempli de détergent, pendant 30min. le produit résultant est soumis à une filtration sur du papier filtre. Le filtrat obtenu est séché dans l'étuve pendant 24h à 50°C afin d'obtenir un extrait sec qui sera ensuite conservé à une température de -20°C pour les prochaines analyses (**Kiriamiti, 2003**).

II .4.4. Analyse quantitative d'échantillon

II.4.4.1 Détermination du rendement

Le poids de l'extrait a été calculé par la différence entre le poids de la boîte de Pétri en verre contenant l'extrait (après élimination du solvant) et le poids de la boîte de Pétri vide. Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (PF / PI) \times 100$$

Avec :

R : Rendement en pourcentage (%)

PF : Poids de l'extrait sec en gramme

PI : Poids de la poudre mise à l'extraction en gramme.

II.4.4.2 Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits de l'*Allium cepa*. A été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au Folin-ciocalteau décrite par **Singleton et al. , (1999)**.

4.4.2.A Principe

Le réactif de Folin-ciocalteau de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$).

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par ce réactif, cette réaction entraîne la formation d'un nouveau

complexe molybdène-tungstène de couleur bleu présentant un maximum d'absorption à une longueur d'onde $\lambda=760\text{nm}$ et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon, le dosage des composés phénoliques a été effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon de l'acide gallique de concentration connue.

4.4.2.B Technique

250 μl d'extrait ont été ajoutés à 250 μl de réactif de Folin Ciocalteu (RFC) ayant une concentration de 0,2 N, après une incubation de 2 minutes, 500 μl de Na_2CO_3 à 7,5 % ont été additionnés.

Le mélange ainsi obtenu a été incubé de nouveau pendant 20 min à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 760 nm contre un blanc sans extrait. Notons qu'une courbe d'étalonnage a été parallèlement réalisée afin de quantifier le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, Cette courbe a été établie avec des concentrations précises d'acide gallique utilisé comme standard de référence ; ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les teneurs en composés phénoliques ont été exprimées en mg EAG/ g d'extrait se calculées selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

Avec :

C : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/ g d'extrait)

c: Concentration de l'échantillon calculée.

D : Facteur de dilution

V : Volume du solvant en ml utilisé pour l'extraction

m: Masse de l'échantillon en g utilisée dans l'extraction

II.4.4.3 Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits d'*Allium cepa* a été réalisée par la méthode décrite par **Bahorunet al. (1996)**.

Le principe de cette méthode est basé sur la formation de complexes de couleur jaune entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Ceci se traduit par le fait que le métal perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. La couleur jaune présente une absorption maximale à 430 nm.

4.4.3. A Technique

1ml d'extrait a été mélangé avec 1ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2%. Le mélange a été incubé à la température ambiante et à l'abri de lumière pendant 30 minutes, l'absorbance a été lue à 430 nm contre un blanc préparé. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine avec différentes concentrations. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec de (mg EQ/g d'extrait) et calculée selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

Avec :

C : Teneur en flavonoïdes exprimée en mg Equivalent quercétine par gramme d'extrait.

c: Concentration de l'échantillon calculée.

D : Facteur de dilution.

V : Volume de solvant en ml utilisé pour la dissolution de l'extrait

m: Masse de l'extrait utilisé en *gramme*

II.4.5. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits

Dans la présente étude, l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits des pelures d'oignon (*Allium cepa*) a été mise en évidence par deux techniques chimiques à savoir : le pouvoir réducteur FRAP et le test de DPPH•.

II.4.5.1. Test de réduction de fer FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) :

Le test de pouvoir réducteur du fer (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) est un test simple, rapide et reproductible.

II.4.5.1.A. Principe

Ce test permet de mesurer le pouvoir réducteur des antioxydants présents dans les extraits par leur capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) (**Oyaizu, 1986**).

II.4.5.1.B. Technique

Le pouvoir réducteur du fer Fe^{3+} dans les extraits a été déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. 2.5 ml de chaque extrait à différentes concentrations (de 1mg/ml à 0.31 mg/ml) ont été mélangés avec 2.5 ml d'une solution de tampon phosphate 0,2M (pH=6,6) et 2.5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1% incubée dans l'étuve à 50°C pendant 20 min ensuite, 2.5ml d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. A partir du mélange réactionnel précédent un aliquote de 1 ml a été combiné avec 1 ml d'eau distillée et 500 μ l d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1%. L'absorbance du mélange réactionnel a été lue à 700 nm contre un blanc préparé de la même manière que l'échantillon, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

Le contrôle positif est représenté par deux solutions d'antioxydant standard l'acide gallique, la vitamine C dont les absorbances ont été mesurées dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le potentiel réducteur des extraits et des standards est exprimé par les valeurs de concentrations effectives à 50% (CE50).

La CE50 a été rapportée comme étant la quantité d'antioxydant qui permet de donner une DO égale à 0.5 à 700 nm. Tous les essais ont été effectués au moins trois fois et les graphiques ont été tracés en utilisant la moyenne de trois déterminations

II.4.5.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

II.4.5.2.A.Principe

Le radical 2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse (**Blois, 1958 ; Brand et al., 1995**). A température ambiante, le radical DPPH• présente, en solution

alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons.

Cette décoloration met en évidence le pouvoir antiradicalaire d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm.

II.4.5.2.B Technique

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH•). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

L'effet de chaque extrait sur le DPPH• est mesuré par la procédure décrite par **Sanchez- Moreno *et al.* (1998)**. Un volume de 750 µl de différentes concentrations de chaque extrait ou les standards antioxydants (acide gallique, et vitamine C exprimés en µg/ml) a été ajouté à 750 µl de la solution méthanolique du DPPH• à 4 mg/ml et fraîchement préparée. Le mélange réactionnel a été incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 50 min, une lecture de l'absorbance a été effectuée à 517 nm. Les valeurs de CI50 ont été déterminées graphiquement par la régression exponentielle des extraits et des solutions standards.

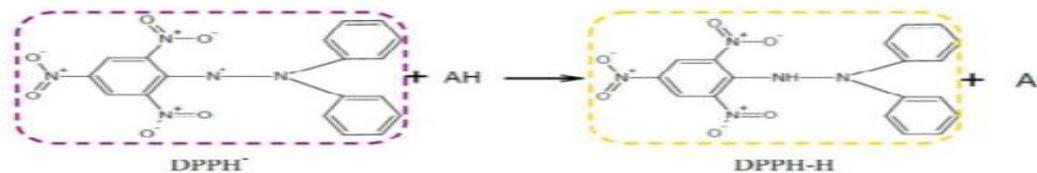


Figure N°03 Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire (DPPH•) et un antioxydant (AH).

II.5.Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits

II.5.1. Souches bactériennes utilisées

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques d'*Allium cepa* a été réalisée contre trois souches bactériennes, une bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 et deux bactéries à gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 Elles proviennent du laboratoire de recherche, Amélioration et Valorisation des productions animales locales de l'université Ibn khaldoun de Tiaret.

II.5.2. Préparation de l'inoculum

Des suspensions bactériennes des souches à tester sont préparées à partir des cultures pures de 24 h sur milieu d'isolement, en raclant à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Bien homogénéiser la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex pendant quelques secondes. Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une DO de 0,08 à 0,10, lue à 625nm, équivalent à 1×10^8 ufc/ ml. L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (Soussy *et al.*, 2010).

II.5.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide

L'analyse antibactérienne a pour objectif la détermination des CMI des extraits phénoliques d'*Allium cepa* vis-à-vis les souches testées en utilisant la méthode d'incorporation en milieu gélosé. Dans des tubes à essai stériles, différents volumes des extraits préparés à 800mg/ml dans le DMSO à 10% sont mélangés avec le milieu Mueller Hinton préalablement fondu et maintenu à 45 °C pour avoir un volume final de 5 ml, Les tubes ont été agités à l'aide d'un vortex afin de bien disperser les extraits dans le milieu de culture avant de les verser dans les boites de Pétri de 60 mm de diamètre. Des témoins, contenant les milieux de culture seuls, sont également préparés, ensuite les boites ont été ensemencées par écouvillonnage avec un inoculum standard de 0,5 Mc Farland de chaque souche à tester. Les boites sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h (Boukrâa, 2008).

La lecture des résultats se fait visuellement par l'observation de la croissance de l'inhibition de la croissance des bactéries à tester par rapport à la croissance sur la boîte témoin sans extraits.

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Rendements d'extraction

Les rendements des extractions des composés phénoliques des pelures d'oignon (*Allium cepa*) obtenus par les deux méthodes d'extraction (macération, sonication) sont représentés dans la **figure N°04** ils sont exprimés en pourcentage massique (%)

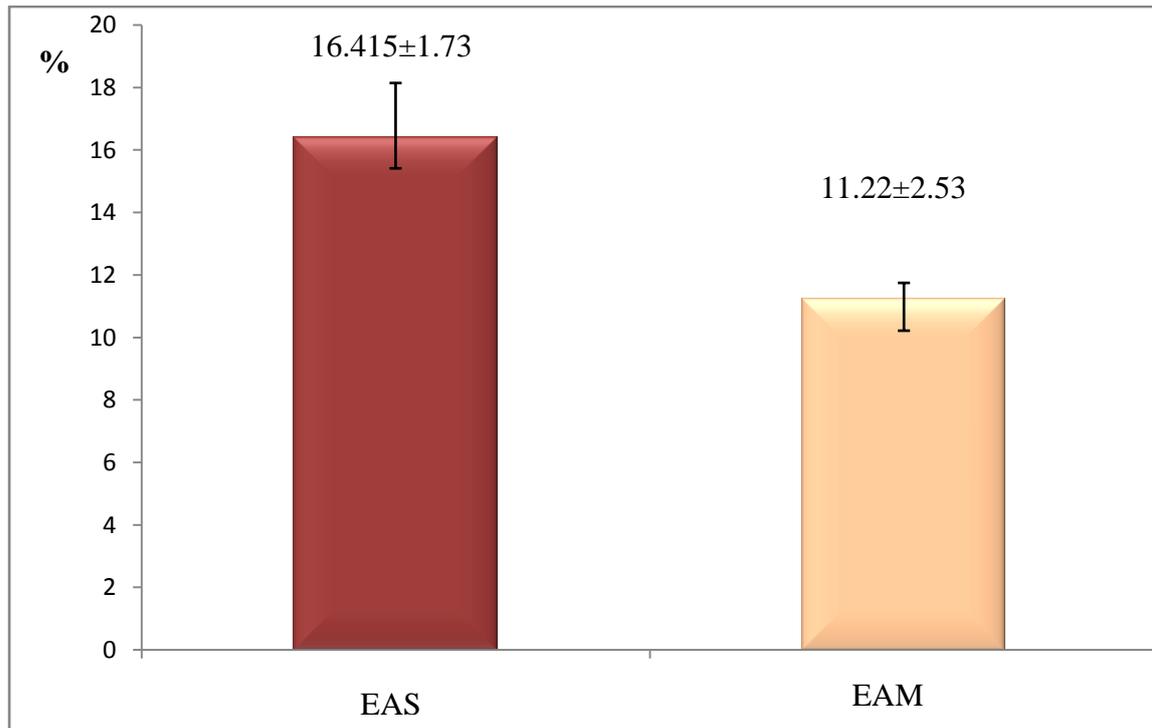


Figure N°04: Rendements de l'extraction des composés phénoliques d'*Allium cepa* (Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm écarte type de deux essais indépendants)

Les résultats indiquent des rendements « calculés par rapport au poids total de broyat » de l'ordre de 11.22% pour l'extrait éthanolique d'*Allium cepa* issu de macération et de 16.41% pour l'extrait issu de la sonication. On constate que l'extraction issue par la méthode de sonication présente le meilleur rendement (16.41%) ; ceci peut être expliqué par le fait que la sonication permet la perturbation de l'intégrité des membranes cellulaires et donc la libération du contenu cellulaire dont les polyphénols (Wong, 2017). Alors que l'extraction des composés phénoliques d'*Allium cepa* par macération présente le plus faible rendement, évalué à 11.22%. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Razavi et Kenari (2016) qui ont démontré que la méthode de sonication présente le meilleur rendement en comparaison à la méthode de macération. Le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode

d'extraction et des conditions expérimentales dans les quelles l'extraction a été effectuée, essentiellement les solvants utilisés et la température d'extraction. Ces derniers affectent le contenu total en polyphénols. (Xiaonan Lu et al., 2011).

III.2. Quantification des composés phénoliques :

L'analyse quantitative des teneurs en composés phénoliques des extraits issus des pelures d'oignon (*Allium cepa*) sont déterminées graphiquement à partir des équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage et exprimée en mg EAG/g d'extrait. Les résultats obtenus de cette analyse sont illustrés dans la figure suivante :

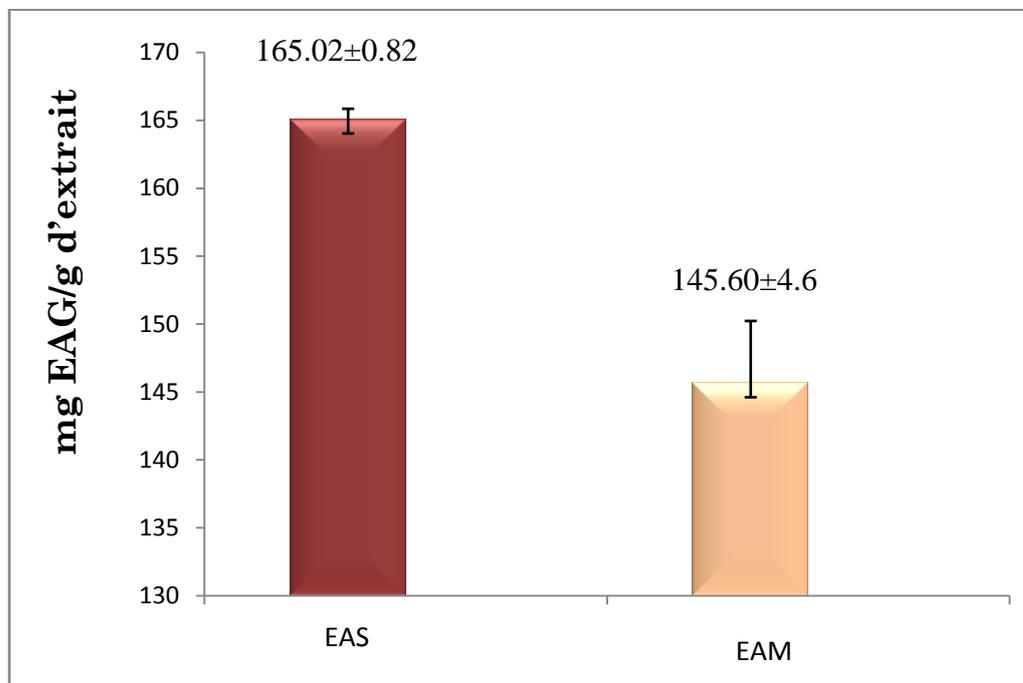


Figure N°05: Teneur en composés phénoliques totaux des extraits d'*Allium cepa*

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm écarte type de deux essais indépendants)

D'après les résultats obtenus on remarque que la teneur en polyphénols pour l'extrait d'*Allium cepa* issu de la méthode de sonication est d'ordre de 165.02 mg EAG/g d'extrait et elle est évaluée à 145 mg EAG/g d'extrait pour l'extrait issu de la méthode de macération. On constate que l'extrait issu de la technique de sonication est plus riche en polyphénols (165.02mg EAG/g d'extrait) que celui obtenu par la méthode de macération (145.605mgEAG/g d'extrait), ceci peut être expliqué par le

fait que la sonication permet la perturbation de l'intégrité des membranes cellulaires ce qui provoque la libération du contenu cellulaire dont les poly phénols.

Ces résultats sont similaires à ceux indiqués par **Liu et al. (2009)** ; **Zill (2011)** et **Razavi et Kenari (2016)**, ces dernières ont démontré que les extraits obtenus par la technique de sonication enregistrent la meilleure teneur en polyphénol en comparaison avec ceux obtenus via l'extraction par macération. Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Zhang et al (2016)**, ces chercheurs indiquent que l'extrait éthanolique d'*Allium cepa* présente une teneur en polyphénols d'ordre de $6,22 \pm 0.03.91$ mg/g.

Duan et al, (2015) ont rapporté que l'extrait éthanolique de la pelure d'oignon (*Allium cepa*) présente un taux de polyphénols d'ordre de 113.56 ± 0.86 mg EAG/g extrait.

Mudathir et al. (2017) ont enregistré une teneur en polyphenols d'ordre 28.94 ± 2.331 mg EAG/g d'extrait pour l'extrait d'*Allium cepa*.

La teneur en composés phénoliques d'*Allium cepa* de notre extrait issu de la macération est supérieure à celle obtenue par **Razavi et Kenari (2016)**, ces derniers ont indiqué une valeur de 120.19mg EAG/g extrait. Alors que pour la méthode de sonication ils ont trouvé une teneur plus élevée que celle obtenue au cours de notre étude (371.62 mg AG/g extrait *versus* 165.02 mg EAG/g d'extrait).

III.3. Teneur en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits d'*Allium cepa* issus de deux méthodes extractions sont présentées dans la figure suivante :

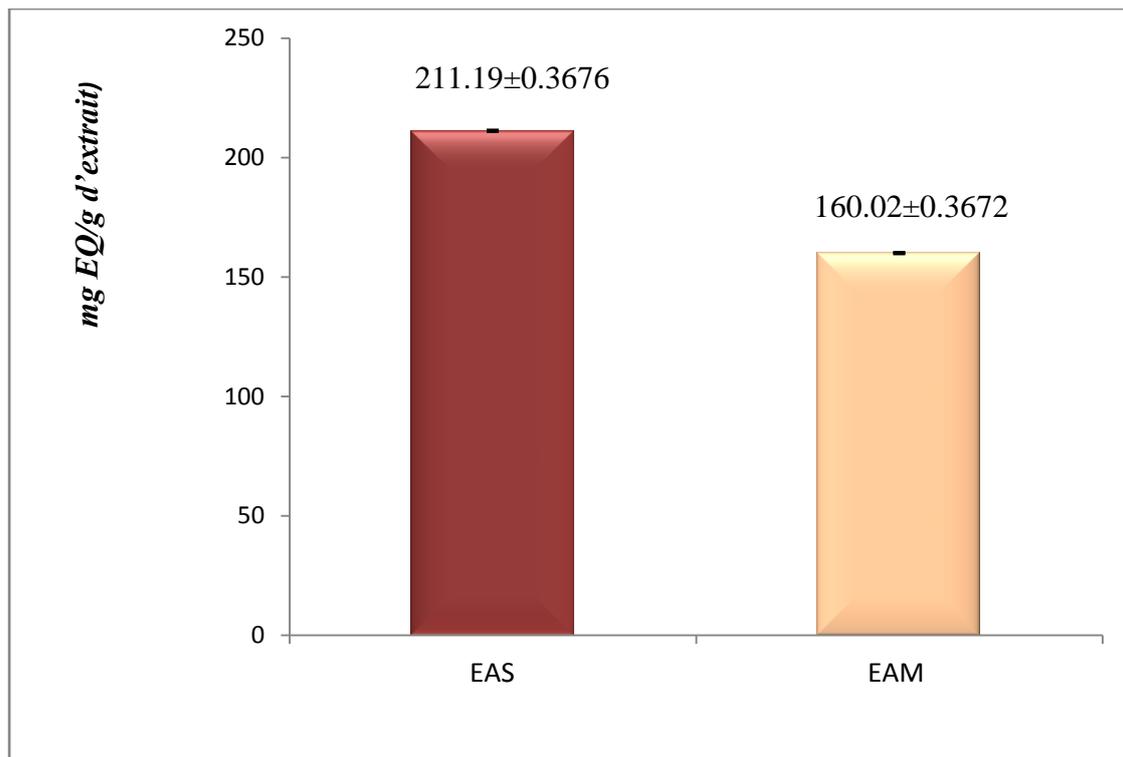


Figure N°06 : Teneur en flavonoïdes des extraits d'*Allium cepa*

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm écart type de deux essais indépendants)

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en flavonoïdes des extraits d'*Allium cepa* issus des deux méthodes d'extraction sonication et la macération sont de l'ordre de 211.19 mg EQ/g d'extrait et de 160.0259 mg EQ/g d'extrait respectivement. On constate que l'extrait issu de la méthode d'extraction par sonication est plus riche en flavonoïdes par rapport à l'extrait issu de la méthode de macération. Ce résultat est similaire à ceux indiqués par Liu, *et al.* (2009) ; Zill, (2011) et Razavi et Kenari (2016) ce qui confirme que les extraits obtenus par la technique de sonication représentent la meilleure teneur en flavonoïdes en comparaison avec ceux obtenus par le biais de la macération. Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Duan *et al.* (2015) ont montré que l'extrait éthanolique de la pelure d'oignon (*Allium cepa*) présente une teneur en flavonoïde d'ordre de 49.63 ± 0.55 mg EQ/ g d'extrait.

Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Mudathir *et al.* (2017) qui ont rapporté que la teneur en flavonoïdes l'extrait méthanolique d'*Allium cepa* correspond à 336.10 ± 19.250 mg QE /g extrait.

Razie Razavi et al. (2016) ont enregistré des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de 496.14 mg EQ/g extrait pour l'extrait issu par sonication et une teneur évaluée à $260 \pm 0,25$ mg EAG/g pour l'extrait issu par macération.

III.4. Résultat de l'activité antioxydante

III.4.1. Pouvoir réducteur des extraits d'*Allium cepa*

Les résultats du pouvoir réducteur des extraits d'*Allium cepa* et des antioxydants standards (acide gallique, vitamine C) sont illustrés dans la figure ci-dessous. Ils sont exprimés en concentration effective à 50% (CE50).

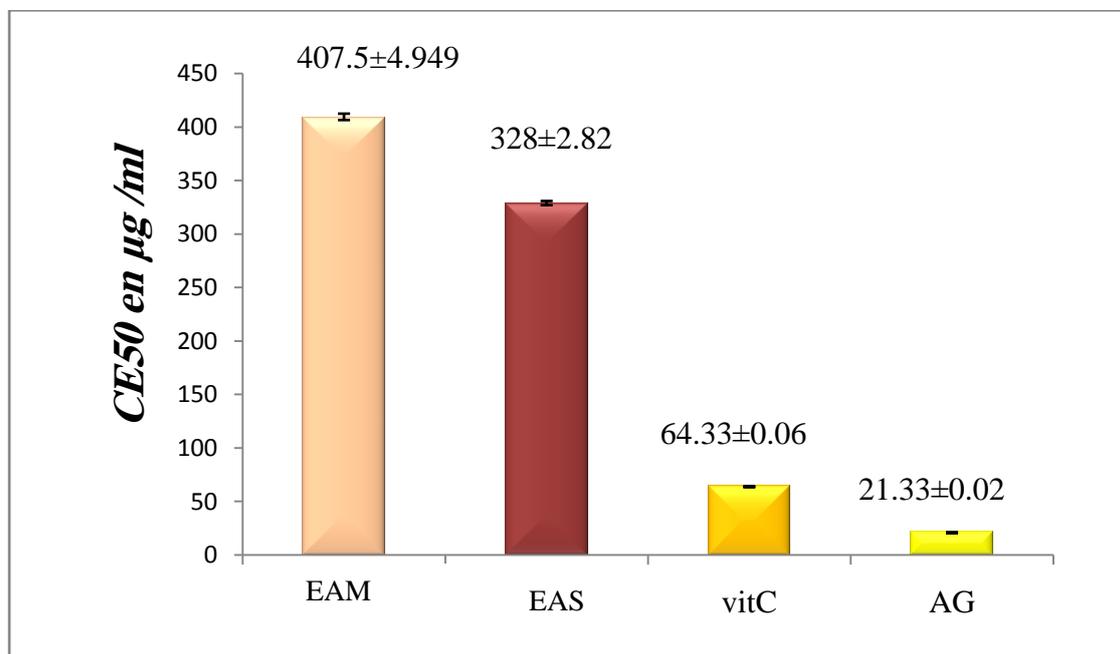


Figure N°07: pouvoir réducteur des extraits d'*Allium cepa* et les antioxydants standards exprimés en CE50

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm écart type de deux essais indépendants)

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits d'*Allium cepa* évaluée par le test de potentiel réducteur (FRAP) révèlent que ces extraits possèdent un pouvoir réducteur puissant avec des CE50 de l'ordre de 335 ± 2.82 µg/ml pour l'extrait issu de la sonication et de l'ordre de 407.5 ± 4.9 µg/ml pour l'extrait issu de la macération. Ce pouvoir est largement inférieur à celui des antioxydants standards à savoir la vitamine C et l'acide gallique qui représentent des CE50 de l'ordre de 64.33 ± 0.065 µg/ml et de 21.334 ± 0.025 µg/ml respectivement. On constate que l'extrait d'*Allium cepa* issu de

la méthode de sonication présente le pouvoir réducteur le plus important ($CE_{50}=335\pm 2.82\mu\text{g/ml}$) en comparaison à l'extrait issu par le biais de la macération ($CE_{50}= 407.5\pm 4.9\mu\text{g/ml}$) ce ci peut être dû a sa richesse en polyphénols (165.02mg EAG/g d'extrait) et en flavonoïdes (211.19 mg EAG/g).

Plusieurs études ont évalué la capacité réductrice des extraits d'*Allium cepa* dont on peut citer :

Mudathir et al. (2017) que l'extrait de pelure d'*Allium cepa* présente un pouvoir réducteur important et plus élevé que l'extrait issu de la bulbe.

Une étude faite par **onyeoziri et al. (2016)** montre que l'extrait méthanolique issu de l'oignon rouge (*Allium cepa*) possède un pouvoir réducteur supérieur à celui obtenu par oignon blanche.

Kaur et al, (2016) ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Allium cepa* présente une activité réductrice importante et supérieure à celle obtenue par l'extrait aqueux.

III.4.2. Pouvoir piègeur du radical libre DPPH.

La capacité de piéger le radical libre DPPH \cdot des extraits d'*Allium cepa* et des antioxydants standards (acide gallique et la vitamine C) sont représentés dans

la figure N°08 :

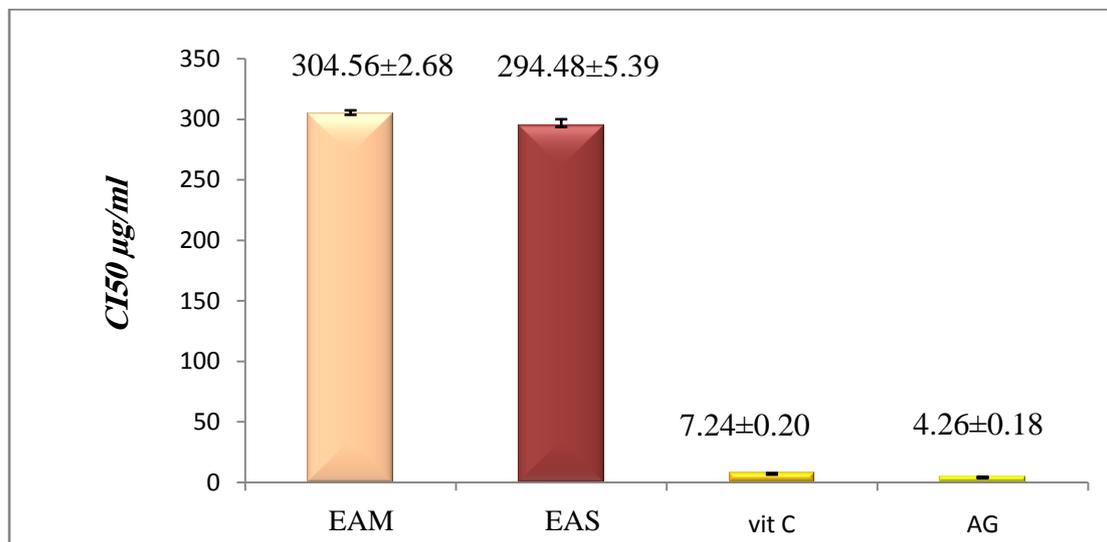


Figure N°08: Capacité de piéger du radical libre des extraits d'*Allium cepa* et les antioxydants standards exprimée en CI50

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm écart type de deux essais indépendants)

Ces résultats indiquent clairement que les extraits d'*Allium cepa* possèdent une bonne activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH[•]. Avec des valeurs de CI₅₀ de l'ordre de 304.56±2.68 µg/ml pour l'extrait issu de la macération et de 294.48±5.39 pour l'extrait issu de la sonication. Cette activité est largement inférieure à celles des antioxydants standard, vitamine C et l'acide gallique qui représentent des CI₅₀ de l'ordre de 7.24±0.209 µg/ml et 4.26±0.185 respectivement. On constate toujours que l'extrait issu de la sonication présente la meilleure activité antiradicalaire par rapport à l'extrait issu de la macération. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par **Quiroz-Reyes et al. (2013)**, **Hussain et al. (2012)** et **Szydłowska Czerniak et Tulodziecka (2014)**.

Cette activité antiradicalaire des extraits d'*Allium cepa* peut être attribuée à la présence des flavonoïdes qui semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH[•], en raison de leur structure chimique idéale. Les flavonols (par exemple, la quercétine) sont considérés comme puissant antioxydant en raison de leur capacité à éliminer les radicaux libres (**Benmalek et al., 2013**).

L'activité antioxydante de l'*Allium cepa* est attribuée à ses composés phytochimiques, tels que les composés organosulfurés, les acides phénoliques, les flavonoïdes, (la quercéthine et le flavonol), les thiosulfonates, saponines et les anthocyanes (**Zeng et al., 2017**). **Mnayer et al. (2014)**.

III.5. Évaluation de l'activité antibactérienne

La lecture des résultats se fait visuellement par l'observation de la croissance de l'inhibition de la croissance des bactéries à tester par rapport à la croissance sur la boîte témoin sans extraits. La CMI est définie comme étant la plus faible concentration du produit pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu. Les valeurs de CMI sont exprimées mg/ml (**Noel et Leyvral., 2001**). Les résultats obtenus illustrés dans le tableau suivant :

Tableau N°03 : Valeurs de CMI des extraits d'*Allium cepa* testés.

Souches Bactériennes	<i>Escherchiacoli</i> ATCC25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Extraits phénolyliques issu de la			
Macération	80 mg / ml	8 mg / ml	64 mg / ml
Sonication	80 mg / ml	8 mg / ml	64 mg / ml

D'après les résultats obtenus on constat que les deux extraits d'*Allium cepa* Présentent une activité antibactérienne similaire contre toutes les souches testées avec des CMI d'ordre de 80 mg / ml pour *E.coli*, 8 mg / ml pour *S.aureus* et 64mg / ml pour *P.aeruginosa* . L'effet antibactérien des extraits d'*Allium cepa* peut être dû à la présence des composés bioactifs tels que saponines, tanins, flavonoïdes et alcaloïdes (**Abdulkadir et al .2021**). En plus que *Allium cepa* est riche en quercétine et l'allicine qui sont des agents antibactériens puissants. En effet la quercétine se lie à l'ADN gyrase des bactéries tandis que l'allicine inhibe certaines enzymes contenant du thiol dans les micro-organismes par la réaction rapide des thiosulfinate (**Deepak Kumar Shrestha 2016**). On constate que les extraits d'*Allium cepa* possèdent un effet antibacterien plus important contre la bactérie Gram positive (*S.aureus*) que les bactéries Gram négatif (*E. coli* et *P.aeruginosa*) ceci peut être lié à l'organisation et à la structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives, qui possèdent une membrane riche en lipopolysaccharides formant une barrière contre la pénétration des molécules actives, alors que les bactéries Gram-positives ne possèdent pas une telle structure. (**Benmaleket al., 2013**). Le même résultats à été obtenus par l'étude de **Željana Fredotović et al , 2021** qui à démontré que les extraits de déchets d'oignons (*Allium cepa*) possèdent une meilleure activité inhibitrice sur les bactéries gram positives par rapport aux bactéries gram-négatives. Plusieurs études scientifiques ont démontré l'effet antibactérien d'*Allium cepa* :

Delisle et al. (2019) ont rapporté que l'extrait de bulbes d'oignon possède un effet antibactérien contre *Xanthomonas campestris* pv. *viti* et *Pseudomonas cichorii*.

Benmaleket al. (2013) ont trouvé que les extraits de *A. cepa* sont efficaces contre *Escherichia coli* ATCC 2599, *P.aeruginosa* ATCC 27852 et *S. aureus* ATCC 25923.

Santas et al. (2009) ont obtenu que l'extrait d'oignon possède une activité antibactérienne contre les bactéries gram positives : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et *Listeria monocytogenes*.

Kim, et al. (2011) ont trouvé que l'extrait de pelure d'oignon a une l'activité bactéricide contre *Bacillus cereus* KCCM40935 et KCCM11341.

Abdulkadir et al. (2021) ont démontré que l'extrait éthanolique d'*Allium cepa* présente une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* et *Bacillus*.

Une étude faite par **Zafar Iqbal et al. (2020)** montre que l'extrait *Allium cepa* issu de la méthode d'extraction sonication possède un effet inhibiteur contre trois souches bactériennes *Escherichia coli* ATCC 13706, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 4240).

Conclusion

Les plantes médicinales sont utilisées de puis l'antiquité par l'homme pour traiter de nombreuses maladies, ces végétaux contiennent des composés bénéfiques pour la santé humaine. Parmi ces plantes médicinales se trouve l'oignon (*Allium cepa*), qui a fait l'objet de notre travail où on a évalué activité antibactérienne et antioxydante de ses extraits phenoliques issus de deux méthodes d'extraction : la macération et la sonication.

Les résultats obtenus montrent que l'oignon rouge *Allium cepa* est riche en polyphénols avec des rendements de l'ordre de 11.22% pour la méthode de macération et de 16.41% pour la méthode de sonication. La méthode de sonication, présente le meilleur rendement avec une valeur de 16.41%. L'analyse quantitative des teneurs en composés phénoliques des extraits montre que l'extrait issu de la méthode de sonication présente la teneur la plus élevée en polyphénols (165.02 mg EAG/g d'extrait) et en flavonoïdes (211.19 ± 0.36 mg EAG/g d'extrait).

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du pouvoir réducteur (FRAP), indique que les extraits d'*Allium cepa* présentent une capacité réductrice importante, Cette capacité des extraits étudiés reste inférieure à ceux des antioxydants standards, l'acide gallique et la vitamine C, on constate que l'extrait issu de la méthode de sonication présente la meilleure capacité réductrice du fer avec une valeur de CE50 évaluée à 335 ± 2.82 μ g /ml.

Les résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH• indiquent clairement que les extraits d'*Allium cepa* possèdent une bonne activité antiradicalaire vis-à-vis le radicale DPPH• Avec des valeurs de CI₅₀ de l'ordre de 304.56 ± 2.68 μ g/ml pour l'extrait issu de a macération et de 294.48 ± 5.39 pour l'extrait issu de la sonication. Si bien que les antioxydants standards, l'acide gallique et la vitamine C, présentent toujours une forte capacité de piégeage du radical DPPH•, avec des CI₅₀ de 4.26 ± 0.18 μ g /ml et de 7.24 ± 0.20 μ g /ml respectivement, par rapport à nos extraits.

D'après les résultats obtenus on constat que les deux extraits d'*Allium cepa* présentent une activité antibactérienne similaire contre toutes les souches testées avec des valeurs de CMI de l'ordre de 80 mg / ml pour *E.coli*, 8 mg / ml pour *S.aureus* et 64 mg / ml pour *P.aeruginosa*.

L'ensemble des résultats obtenus dans notre étude montre la richesse des extraits *Allium cepa* en substances bioactives qui présentent des activités antioxydantes et antibactériennes importantes.

*Références
bibliographiques*

A decorative banner with a dark red background and white borders, featuring the letter 'A' in the center.

A

Abdulkadir, F. M., Mustapha M., Haruna, H.M. S., 2021. Phytochemical Screening and in vitro Activity of *Allium cepa. L.* Ethanol Extract Against Bacteria Isolated from Hawked *Moringa oleifera* Meal Sold within Kaduna Metropolis

Arzneimittel-Forschung, Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology,

A decorative banner with a dark red background and white borders, featuring the letter 'B' in the center.

B

Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., CazinM ., Cazin C., Pinkas M., (1996).Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations.

Benatrehina A.J., 2011. Les vertus de *Allium cepa* Linné (Liliaceae) ou oignon ,Université de Mahajanga, Republique de Madagascar.

Benmalek., Ait Yahia., Belkebir., Fardeau ., 2013.Anti-microbial and anti-oxidant activities of *Illicium verum*, *Crataegus oxyacanthasspmonogyna*and *Allium cepa* red and white varieties.

Bennacer M., Bouderbala A., 2016. Etude du désherbage (chimique et manuel) en pépinière sur la culture d'oignon *A. cepa*. (Deux hybrides F1 et une variété population),Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

Boubakeur H., Rebbas., K.,Belhattab R., 2017. Activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Helichrysumstoechas* (L.) Moench.Phytothérapie.

Boukraâ L., 2008. Additive activity of royal jelly and honey aganist*Pseudomonas aeruginosa*. *Alternative Medecine Review*, 13, 330-333.

Blois M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical Nature.

Briber N., 2020. Activité antioxydante et antibactérienne de la plante *Allium cepa* Université Mohamed Seddik Ben Yahia – **jijel**.

Bystrická J. et al., Musilová. J., Vollmannová. A., Timoracká. M, 2013. Bioactive components of onion (*Allium cepa*).



D

Delisle-Houde M., Toussaint V., Russell J., Tweddell., 2019. Évaluation de l'activité antibactérienne contre *Xanthomonas campestris* sp. *vitianset Pseudomonas cichoriide* différents extraits végétaux à base d'espèces horticoles et d'essences forestières.

Duan Y., JinH .D ., Kim H .S., Seong J. H ., Lee G. Y., Kim D .S., Chung H. S

2015. Analysis of Total Phenol, Flavonoid content and Antioxidant Activity of Various Extraction Solvents Extracts from Onion (*Allium cepa L*) Peels.



F

FausatK.,MudathirO.,ArogundadeA.,MoshoodA.,Eferem.,Obuotor2017.

Comparative Evaluation Of Antioxidant Properties OfMethanol Extracts Of *Allium Cepa* Bulb, *Allium Cepa* Bulb Peels And *Allium Fistulosum*.

Fredotović., Puizina ., Nazlić., Maravić., Ljubenković., Soldo ., Vuko., Bajić., 2021 . Phytochemical Characterization and Screening of Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Properties of *Allium cornutum Clementi* and Two Varieties of *Allium cepa* L. Peel Extracts.



J

Jessie wong2017 : <https://www.bjultrasonic.com/fr/how-does-sonication>.



H

Hichri I., 2019. Optimisation de l'extraction des polyphénols sans pesticides ainsi que leurs caractérisations dans les extraits d'oignon jaune et rouge, Québec, Canada.

Hussain, A.I. Chathash, A.Z. Noor, S. Arshad, M.U. Khan, Z.A. Rathore, H.A. Sattar, M.Z.A (2012). Effect of Extraction Techniques and Solvent Systems on the Extraction of Antioxidant Components from Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Hulls.



I

Iqbal Z.,Yaqub Az., Choudhry N., Altaf A., Sajid Rashid Ahmad4, Majid M., LiaqatL., 2020. Ultrasonic extraction of onion (*Allium cepa*) peel dye, its applications on silk fabric with bio-mordants and its antibacterial activity.



k

Kaur G., Gupta V., Christopher A F., Bansal P., (2016). Antioxidant Potential of Most Commonly Used Vegetable - Onion (*Allium cepa L.*).

Kawabata K., Mukai R., Ishisaka A., 2015. Quercetin and related polyphenols: new insights and implications for their bioactivity and bioavailability.

KimW J., Ah Lee K., Kim K-T., Chung M-S., Cho S W., Paik H-D ., 2011. Antimicrobial Effects of Onion (*Allium cepa L.*) Peel Extracts Produced via Subcritical Water Extraction against *Bacillus cereus* Strains as Compared with Ethanolic and Hot Water Extraction.

Kiriamiti, K.H. 2003. Extraction de pyréthrines par CO2 liquide et super critique, PhDThesis, INP Toulouse.

Konate M., Parkouda Ch., Tarpaga V., Guira F., Rouamba A., Sawadogo H – Lingani 2017. Evaluation des potentialités nutritives et l’aptitude à la conservation de onze variétés d’oignon (*Allium cepa L.*) bulbe introduites au Burkina Faso.



L

Liu, S.C. Lin, J.T. Wang, C.K. Chen, H.Y. Yang, D.J (2009).Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis*Sonn.) flowers. Food Chemistry.

LumbuS., Kahumba B. Kahambwe T., Mbayo T., Kalonda M., Mwamba M., Penge O., (2005).Contribution à l’étude de quelques plantes médicinales anti diarrhéiques en usage dans la ville de Lubumbashi et ses environs. Annales de Pharmacie.



M

Marefati N., Ghorani V., Shakeri F., Boskabady M., Kianian F., Rezaee R ., Boskabady M H., 2021. A review of anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Allium cepa* and its main constituents.

Mnayer Dima, Anne-Sylvie Fabiano-Tixier , Emmanuel Petitcolas , Tayssir Hamieh , Nancy Nehme , Christine Ferrant , Xavier Fernandez , et Farid Chemat. ,(2014). Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Six Essential Oils from the *Alliaceae* Family, *journal of Molecules*.

Marefati N., Ghorani V., Shakeri F., Boskabady M., Kianian F., Rezaee R ., Boskabady M H.,2021. A review of anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Allium cepa* and its main constituents.



N

Noel J., Leyvral G., 2001. Microbiologie technique. Dictionnaire des techniques 3èmes éditions du centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine. 213-219.



O

Oyaizu M., (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*.



P

Pandey K B., Rizvi S., 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and diseases.



Q

Quiroz-Reyes C.N.;Aguilar-Ménez; Ramirez-ortiz ME ;(2013). comparative study of ultrasound and maceration techniques for the extraction of polyphenols from *Allium cepa*.



R

Razavi R., Kenari R. E ,(2016) .Antioxidant activity of red onion (*Allium cepa L*) peel extract produced by maceration, ultrasonic assisted and supercritical extraction techniques.



S

Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A., Saura-Calixto F., (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture.

Santas J., Almajano M P., Carbo R., 2009.Antimicrobial and antioxidant activity of crude onion (*Allium cepa L*) extracts.

Singleton V., Orthofer R., Lamuela- Raventos R., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation subctrates and antioxydants by means of folin-ciocalteau reagent. Methode of enzymologie.

Shrestha D K., Sapkota H., Baidya P., Basnet S., 2016. Antioxidant And Antibacterial Activities Of *Allium Sativum* And *Allium Cepa*.

Soussy C.J., Bonnet R., Cavallo J.D., Chardon H., Chidiac C., Courvalin P., Dabernat H., Drugeon H., Dubreuil L., Guery B., Jarlier V., Jehl F., Lambert T., Leclercq R., Nicolas-chanoine M.H., Plesiat P., Quentin C., Rouveix B., Varon E., Weber P., 2010. Comite de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Recommandations 2010).<http://www.sfm.asso.fr>.



X

Xiaonan Lu a, Jun Wangb., Hamzah M., Al-Qadiri c, Carolyn F., Ross a., Joseph R., Powers a., Juming Tang d., Barbara A., Rasco., 2011. Determiration of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy.



Z

Zill H, Vian MA, Fabiano-Tixier AS, Elmaataoui M, Dangles O, Chemat F. (2011). A remarkable influence of microwave extraction: Enhancement of antioxidant activity of extracted onion varieties. Food Chemistry.

ZHANG S., DENG P., XU., LÜ S., WANG J., (2016) .Quantification and analysis of anthocyanin and flavonoids compositions, and antioxidant activities in onions with three different colors.

Zeng Yawen, YupingLi ,Jiazhen Yang , Xiaoying Pu , Juan Du , Xiaomeng Yang , TaoYang et Shuming Yang.,(2017), Therapeutic Role of Functional Components in Alliums forPreventive Chronic Disease in Human Being, *journal of Evidence-BasedComplementary and Alternative Medicine*

ANNEXE

Annexe I: Description botanique et classification d oignon d '*allium cepa*

Description botanique

A- Morphologie

Allium cepa est une plante potagère. C'est une espèce herbacée, vivace à bulbe unique et à feuilles vertes, cylindrique et creuse. Elle est haute de 60 jusqu'à 100 cm, à tige florale dressée et creuse et dont le renflement à la base aboutit au bulbe qui est généralement gros et sphérique mais parfois aussi allongé. La fleur est petite, de 4 à 5 mm de large, de couleur blanche ou verte et regroupée en ombrelle sphérique à l'extrémité de la tige, la plupart des oignons rencontrés possèdent un bulbe sphérique, un peu aplati aux pôles et de couleur rouge (**benatrehina, 2011**). La plante est biennale (selon le cultivar), et dégage une odeur lorsqu'elle est écrasée elle possède des racines fibreuses adventives peu profondes. Elle est composée de petites fleurs blanches ou blanc verdâtre qui poussent à l'extrémité de la tige au cours de la deuxième année de la plante. (**Fritsch, 2005**). Le bulbe de l'oignon comestible peut atteindre jusqu'à 10 cm de diamètre et se compose de plusieurs couches superposées sur un noyau central. Les bases externes des feuilles du bulbe perdent leur humidité et deviennent écailleuses au moment de la récolte, et les feuilles intérieures s'épaississent à mesure que le bulbe se développe. La majorité des espèces d'oignons poussent dans les endroits suivants : terrain ouvert, ensoleillé et sec, principalement dans les climats humides. Cependant, les espèces d'*Allium* ont été adoptées dans d'autres niches écologiques du monde (**Fritsch et Friesen, 2002**).

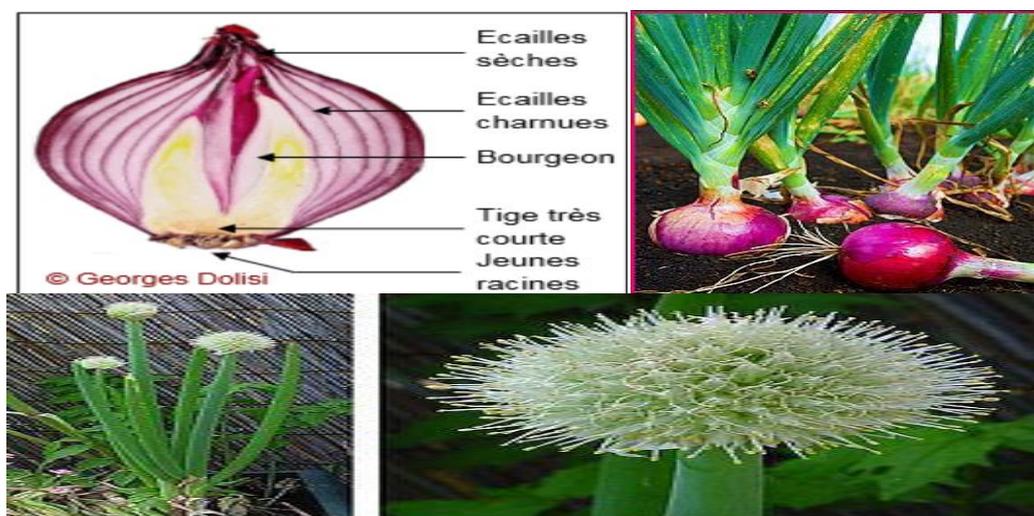


Figure 01: Description morphologique de l'oignon.

B- Classification botanique

Le genre *Allium* est très vaste et comprend de nombreuses espèces sauvages comestibles et est largement distribué dans les zones tempérées de l'hémisphère nord, Le lieu d'origine est supposé être en Asie centrale et les régions méditerranéennes sont considérées comme le centre d'origine secondaire. Le genre *Allium* contient plus de 780 espèces avec de grandes diversités dans les caractères morphologiques (**Pareek et al, 2017**).

La classification systématique botanique de l'espèce *Allium cepa* est la suivante :(<http://www.onionsgate.com/page=variété>)

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Liliopsida*

Sous-classe : *Liliidae*

Ordre : *Liliales*

Famille : *Liliaceae*

Genre : *Allium*

Nom binomiale : *Allium cepa*.

Annexe II. Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques

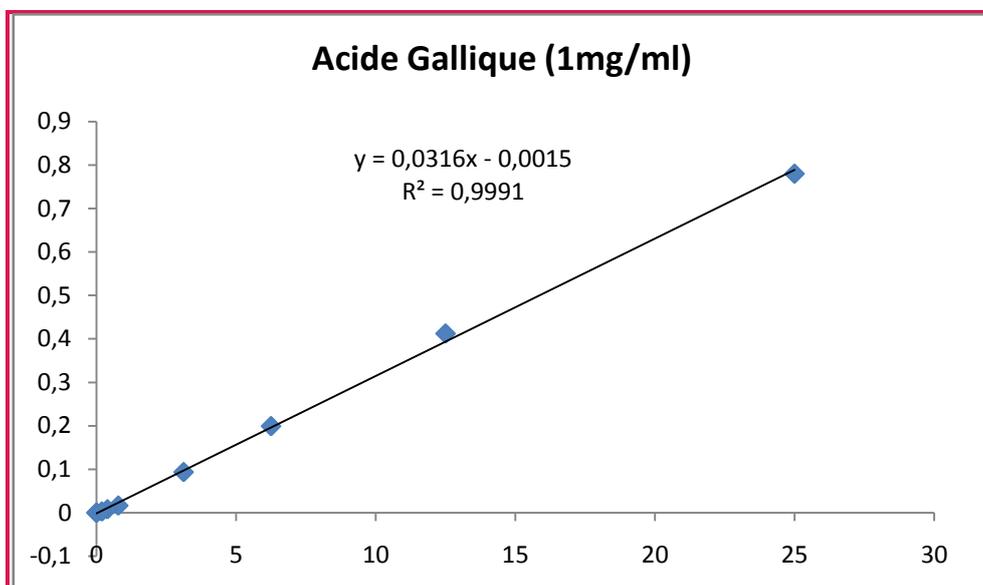


Figure N°01: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

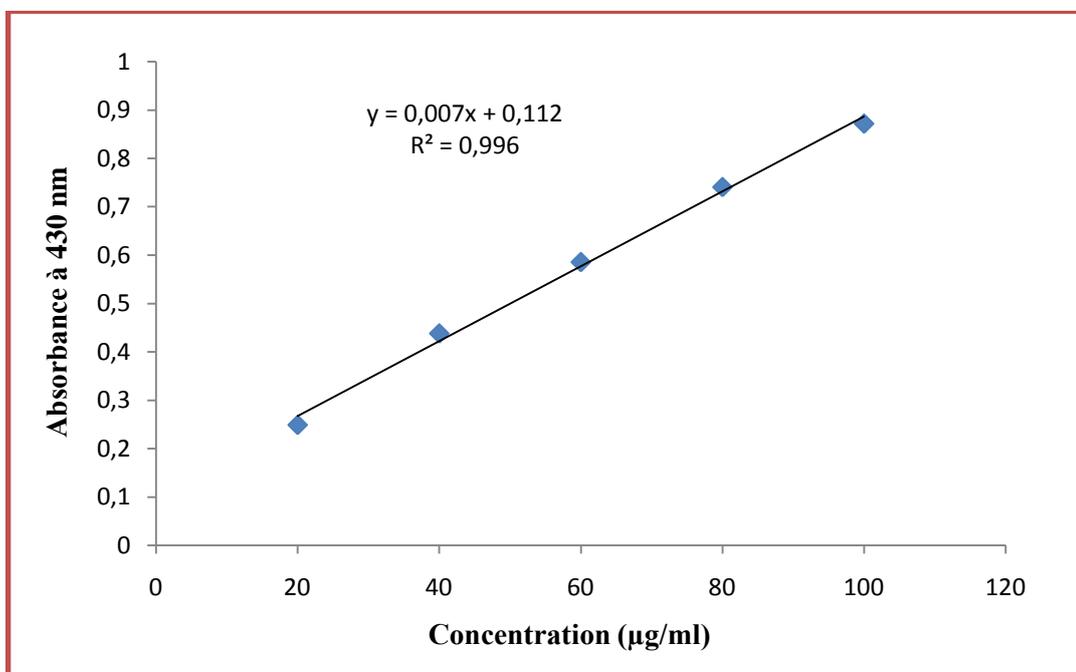


Figure N°02: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Annexe III Courbes d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydant

III.1. Courbes de régression linéaire utilisées dans l'évaluation de la CE50 par la méthode FRAP

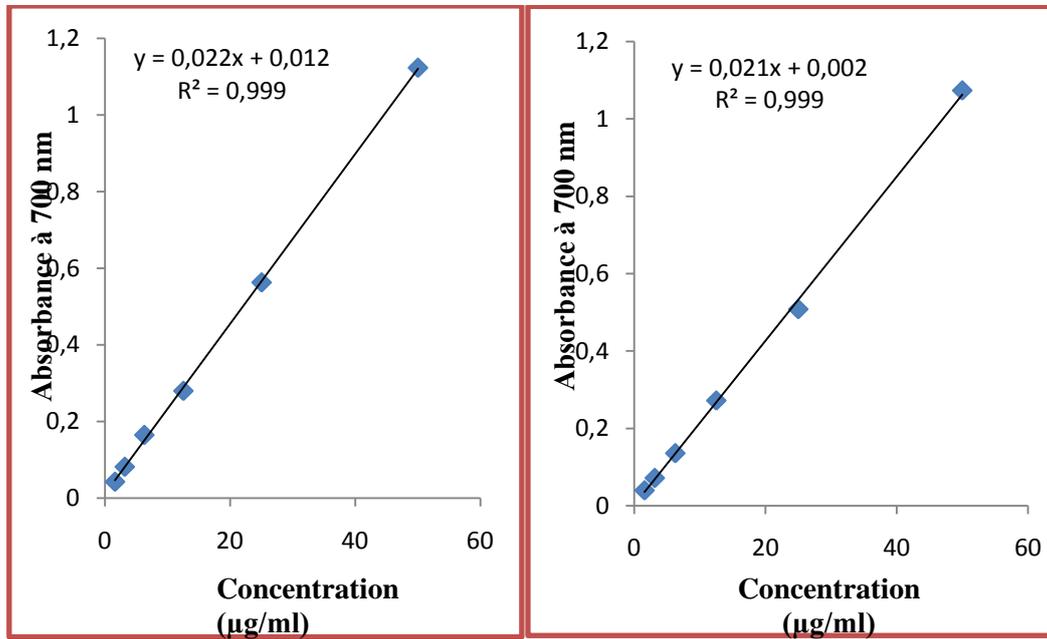


Figure N03°: le pouvoir réducteur de la CE50 de l'acide gallique.

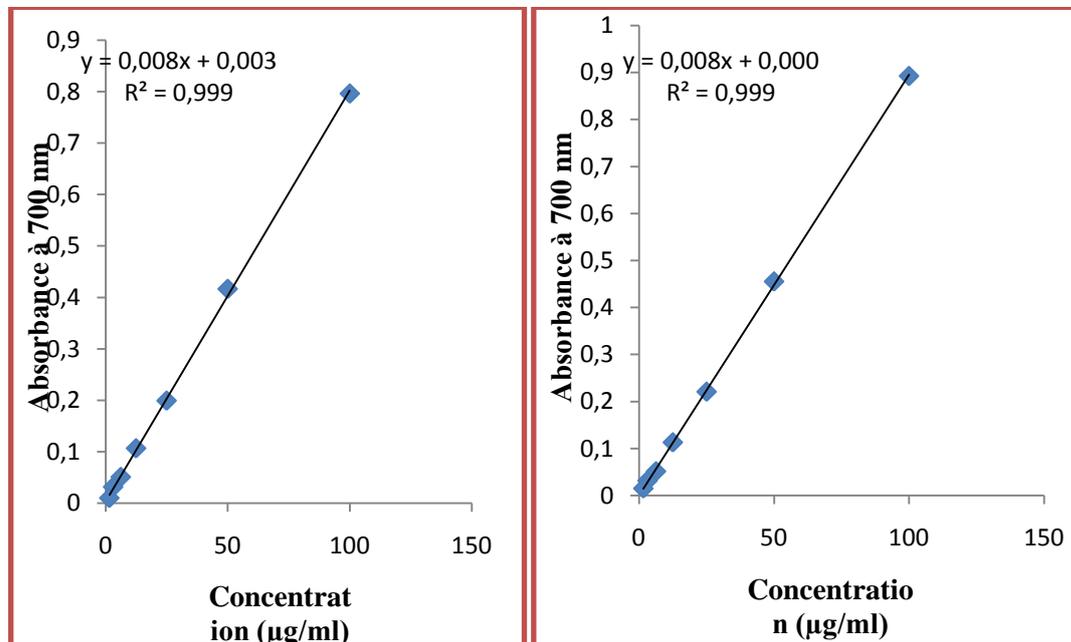


Figure N°04 : Le pouvoir réducteur de la vitamine C

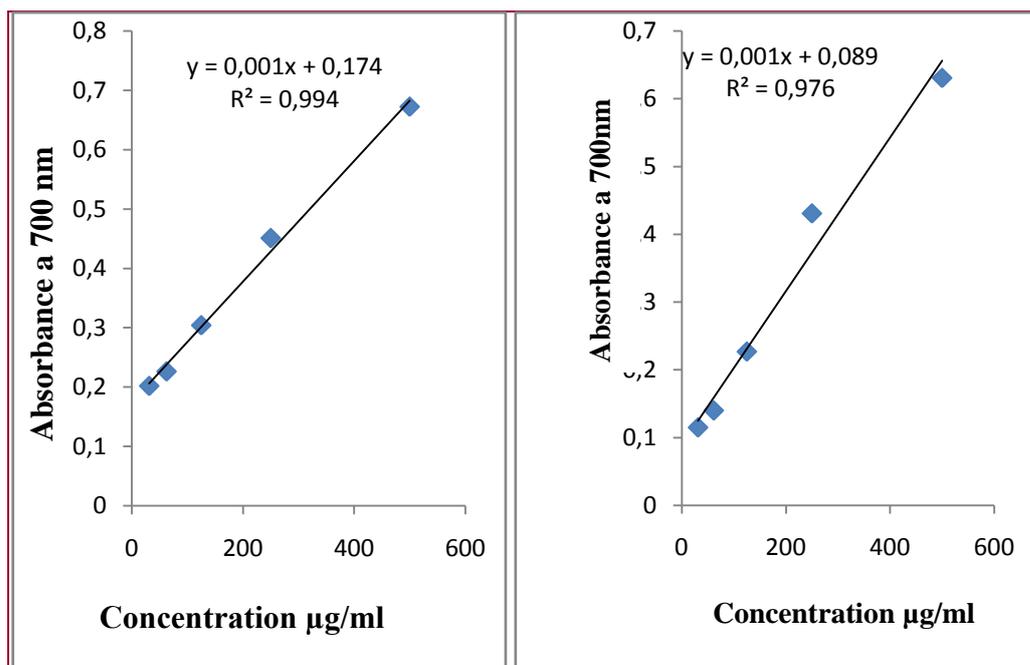


Figure N°05: Le pouvoir réducteur de l'extrait d'EAS

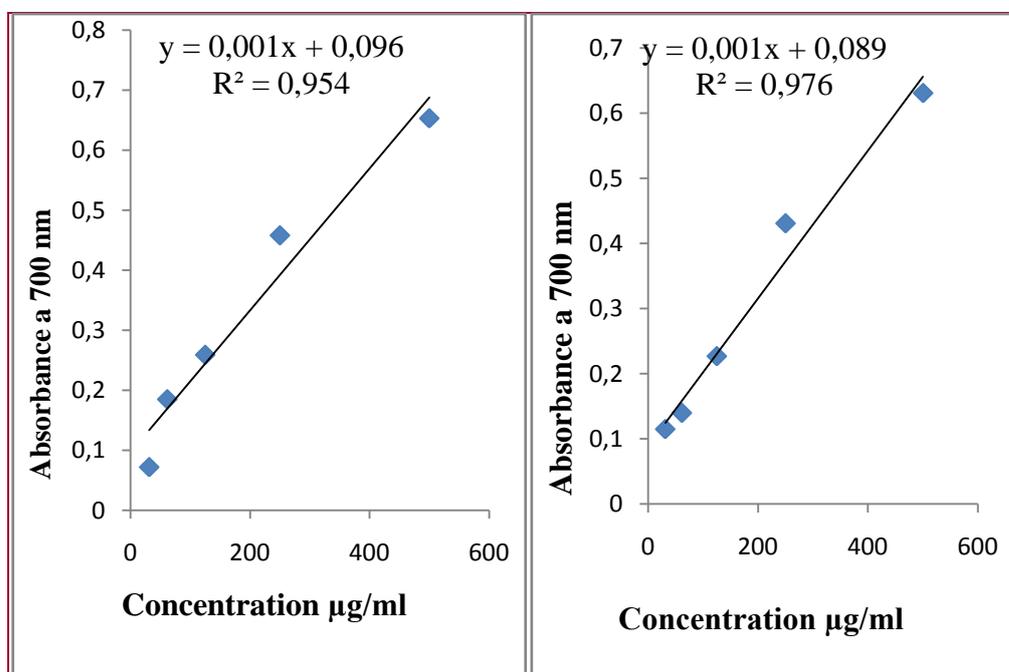


Figure N°06: Le pouvoir réducteur de l'extrait d'EAM

III .2. le Test de DPPH•

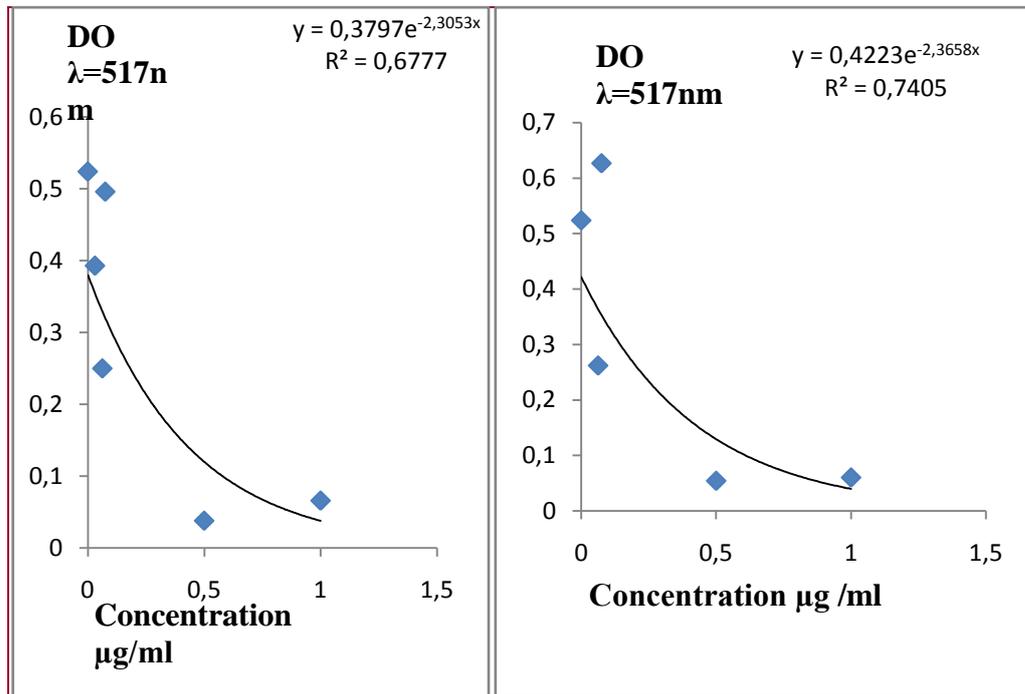


Figure N°07: DPPH de l'extrait d' EAS

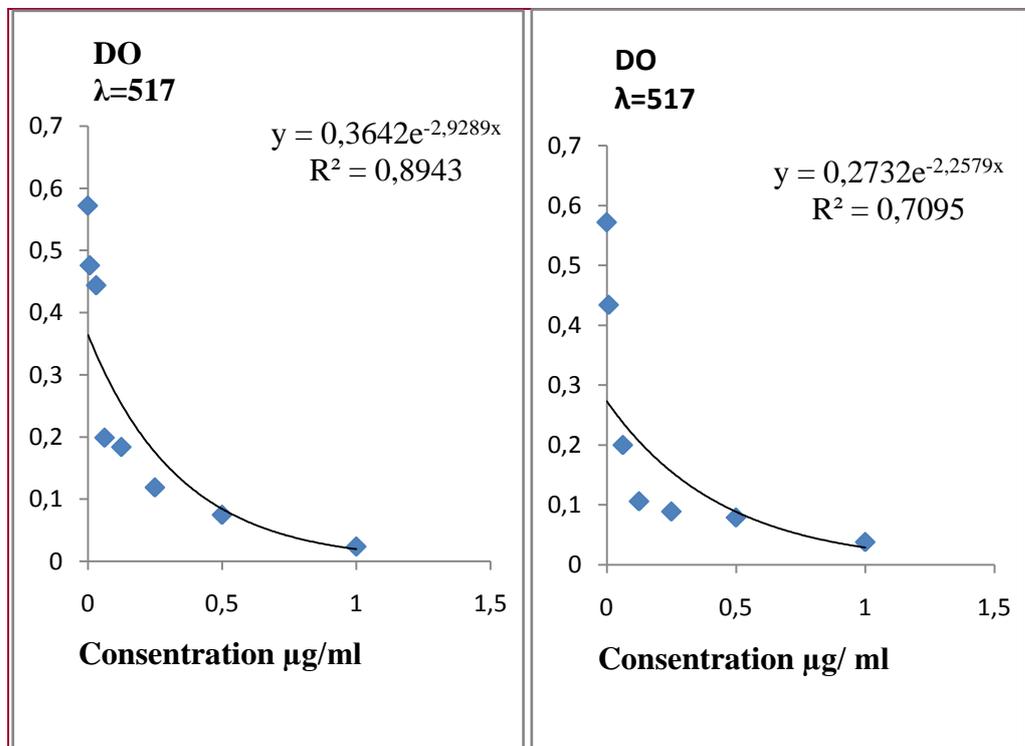


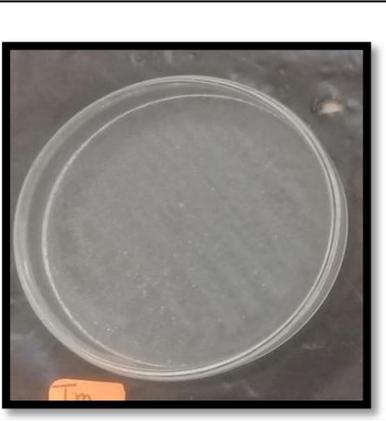
Figure N°08: DPPH de l'extrait d'EAM

Annexe IV : Valeurs des CMI d'extraits d'*Allium cepa* testé

1-A-*Escherichia coli* pour l'extrait de macération

<p><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>			
	<p>Témoin(+)</p>	<p>72mg/ml</p>	<p>CMI= 80mg/ml</p>

1-B-*Escherichia coli* pour l'extrait de sonication

<p><i>Escherichia coli</i> ATCC25922</p>			
	<p>Témoin(+)</p>	<p>72mg/ml</p>	<p>CMI= 80mg/ml</p>

2-A-*Staphylococcus aureus* pour l'extrait de macération

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862			
	Témoin(+)	6.4mg/ml	8mg/ml

2-B-*Staphylococcus aureus* pour l'extrait de sonication

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862			
	Témoin(+)	6.4mg/ml	8mg/ml

3-A-*Pseudomonas aeruginosa* pour la macération

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 278553			
	Témoin(+)	56mg/ml	CMI=64mg/ml

3-A-*Pseudomonas aeruginosa* pour la sonication

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 278553			
	Témoin(+)	56mg/ml	CMI=64mg/ml

Annexe V : Composition des milieux de culture

1- Gélose de Muller Hinton

Infusion de viande de bœuf	2 g/L
Amidon	1,5 g/L
Hydrolysate de caséine	17,5 g/L
Agar	17 g/L

composition théorique (en g/l d'eau distillée)

2-La gélose King B est préparée selon la formule théorique décrite par King, Ward et

Raney .conce

Peptone	20
Agar purifié	12
K₂HPO₄ (anhydre)	1,5
MgSO₄. 7 H₂O (anhydre)	1,5

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée

3-Gélose de Chapman

Peptones	10,00
Extrait de viande de bœuf	1,00
D-mannitol	10,00
Chlorure de sodium	75,00
Rouge de phénol	0,025
Agar	15,00

Le milieu de **Mac Conkey**

Peptones bactériologiques	20
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium	5
Lactose	10
Rouge neuter 0,03	
Cristal violet	0,001
Agar	13,5
pH final	7,1 ± 0,2

Résumé

Actuellement, le développement de la résistance bactérienne aux antibiotiques et la Toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement dans les plantes aromatiques et médicinales pour leur richesse en composés bioactifs naturels comme les polyphénols. Parmi ces plantes médicinales l'oignon (*Allium cepa*) qui est reconnue par ses vertus thérapeutiques et utilisé depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle.

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles et elle a comme objectif l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits d'*Allium cepa* issus de deux méthodes d'extraction : sonication et macération en utilisant l'éthanol à 70% comme solvant. Les résultats obtenus montrent que l'extrait issu de la méthode de sonication présente le meilleur rendement avec une valeur de 16.41% par rapport à l'extrait issu de la macération on note un rendement de 11.22%. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par les méthodes colorimétriques a témoigné la richesse des extraits en ces composés. On constate que l'extrait d'*Allium cepa* obtenu par la méthode de sonication est caractérisé par les teneurs la plus élevées en composés phénoliques et en flavonoïdes (165.02 mg EAG/g d'extrait et 211.19±0.36 mg EQ/g d'extrait respectivement). L'évaluation du pouvoir antioxydant par deux techniques différentes à savoir la réduction du fer: FRAP et le piégeage du radical libre DPPH•, indiquent aussi que l'extrait d'*Allium cepa* issu de la méthode de sonication possède une activité antioxydante importante avec une CE50 de 335± 2.82µg /ml et une CI50 de 294.48±5.39µg /ml.

Le résultat de l'activité antibactérienne indique que les deux extraits d'*Allium cepa* présentent un effet antibactérien similaire contre toutes les souches testées avec des valeurs de CMI d'ordre de 80mg / ml pour *E.coli*, 8 mg / ml pour *S.aureus* et 64 mg / ml pour *P.aeruginosa*.

Mots clés :

***Allium cepa*. Extraits phénoliques. Activité antioxydante. Activité antibactérienne.**

Abstract

Currently, the development of bacterial resistance to antibiotics and the toxicity of synthetic antioxidants have led researchers to draw from the plant world and particularly from aromatic and medicinal plants for their richness in natural bioactive compounds such as polyphenols. Among these medicinal plants, onion (*Allium cepa*) which is recognized by its therapeutic virtues and used since antiquity in traditional medicine.

Our study is part of the valorization of natural resources and its objective was the *in vitro* evaluation of the antibacterial and antioxidant activity of phenolic extracts of *Allium cepa* resulting from two methods of extraction: sonication and maceration using ethanol at 70% as solvent. The obtained results showed that the extract from the sonication method presents the best yield with a value of 16.41% compared to the extract from maceration (11.22%).

The quantitative estimation of total polyphenols and flavonoids by colorimetric methods showed the richness of the extracts in these compounds. It is observed that the *Allium cepa* extract obtained by sonication method is characterized by the highest contents of phenolic compounds and flavonoids which are of the order of 165.02 mg EAG/g extract and 211.19 ± 0.36 mg EQ/g extract respectively. The evaluation of antioxidant power by two different techniques namely iron reduction: FRAP and DPPH- free radical scavenging, also indicate that *Allium cepa* extract from sonication method has significant antioxidant activity with EC₅₀ of 335 ± 2.82 μg /ml and IC₅₀ of 294.48 ± 5.39 μg /ml.

The result of antibacterial activity indicated that both extracts of *Allium cepa* present a similar antibacterial effect against all the tested bacterial strains with MIC values in the order of 80 mg / ml for *E.coli*, 8 mg / ml for *S.aureus* and 64 mg / ml for *P.aeruginosa*.

Key words :

***Allium cepa*. Phenolic extracts. Antioxidant activity. Antibacterial activity.**

المخلص:

حاليا تطور مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وسمية مضادات الأكسدة

الاصطناعية،

دفعت الباحثين إلى الاعتماد على علم النبات وخاصة النباتات العطرية والطبية لغناها بالمركبات الطبيعية النشطة بيولوجياً مثل البوليفينولات، من بين هذه النباتات الطبية، البصل (*Allium cepa*) المعروف بفوائده العلاجية والمستخدم منذ العصور القديمة في الطب التقليدي.

تعد دراستنا جزءاً من تنمية الموارد الطبيعية، هدفها هو التقييم المخبري للنشاط المضاد للبكتيريا و الهضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية للبصل (*Allium cepa*) الناتجة عن طريقتين للاستخلاص: الأمواج فوق الصوتية و النقع باستخدام كحول الإيثانول بتركيز 70% كمذيب.

بينت النتائج المتحصل عليها أن المستخلص الناتج بطريقة الأمواج فوق الصوتية كان له أفضل مردود بقيمة 16.41% مقارنة بالمستخلص المتحصل عليه بالنقع و الذي بلغ مردوده 11.22%. أثبت التقدير الكمي لمستخلصات البصل غناها بالبوليفينولات والفلافونويدات. مستخلص البصل *Allium cepa* الذي تم الحصول عليه بالطريقة فوق الصوتية يملك أكبر كمية من هذه المركبات. أثبت اختبار مضادات الأكسدة باستخدام تقنيتين مختلفتين: إرجاع الحديد (FRAP) وكسح الجذور الحرة (DPPH•)، أن مستخلص البصل المتحصل عليه بالطريقة فوق الصوتية يملك أفضل نشاط مضاد للأكسدة مقارنة بالمستخلص المتحصل عليه بالنقع.

تشير نتيجة النشاط المضاد للبكتيريا أن مستخلصي البصل يظهران نفس الفعالية اتجاه جميع السلالات البكتيرية المختبرة.

على ضوء النتائج المتحصل عليها نستنتج أن مستخلصات البصل غنية بالمواد البيولوجية الفعالة التي يمكن استخدامها كمضادات أكسدة و مضادات بكتيرية طبيعية لعلاج مختلف الأمراض.

الكلمات المفتاحية:

البصل، المستخلصات الفينولية، نشاط مضاد الأكسدة، نشاط مضاد البكتيريا.

