

## الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri de Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la nutrition

#### Intitulé:

# Etude comparative des polyphénols et flavonoïdes isolés des feuilles de Beta vulgaris L et Brassica rapa L

Présenté et soutenu par :

**BOUAFIA Naouel** 

Et

**DRIOUCHE Ahlam** 

Le: 11/07/2019

Jury d'évaluation:

**Président du jury :** Mr ZITOUNI Abdelbaki (MCB- UFM Constantine 1)

**Rapporteur**: Mr NOUADRI Tahar (MCA- UFM Constantine 1)

**Examinatrice**: Mme KASSA LAOUAR Mounia (MAA- UFM Constantine 1)

Année universitaire 2019/2020

### Remerciements

Nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force Et la patience afin d'accomplir ce travail, merci dieu de nous avoir éclairé la voix de la Connaissance.

Nous adressons nos vifs remerciements à notre encadreur **Dr NOUADRI Tahar** qui Nous a fait l'honneur de nous diriger avec patience et gentillesse tout au long de notre Parcours.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont évaluer Ce travail :

Monsieur ZITOUNI Abdelbaki, « Maitre de conférence B » qui nous a fait l'honneur De Présider le jury.

Madame KASSA LAOUAR Mounia « Maitre Assistante A » qui a accepté d'examiner ce travail, nous tenons à lui exprimer notre grand respect.

Nous tenons à remercier profondément **Mr KEBAILI Fethi Farouk** qui nous a Énormément aidé et consacré de son temps pour la réalisation de ce mémoire.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à **Mr BOULDJAJ Redouane** pour ses conseils

Précieux et sa gentillesse à nous apporter son aide à chaque fois qu'on lui demandait.

Nos remerciements s'adressent aussi à **Mr Seddik, Mme Karima, Mme Nesrine** qui

N'ont pas hésité à nous orienter au cours de notre présence au laboratoire.

Nous remercions également tous les enseignants et les responsables de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Nous remercions énormément **Mme Sellaoui** qui n'a pas hésité à nous récolter elle Même notre plante malgré ses nombreuses charges.

Enfin nous remercions gracieusement toute personne ayant contribué de près ou de loin À la réalisation de ce mémoire.



Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes chères à mon cœur :

A mes très chers parents **Mohamed** et **Abla** qui m'ont donné la vie et consacrer toute leurs vie pour me voir heureuse : je vous aime très fort Daddy et Mama, que dieu le tout puissant vous protège et vous donne la bonne santé

A mon grand frère **Djalil** mon idole et ma source de fierté

A ma deuxième et chère sœur **Selma** 

A mes adorables neveux : Nael et Jad

A ma petite et adorable sœur Assia : que dieu te préserve ton joli sourire pour la vie

A ma chère cousine Bouchra qui sans elle ce travail n'aurait jamais vu le jour

A toute ma grande famille, Mes amis et tous ceux qui ont cru en moi

Je vous aime toutes et tous





Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers A mes chers parents Abd el Rachilde et Sarhouda

Aucune dédicace ne serait exprimée mon respect, la profonde gratitude et l'immense amour pour vous, ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse dieu vous accorder santé bonheur et longue vie.

A mes chères sœurs et frères

Je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous unissent et pour votre soutien, vos encouragements en vous souhaitant un avenir plein de succès et de bonheur.

Aux enfants de mes frères et sœurs

A mes amíes

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études



#### Résumé:

Le stress oxydant a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines. Le règne végétal en Algérie est suffisamment riche pour assurer une nutrition pleine en antioxydants naturels, notamment les polyphénols qui ont fait l'objet de notre étude et qui sont des composés ayant une importance croissante grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé, leur rôle d'antioxydant naturel suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires.

L'objet de cette étude est orienté vers la mise en évidence des composés phénoliques (par le dosage des polyphénols et flavonoïdes) dans les feuilles de deux plantes largement présentes en Algérie : *Beta vulgaris L* et *Brassica rapa L* communément appelé Betterave rouge et Navet et faire une comparaison entre elles.

Les résultats obtenus montrent que les différents types d'extraits de feuilles des deux plantes préparés dans des solvants à polarité croissante, sont riches en polyphénols totaux, ils varient entre (66,42 et 165, 41 mg EAG/g EXS) pour les feuilles de betterave rouges, et entre (45,41 et 88,41 mg EAG/g EXS) pour les feuilles de navet ; assez proches de leur tubercules dont la teneur en polyphénols a fait l'objet de travaux antérieurs mentionnés dans des publications récentes.

Les flavonoïdes ; composés phénoliques importants sont présents aussi dans les feuilles des deux plantes, ils varient entre (11,4 et 136, 65 mg EQ/g EXS) pour la betterave rouge et (22,52 et 81 mg EQ/g EXS) pour les navets.

#### En conclusion:

La présente étude montre que les feuilles de betterave rouge et navet autrefois consommées par nos grands-parents, et qui sont de nos jours jetées par méconnaissance de leurs valeurs nutritionnelles et anti-oxydantes sont assez riche en polyphénols et flavonoïdes, cela ouvre les perspectives à d'autres recherches visant à revaloriser l'usage culinaire des feuilles de ces deux plantes en Algérie.

**Mots clés :** Stress oxydatif, antioxydants, Beta vulgaris L, Brassica rapa L, polyphénols, Flavonoïdes

#### **Abstract:**

Oxidative stress has been actually described as a crucial etiological factor involved in various chronic human diseases, the vegetable kingdom in Algeria is rich enough to provide nutrition rich in natural antioxidants, especially the polyphenols which are the object of our study and which are compounds having an increasing importance thanks to their beneficial effects on the health, their role as a natural antioxidant is attracting more and more interest in the prevention and treatment of cancer, inflammatory and cardiovascular diseases.

The aim of this study is focused on the detection of phenolic compounds (by the determination of polyphenols and flavonoids) in the leaves of two plants widely present in Algeria:

Beta vulgaris L and Brassica rapa L commonly known as Beetroot and turnip and make a

The results obtained show that the different types of leaf extracts of the two plants prepared in solvents with increasing polarity are rich in total polyphenols; they vary between (66.42 and 165, 41 mg GAE/g). For red beet leaves, and between (45.41 and 88.41 mg GAE/g) for turnip leaves: these results are rather close to their tuberous roots whose polyphenol content has been the subject of previous work mentioned in recent publications.

Flavonoids; important phenolic compounds are also present in the leaves of both plants; they vary between (11.4 and 136, 65 mg QE/g) for the beetroot and (22.52 and 81 mg QE/g) for turnips.

#### In conclusion:

comparison between them.

The present study shows that the beetroot and turnip leaves formerly consumed by our grandparents, and which are now discarded by ignorance of their nutritional and antioxidant values, are quite rich in polyphenols and flavonoids, which opens up the prospects for further research to revalue the culinary use of the leaves of these two plants in Algeria.

Key words: Oxidative stress, antioxidants, Beta vulgaris L, Brassica rapa L, polyphénols,

Flavonoids

#### ملخص:

لقد تم بالفعل وصف الإجهاد التأكسدي كعامل مهم مسبب في الأمراض البشرية المزمنة المختلفة، المملكة النباتية في الجزائر غنية بما يكفي لتوفير الاغذية الغنية بمضادات الأكسدة الطبيعية، بما في ذلك المركبات الفينولية لتي كانت موضوع دراستنا ولأنها مركبات ذات أهمية متزايدة بسبب آثار ها المفيدة على الصحة، فإن دور ها كمضاد للأكسدة طبيعي يجذب المزيد والمزيد من الاهتمام للوقاية من السرطان والأمراض الالتهابية وأمراض القلب والأوعية الدموية وعلاجها.

تركز هذه الدراسة على اكتشاف المركبات الفينولية (عن طريق تحديد مادة البوليفينول والفلافونويد) في أوراق نباتين حاضرين على نطاق واسع في الجزائر: Beta vulgaris L وrapa L Brassica المعروفة باسم الشمندر الأحمر و اللفث نبات و قمنا بإجراء مقارنة بينهما.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الأنواع المختلفة من مستخلصات أوراق النبتين في المذيبات ذات القطبية المتزايدة غنية جداً بالبوليفينول الكلي؛ تتراوح بين (66.42 و66.1 ملغ GAE / غرام). لأوراق البنجر الأحمر، وبين (45.41 و88.41 ملغ GAE / غرام) لأوراق اللفت: هذه النتائج قريبة إلى حد ما من جذور ها الدرنية.

مركبات الفلافونويد. متواجدة ايضا في الأوراق (11.4 و,65. 136 ملغ مكافئ / غرام )للبنجر الأحمر و

(22.52 و 81 ملغ مكافئ / غرام) لللفت.

توضح الدراسة الحالية أن جذر الشمندر وأوراق اللفت التي سبق أن استهلكها أجدادنا، والتي يتم التخلص منها في الوقت الحاضر بسبب الجهل بقيمها الغذائية، انها غنية جدًا بالبوليفينول والفلافونويد، مما يفتح آفاق بحث آخر يهدف إلى رفع مستوى استخدام الطهى لأوراق هذين النباتين في الجزائر.

الكلمات المفتاحية: الأكسدة، مضادات الأكسدة، البوليفينول، مركبات الفلافونويد Beta vulgaris L،

Brassica rapa L

#### Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**APG** : Angiosperm phylogeny group

**ATP** : Adénosine triphosphate

**AP-1** : Activator protein 1

**CAT** : Catalase

Cu : Cuivre

**CoQ10** : 2,3 diméthoxy-5-méthyl-6-decaprényl benzoquinone

**DBL** : Deshydrated beet leaf (feuilles de betteraves déshydratées)

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**ERN** : Espèces réactives d'azote

**EGF**: Epidermal growth factor

**EAG** : Equivalent acide gallique

**EQ** : Equivalent quercetine

**EXS** : Extrait sec

Fe<sup>2+</sup> : Ion ferreux

**FAD** : Flavine adénine dinucléotide

**GP**x : Glutathion peroxydase

INFY: Interferony

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peroxyde d'hydrogène

**HOCl** : Acide hypochloreux

mtNOS : NO synthétase mitochondrial

**MAPK**: Proteine kinase activée par les mitogénes

**NBL** : Natura beet leaf (feuilles de betterave naturelles)

**NFkB**: Nuclear Factor kappa B

**NOS** : NO synthétase

NO : Oxyde nitrique

NO<sub>2</sub>: Dioxyde d'azote

NO● : Monoxyde d'azote ou oxyde nitriqu

**NAD** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**NOX** : NADPH oxydase

**ONOO**: Peroxynitrite

O<sub>2</sub>•- : Superoxyde

**OH•** : Radical hydroxyle

O₂• : Oxygène singulet

**PDGF** : Platelet-derived growth factor

**PHGPx** : Phospholipide-hydroperoxyde glutathion peroxydase

**RONS** : Reactive oxygen and nitrogen species (espèces réactives de l'oxygène et de

l'azote)

**ROS** : Reactive oxygen species (espèces réactives de l'oxygène)

**RNS** : Reactive nitrogen species (espèces réactives d'azote)

RO2 : Radical peroxyle

**ROO•** : Radical peroxyle

**RO•** : Radical alkoxyle

**RO2H**: Hydroperoxydes

**SOD** : Superoxyde dismutase

**TNF** $\alpha$ : Tumor necrosis factor  $\alpha$ 

**XO** : Xanthine oxydase

#### Table des matières

Dédicaces Résumé en Français Résumé en Anglais Résumé en Arabe Liste des abréviations Liste des figures Liste des tableaux  INTRODUCTION GENERALE		
SECTION I : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE	2	
CHAPITRE I. GENERALITES SUR BETA VULGARIS L ET BRASSIO	CA RAPA L :3	
1 BETA VULGARIS L:	3	
1.1 CLASSIFICATION:	3	
1.2 Morphologie:	4	
1.3 Origine et distribution :		
1.4 CULTURE ET CYCLE DE REPRODUCTION :		
1.5 USAGES TRADITIONNELS ET INDUSTRIELS :		
1.6 VALORISATION DES SOUS PRODUITS DE LA BETTERAVE :		
2 BRASSICA RAPA L:		
2.1 CLASSIFICATION:		
2.3 DISTRIBUTION:		
2.4 CULTURE ET CYCLE DE REPRODUCTION :		
2.5 USAGES TRADITIONNELS ET COMMERCIAUX :	13	
2.6 EFFETS THERAPEUTIQUES ET INDESIRABLES:	14	
2.6.1 Effet anticancéreux et antioxydant :	15	
2.6.2 Effet antidiabétique et rénoprotecteur :	15	
2.6.3 Effet cardioprotecteur :	15	
2.6.4 Prévention de l'ostéoporose :		
2.6.5 Autres bienfaits:		
2.6.6 Effets indésirables :	16	
2.7 VALEUR NUTRITIONNELLE :	16	
CHAPITRE II. LE STRESS OXYDATIF:	19	
1 DEFINITION DU STRESS OXYDATIF:	19	
2 DEFINITION DES RADICAUX LIBRES :	19	
3 FORMATION DES RADICAUX LIBRES :	20	
3.1 ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE : ERO	20	
3.2 ESPECES REACTIVES DE L'AZOTE : ERN		
4 SOURCES DE PRODUCTION DES RADICAUX LIBRES :	24	

	4.1	SOURCES ENDOGENES DES RADICAUX LIBRES :	24
	4.1.1	Mitochondrie:	24
	4.1.2	Cytochromes P450:	25
	4.1.3	NADPH oxydase:	26
	4.1.4	Xanthine oxydase (XO):	26
	4.1.5	Monoamine oxydase :	27
	4.1.6	NO Synthase (NOS):	27
	4.1.7	Autres Sources endogènes :	27
	4.2	SOURCES EXOGENES DES RADICAUX LIBRES :	27
5	ROL	E DES RADICAUX LIBRES :	28
<b>C</b> ]	HAPITI	RE III. LES COMPOSES PHENOLIQUES	29
1		ERALITES	
	1.1 I	LES ACIDES PHENOLIQUES :	31
		LES STILBENES (C6-C2-C6)	
		LES FLAVONOÏDES (C6-C3-C6)	
		,	
		Les flavonols	
	1.3.4		
	1.3.5	Les anthocyanes	
		LES TANINS	
	1.5 I	LES LIGNANES (C6-C3-C3-C6)	37
2	MEC	ANISMES D'ACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES CONTRE LES	
		UX LIBRES	20
3	PRO	PRIETES BIOLOGIQUES D'INTERET DES COMPOSES PHENOLIQUES	40
	3.1	CAPACITES ANTIOXYDANTES DES POLYPHENOLS	40
	3.2	CAPACITES ANTIMICROBIENNES DES POLYPHENOLS	40
		CAPACITES ANTI INFLAMMATOIRES DES POLYPHENOLS	
4	DOM	IAINES D'APPLICATION DES POLYPHENOLS	41
•			
		APPLICATIONS INDUSTRIELLES	
		DES APPLICATIONS MEDICINALES ET PHARMACEUTIQUES	
	4.3 A	APPLICATIONS NUTRITIONNELLES ET AGROALIMENTAIRES	42
ÇI	FCTIO	N II : EXPERIMENTATION	
1	MAT	ERIEL:	43
	1.1 I	RECOLTE ET PREPARATION DES ECHANTILLONS	43
		PREPARATION DES EXTRAITS BRUTS :	
	1.3 I	FRACTIONNEMENT DES EXTRAITS BRUTS (EXTRACTION LIQUIDE- LIQUIDE)	45
2	MET	HODE :	48
	2.1 N	METHODE DE CARACTERISATION QUANTITATIVE DES POLYPHENOLS	48
		METHODE DE CARACTERISATION QUANTITATIVE DES FLAVONOÏDES	
•			
3	EVA]	LUATION STATISTIQUE :	49

#### **RESULTATS ET DISCUSSION:**

1	TENEUR EN POLYPHENOLS DANS LES EXTRAITS DES DEUX PLANTES	52
	1.1 TENEUR EN POLYPHENOLS TOTAUX DANS LES EXTRAITS DES FEUILLES DE BETA VULGA	RIS L
	ET BRASSICA RAPA L:	53
	1.2 COMPARAISON DU CONTENU EN POLYPHENOLS TOTAUX DANS LES DIFFERENTES PHASI	ES DES
	DEUX PLANTES: BETA VULGARIS L ET BRASSICA RAPA L	57
2	TENEUR EN FLAVONOÏDES DANS LES EXTRAITS DES DEUX PLANTES	58
	2.1 Teneur en flavonoides dans les extraits des feuille de $BETA$ $VULGARIS$ $L$ $ET$	59
	BRASSICA RAPA L:	59
	2.2 COMPARAISON DU CONTENU EN FLAVONOÏDES DANS LES DIFFERENTES PHASES DES DE	EUX
	PLANTES: BETA VULGARIS L ET BRASSICA RAPA L	62
C	ONCLUSION	63
R	IBLIOGRAPHIE	65

#### Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Beta vulgaris ssp. Vulgaris du groupe Betterave Jardin	05
Figure 02	Organigramme de la valorisation des sous-produits de la bet- terave sucrière	08
Figure 03	Navet blanc globe a collet violet	12
Figure 04	Les étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des ERO	23
Figure 05	Le transport électronique à travers la chaîne respiratoire mito- chondriale et la production des ERO	25
Figure 06	Les principales sources externes des radicaux libres ayant une influence négative sur l'organisme humain	28
Figure 07	Les différentes catégories des composés phénoliques.	30
Figure 08	Structure chimique des acides hydroxybenzoiques	31
Figure 09	Structure chimique des acides hydroxycinnamiques	32
Figure 10	Structure chimique de base des Stilbènes	33
Figure 11	Squelette phényl benzopyranne, structure de base des flavo- noïdes	33
Figure 12	Structure chimique et classification des flavonoïdes	34
Figure 13	Structure chimique de sécoisolariciresinol	38
Figure 14	Le mécanisme de réaction du catéchol en tant qu'antioxydant	39
Figure 15	Les sites de liaison pour les traces de métaux (Men+)	39

Figure 16	Photo originale de <i>B Vulgaris L</i> de la région d'El Harrouch,SKIKDA	43
Figure 17	Photo originale de <i>Brassica rapa L</i> de la région Messaoud Boudjriou, CONSTANTINE	44
Figure 18	Photo originale d'une Extraction liquide-liquide	47
Figure 19	Protocole d'extraction liquide- liquide	49
Figure 20	Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique	52
Figure 21	Teneurs en polyphénols totaux dans l'extrait de <i>Beta vulgaris L</i>	53
Figure 22	Teneurs en polyphénols totaux dans l'extrait de <i>Brassica rapa L</i>	53
Figure 23	Comparaison entre la teneur en polyphénols totaux des deux plantes ( <i>Beta vulgaris L</i> et <i>Brassica rappa L</i> )	57
Figure 24	Droite d'étalonnage de la Quercetine	58
Figure 25	Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait de <i>Beta vulgaris L</i>	59
Figure 26	Teneurs en flavonoïdes dans l'extrait de Brassica rapa L	59
Figure 27	Comparaison entre la teneur en flavonoides des deux plantes (Beta vulgaris L et Brassica rappa L)	62

#### Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Taxonomie de <i>Beta vulgaris L</i>	03
Tableau 2	Composition approximative de feuilles de betterave fraiches (NBL) et déshydratées (DBL) à différents stades de développement	10
Tableau 3	Les minéraux dans les feuilles de betterave déshydratées (DBL) (mg.kg – 1 feuilles sèches) à trois stades de développement différents	10
Tableau 4	Taxonomie de <i>Brassica rapa L</i>	11
Tableau 5	Teneur en énergie et en éléments nutritifs de 100 grammes de racines de navet et de 55 grammes des feuilles de navet	18
Tableau 6	Poids sec des différents extraits de feuilles des deux plantes : $Beta$ $vulgaris L$ et $Brassica \ rapa \ L$	46

## Introduction

#### Introduction

Le stress oxydant a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, inflammation, diabète et vieillissement.

Plusieurs antioxydants synthétiques peuvent être inadéquats pour la consommation humaine chronique car les publications récentes ont mentionné leurs propriétés toxiques possibles pour la santé humaine et l'environnement (**Ghedadba**, et *al.*, 2015); par conséquent l'intérêt pour les antioxydants (non toxiques) naturels, particulièrement d'origine végétale, a considérablement augmenté ces dernières années.

La nutrition—santé, c'est savoir s'alimenter pour fournir à l'organisme les nutriments dont il a besoin pour se développer et se maintenir en bonne santé, les effets toxiques du stress oxydant posent donc la question de la pertinence de supplémentations nutritionnelles anti oxydantes, dans des maladies caractérisées par des dommages oxydatifs. (Ramonatxo, 2006)

L'Algérie, riche par sa biodiversité et son climat, est une plate-forme géographique trèsla Importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules Antioxydantes.

Dans ce contexte nous avons choisis d'étudier des feuilles de deux plantes largement présentes en Algérie : *Beta vulgaris L* et *Brassica rapa L* communément appelé Betterave rouge et Navet respectivement. Les feuilles contrairement aux bulbes, étaient autrefois consommées par nos grands-parents, mais les habitudes alimentaires et culinaires ont changé et ces feuilles sont généralement jetées par méconnaissance de leurs valeurs nutritionnelles, particulièrement antioxydantes, d'où l'intérêt de notre étude qui vise à contribuer à la revalorisation de la consommation de ces feuilles.

Le présent travail, est développé dans le Laboratoire de Génie microbiologique et application : Unité de molécules bioactives et lectines de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université frères Mentouri Constantine. Notre travail a comme objectifs :

- Mettre en évidence la présence des composés phénoliques dans les deux plantes.
- Comparer la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans les deux plantes

Notre travail sera présenté comme suit : une première section est une synthèse bibliographique. Le premier chapitre est consacré à la description des deux plantes, le deuxième porte sur le stress oxydatif et les radicaux libres et enfin un troisième chapitre, abordant les composés phénoliques. La seconde section décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental. L'ensemble des résultats obtenus et la discussion.

Rappel bibliographique

Chapitre I : Généralité sur Beta vulgaris L et  $Brassica\ rapa\ L$ 

#### I. Généralités sur Beta vulgaris L et Brassica rapa L:

#### 1 Beta vulgaris L:

#### 1.1 Classification:

L'espèce de betterave rouge *Beta vulgaris L*. appartient à la famille des *Chenopodiaceae* et selon la classification phylogenique APG : la famille des *Amaranthaceae*. (**Grubben, et** *al.*, **2019**) (Voir tableau 1)

<u>Tableau N °01</u>: Taxonomie selon (Hequet, et al., 2019)

Domaine	Biota
Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridaeplantae
Infra-Règne	Stretophyta
Classe	Equisetopsida
Clade	Tracheophyta
Clade	Spermatophyta
Sous-Classe	Magnolidae
Superordre	Caryophyllanae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Amaranthaceae
Sous-Famille	Betoideae
Genre	Beta L
Espèce	Beta vulgaris L
Sous espèce	Beta vulgaris ssp. Vulgaris L

Selon certains auteurs, les betteraves Beta vulgaris L. peuvent être divisées en trois

#### Sous-espèces:

- a) Beta vulgaris ssp. Adanesis
- b) Beta vulgaris ssp. Maritima
- c) Beta vulgaris ssp. Vulgaris, qui regroupe tous les cultivars domestiqués

La sous-espèce cultivée : *Beta vulgaris ssp. Vulgaris* peut être subdivisée en quatre autres groupes :

- (1) le groupe Betterave à feuilles, (dans d'autres classifications de groupe de cultivars, divisées en bette à carde ou groupe de Flavescens, et betterave à épinard ou groupe de *Cicla*, mais de nombreux types intermédiaires existent)
- (2) le groupe Betterave sucrière (également appelé groupe *Altissima*). Une souche de couleur blanche cultivée aux États-Unis et en Europe pour la production de sucre
- (3) Le groupe Betterave fourragère (également appelé groupe *Crassa*), un cultivar destiné à l'alimentation des troupeaux
- (4) le groupe Betterave jardin (également appelé Groupe *Conditiva*) : le groupe cultivé qui possède une partie tubéreuse comestible. (**Baião**, **2017**, **Oyen**, **2019**), dont les feuilles feront l'objet d'étude de notre thése.

#### 1.2 Morphologie:

C'est une plante herbacée, robuste, érigée ; racine principale longue, trapue, conique, les racines latérales formant un système racinaire dense et étendu. Chez la betterave potagère, hypocotyle et partie supérieure de la racine principale forment un organe spectaculairement renflé, globuleux, aplati, cylindrique ou conique, racines adventives se présentant sur deux lignes opposées dans la partie inférieure, racine renflée formée de couches alternées de tissu conducteur en général fortement coloré et de tissu de réserve légèrement coloré. (**Grubben, et al., 2019**)

La plante a donc un système racinaire composé d'une racine principale et de racines plus petites pouvant atteindre 60 cm de profondeur, avec ramification latérale. Elle possède également un tubercule, rouge violacé, de forme globulaire, au goût sucré, qui se développe presque à la surface du sol. (Baião, 2017)



Figure N°01: Beta vulgaris ssp. Vulgaris du groupe Betterave Jardin (Oyen, 2019)

#### 1.3 Origine et distribution :

Le botaniste russe N.I.Vavilov a considéré la Méditerranée comme l'initiale et l'Asie mineure comme le centre d'origine secondaire de la betterave cultivée. (**Terekhina**, **2008**)

On trouve des formes sauvages de *Beta vulgaris* le long des côtes de la Méditerranée, s'étendant vers l'est jusqu'à l'Indonésie, et vers l'ouest le long des côtes de l'Atlantique jusqu'aux Iles Canaries et au sud de la Norvège. Cultivée pour ses feuilles, *Beta vulgaris* a été mise en culture autour de la Méditerranée orientale ou au Moyen-Orient et elle est mentionnée pour la première fois dans la littérature en Mésopotamie au IX<sup>e</sup> siècle avant J.-C. Des recettes pour les racines de bette datent du III<sup>e</sup> siècle après J.-C., mais les vraies betteraves potagères n'apparaissent en Europe qu'au XVI<sup>e</sup> siècle. Aujourd'hui, les betteraves sont cultivées dans le monde entier pour leurs racines (betterave potagère), leurs pétioles (bette à carde), ou leurs feuilles (poirée à couper ou bette-épinard).

La betterave potagère peut se trouver dans tous les pays africains, plutôt dans les parties les plus fraîches de l'Afrique de l'Est et australe que dans les basses terres, et surtout en tant que légume commercial relativement secondaire autour des grandes agglomérations. Dans la plupart des pays africains, les bettes à feuilles et à cardes sont bien plus importantes que la betterave potagère, qui est consommée principalement par les Européens. (Grubben, et al., 2019)

La betterave sucrière est une plante cultivée pour sa racine charnue, aujourd'hui elle constitue l'une des plus grandes cultures industrielles de l'Europe et de l'Amérique du nord cultivée principalement pour la production de sucre. La betterave fourragère et la betterave à sucre ont une importance négligeable en Afrique tropicale. (Cédric, 2011; Denton, 2019)

#### 1.4 Culture et cycle de reproduction :

La plante est cultivée à des températures allant de douces à froides (10 à 20 ° C), la culture dans des conditions climatiques avec une humidité relative et une température plus élevée favorise le développement de parasites et de maladies en modifiant la couleur et le goût interne de la plante, la rendant moins douce, réduisant également la productivité de la plante d'environ 50%. Cette espèce de plante préfère les sols riches en matière organique, avec un pH compris entre 5,5 et 6,2. Le cycle de production peut aller de 60 à 100 jours, été comme hiver, c'est une plante bisannuelle nécessitant une période de froid intense pour traverser la phase de reproduction du cycle. (Baião, 2017)

#### 1.5 Usages traditionnels et industriels :

Les racines généralement rouge foncé de la betterave de jardin sont consommées bouillies soit comme légume cuit, soit froides comme salade après avoir été cuites et additionnées d'huile et de vinaigre. Une grande partie de la production commerciale est transformée en betteraves bouillies et stérilisées ou en cornichons. En Europe orientale, la soupe de betterave est un plat populaire, les bétanines obtenues à partir des racines, sont utilisées industriellement en tant que colorants alimentaires rouges, pour améliorer la couleur de la pâte de tomate, des sauces, des desserts, des confitures et gelées, de la crème glacée, des bonbons et des céréales pour petit-déjeuner. (Oyen, 2019) La betterave sucrière est une plante cultivée pour sa racine charnue, elle est principalement utilisée pour la production de sucre. (Cédric, 2011)

Les feuilles de betterave rouge (*Beta vulgaris L*) sont généralement coupées et jetées avant d'utiliser son bulbe en raison du manque de connaissances sur leur utilisation (Biondo, et al., 2014) En Afrique, les feuilles sont préférées aux racines et sont préparées avec la nervure centrale comme un plat.

En médecine Les racines et les feuilles sont utilisées contre les infections et les tumeurs, ainsi que la bette à carde en tant qu'agent hypoglycémique chez les patients diabétiques. Le jus de betterave de jardin est un aliment de santé populaire (Oyen, 2019)

De nombreuses recherches ont montré que la consommation croissante de plantes des aliments comme la betterave réduisent les risques d'obésité, de diabète sucré et de maladies cardiovasculaires, la plante a démontré des avantages pour le traitement du cancer et la protection contre les maladies cardiaque. Des études in vitro et in vivo antérieures ont prouvé que les bétalaïnes contenues dans la plante démontraient des activités antioxydantes et anti-inflammatoire; des activités antimicrobiennes, antivirales et de piégeage des radicaux libres, ainsi que des propriétés hépato protectrices.et inhibitrices de peroxydations lipidique. (Marjan, et al., 2019)

#### 1.6 Valorisation des sous produits de la betterave :

Pour les producteurs, la culture de la betterave est une des plus répandues et des plus rentables, les feuilles, les pulpes et la mélasse de sucrerie composent les 3 sous-produits principaux de la culture de betteraves sucrières. (Voir la figure 2)

La mélasse est l'égout de sucrerie qui subsiste après la cristallisation de 3ème jet. Actuellement la mélasse est un substrat de choix pour la production de biocarburant et plus précisément de bioéthanol, et également utilisée comme substrat de culture pour différents microorganismes, ou pour la production d'acide citrique par fermentation.

Les pulpes de betteraves composent le second sous-produit de l'industrie betteravière, ce sont les cossettes épuisées issues de la racine de la betterave, cossettes dont le sucre a été extrait par diffusion. Ces pulpes servent dans l'alimentation du bétail. Des perspectives d'utilisation de la pulpe de betterave existent également dans l'industrie du papier. Les microfibres végétales de la pulpe font l'objet d'étude afin de substituer les cristaux de sel (coûteux et polluant) renforçant l'opacité du papier

Les feuilles de betteraves sont actuellement abandonnées sur les terres de cultures pour servir de fertilisant ou de plus en plus rarement distribuées en tant que compléments alimentaires pour le bétail. Néanmoins, la recherche de produits à haute valeur ajoutée au sein de la feuille, tels que les protéines Rubisco (Servaites, et al., 1987), la bétaïne, les saponines, les pectines ou les arômes peut être une source de bénéfices importants. Sachant que les feuilles constituent environ 40% du poids de la plante, ce manque de valorisation constitue la plus grande perte pour l'industrie betteravière. (Cédric, 2011)

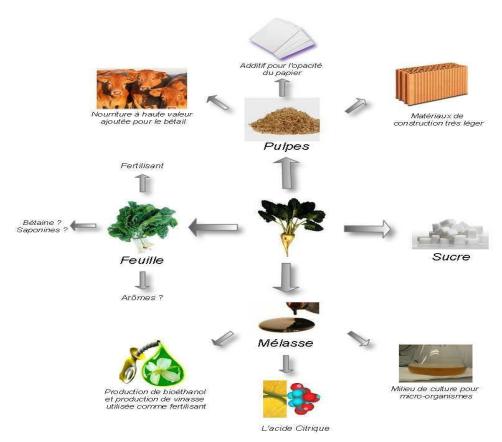


Figure N° 02 : Organigramme de la valorisation des sous-produits de la betterave sucrière (Cédric, 2011)

#### 1.7 Valeur nutritionnelle:

La betterave *Beta vulgaris L*. est considérée comme une bonne source de fibres alimentaires, de minéraux (potassium, sodium, fer, cuivre, magnésium, calcium, phosphore et zinc), vitamines (rétinol, acide ascorbique et complexe B), antioxydants, bétalaïnes et composés phénoliques, et possède une valeur nutritionnelle élevée en raison de sa forte teneur en glucose, sous forme de saccharose. (Baião, 2017), L'ingestion de betterave, source naturelle de nitrate, augmente la disponibilité d'oxyde nitrique (NO); très bénéfique dans les maladies ou la biodisponibilité du NO a diminué, comme l'hypertension et améliore la fonction endothéliale. (Marjan, et *al.*, 2019)

La betterave potagère crue contient par 100 g de partie comestible : eau 87,6 g, énergie 180 kJ (43 kcal), protéines 1,6 g, lipides 0,2 g, glucides 9,6 g, fibres 2,8 g, Ca 16 mg, P 40 mg, Fe 0,8 mg, thiamine 0,03 mg, riboflavine 0,04 mg, niacine 0,33 mg, folate 109 μg, acide ascorbique 5 mg. Les glucides sont constitués presque uniquement par du saccharose.

Les agents colorants de la betterave potagère ne sont pas des anthocyanes, mais des glucopyranosides, essentiellement la rouge betterave ou bétanine ( $C_{24}H_{27}N_2O_{13}$ – E162). Il est soluble

#### Chapitre I : Généralités sur Beta vulgaris L et Brassica rapa L

dans l'eau et sensible à des températures élevées, à l'oxygène et à la lumière. Les betteraves contiennent aussi de la géosmine, qui donne cette odeur de terre si caractéristique. (Oyen, 2019)

La valeur nutritionnelle des feuilles de betterave a fait l'objet d'une étude réalisée par

(**Biondo**, et *al.*, **2014**) qui ont évalué la composition proche des feuilles de betterave (fraiches) in natura (NBL) et en forme déshydratée (DBL) à différentes étapes de leur maturation. (60, 80 et 100 jours). Les résultats ont été Présentés dans *le tableau N*°02.

Après déshydratation, les constituants des feuilles ont été concentrés, augmentant ainsi les valeurs de cendres, protéines brutes, lipides totaux, glucides et énergie par rapport à ceux des feuilles in natura. Le contenu de protéines brut du DBL variait de 264,12 ± 21,10 g.kg – 1 (60 jours) à 310,25 ± 3,63 g.kg – 1 (100 jours) ; donc ça peut être considéré comme une source de protéines prometteuse pour ceux qui ont accès limité aux protéines animales, Le séchage a augmenté la teneur en lipides des feuilles ; Les teneurs en glucides les plus élevées ont été détectées dans DBL récolté à 60 jours, et les valeurs d'énergie étaient plus élevées pour DBL récolté à 100 jours. Les feuilles déshydratées contenaient des niveaux de cendres importants ; des macros et micro minéraux importants sur le plan nutritionnel présentés dans *le tableau N°03* 

#### Chapitre I : Généralités sur Beta vulgaris L et Brassica rapa L

 $\label{eq:composition} \textbf{Tableau} \ \textbf{N}^{\circ}\textbf{02} : \text{Composition approximative des feuilles de betterave in natura (NBL) et déshydratées} \\ \text{(DBL)} \ \grave{\text{a}} \ \text{différents stades de développement}$ 

Stades de déve-	Humidité(g.Kg–1	Cendres (g.Kg-1	Le brut de pro-	Les lipides to-	Glucides (g.Kg-1	Energie (Kcal.kg–
loppement	feuilles)	feuilles)	teine (g.Kg-1	taux (g.Kg-1	feuilles)	1)*
(jours)			feuilles)	feuilles)		
NBL 60	870.42 ± 0.51	22.71 ± 0.06	40.37 ± 2.18	12.95 ± 1.89	53.93 ± 2.57	474.35 ± 5.72
NBL 80	892.14 ± 1.06	17.58 ± 0.03	39.57 ± 0.19	9.22 ± 0.47	41.35 ± 1.39	397.58 ± 1.77
NBL 100	898.28 ± 0.52	15.82 ± 0.46	38.16 ± 1.15	7.86 ± 0.85	39.88 ± 1.02	372.97 ± 4.46
DBL 60	57.42 ± 2.19	184.33 ± 6.81	264.12 ± 21.10	86.42 ± 5.21	410.19±14.44	3,350.19 ± 37.42
DBL 80	85.08 ± 0.73	156.09 ± 0.61	287.53 ± 23.01	105.63 ± 9.07	365.66±14.33	3,472.02 ± 43.16
DBL 100	105.90 ± 1.58	145.06 ± 0.98	310.25 ± 3.63	127.32 ± 9.48	307.21 ± 8.35	3,584.56 ± 77.96

**Tableau N° 03 :** Les minéraux dans les feuilles de betterave déshydratées (DBL) (mg.kg -1 feuilles sèches) à trois stades de développement différents.

	60 Jours	80 Jours	100 Jours
K	$13,367.6 \pm 735.17$	13,379.48 ± 128.49	20,784.90 ± 898.70
Ca	$1,476.35 \pm 40.20$	$1,568.07 \pm 60.31$	1,864.85± 4.81
Mg	$1.83a\pm0.10$	$2.09 \pm 0.19$	$1.79 \pm 0.03$
Fe	$342.75 \pm 48.56$	$187.30 \pm 33.92$	256.30± 29.49
Cu	$12.76 \pm 0.73$	$12.23 \pm 0.20$	13.42± 4.64
Zn	$11.63 \pm 0.44$	$11.52 \pm 0.36$	13.31 ± 1.99
Co	$1.29 \pm 0.27$	$0.54 \pm 0.07$	$0.10 \pm 0.01$
Mn	$17.59 \pm 1.47$	$15.49 \pm 8.97$	$8.83 \pm 3.66$
Na	$7,907.01 \pm 245.41$	$5,534.37 \pm 627.70$	4,724.63 ± 417.32

#### 2 Brassica rapa L:

#### 2.1 Classification:

Les légumes Brassica ou crucifères sont le genre le plus important de la famille des Brassicacées (**Sanlier**, et *al.*, **2018**) (voir tableau 4)

Tableau N° 04: Taxonomie selon (Carcaillet, et al., 2019)

Domaine	Biota
Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridaeplantae
Infra-Règne	Streptophyta
Classe	Equisetopsida
Clade	Tracheophyta
Clade	Spermatophyta
Sous-Classe	Magnolidae
Superordre	Rosanae
Ordre	Brassicales
Famille	Brassicaceae
Genre	Brassica L
Espèce	Brassica rapa L

Il existe 05 variétés de l'espèce Brassica rapa L:

- Brassica rapa var. Chinensis L ou Groupe Pakchoï
- Brassica rapa var Glabra
- Brassica rapa var Oleifera
- Brassica rapa var Pekinensis ou Groupe Pétsaï
- ullet Brassica rapa var Rapa L dont les feuilles feront l'objet d'étude de notre thése .

(Carcaillet, et al., 2019; Toxopeus, et al., 2019)

#### 2.2 Morphologie:

Pline, un ancien auteur romain, utilisait les noms rapa et napus pour décrire des navets longs, plats ou ronds. (**Polidoro**, **2008**) Le navet lui-même est un légume-racine de la famille des crucifères, ou moutarde (**Smith**, **2004**) ce légume-racine n'est pas réellement une racine, mais une « tige enflée qui pousse sous la surface du sol ». (**Polidoro**, **2008**) Les plantes sont « presque parfaitement rondes et ont une chair blanche et de fines feuilles rugueuses couvertes de poils épineux » (**Kiple**, et *al.*, **2000**)

Ces feuilles sont dures, généralement de couleur vert clair, et le revêtement, qui ressemble à un cheveu mais qui n'est en réalité qu'une sorte de croissance, est généralement présent. Les navets ont une forme bulbeuse et sont souvent un mélange de couleurs violet, blanc et / ou jaune. Il existe de nombreuses variétés de navets, chacun ayant une saveur et une capacité de stockage différentes. (Polidoro, 2008)



Figure N°03: Navet blanc globe a collet violet. (http://www.jardinagebio.net/navet-culture/,2019)

#### 2.3 Distribution:

Le navet est une plante indigène d'Europe, de Russie, d'Asie centrale et du Proche-Orient; Il est maintenant largement cultivé comme source de légumes et d'huile dans le monde entier (Swastika, et al., 2019) Mais l'Europe est le centre d'origine du navet (Takahashi, et al., 2016) Par conséquent il existe deux races de navet, à savoir la race occidentale (formes oléagineuses) et la race orientale (formes végétales) (Swastika, et al., 2019)

En Afrique tropicale, on signale parfois la culture de *Brassica rapa* comme légume dans de nombreux pays et il est probable qu'elle existe dans tous les pays. Le *pétsaï* est le plus commun. (**Toxopeus**, et *al.*, 2019)

#### 2.4 Culture et cycle de reproduction :

Brassica rapa L. (navet) est une plante herbacée bisannuelle (**Swastika**, et al., 2019), elle prend deux ans à compléter son cycle de vie et qui est le plus souvent cultivé annuellement. La première année de croissance des plantes, elles stockent dans leurs racines ce qui sera éventuellement utilisé pour la consommation humaine. Au cours de la deuxième année, si elles sont laissées dans le sol, les plantes produisent des fleurs et des graines (**Polidoro**, 2008)

Brassica rapa possède une forte résistance à l'humidité et au froid mais elle a une susceptibilité aux maladies et son rendement en grain est relativement faible. (Ghani, et al., 2014) La racine du navet se développe au cours de la première année et forme des feuilles au-dessus du sol. Le navet peut être récolté à ce moment. La graine de navet, pensait-on, provient des meilleurs navets au stade de la récolte. À la deuxième croissance, de nouvelles feuilles se forment aux côtés des fleurs. Les fleurs se transforment en gousses si elles sont fertilisées ou pollinisées (Polidoro, 2008)

#### 2.5 Usages Traditionnels et commerciaux :

Brassica rapa (racines et feuilles) comprend de très nombreuses formes cultivées aux usages très variés. Les plus importants sont les légumes. (**Toxopeus**, et al., 2019)Le navet (Brassica rapa L) est l'un des plus anciens légumes cultivés, utilisés pour la consommation humaine dans le monde entier.

Les feuilles de Brassica rapa L se caractérisent par un goût amer et piquant particulier, qui les distingue des autres légumes Brassica (**Federico**, et al., 2008), Cependant le feuillage du pétsaï, du pakchoï et du choy sum (Brassica chinensis var. parachinensis) ainsi que

La racine pivotante épaisse du navet potager est utilisée comme légumes. On les consomme cuits à l'eau, en soupes, crus en salades, ou sautés dans des plats spéciaux. Les plantes de choy sum sont souvent consommées au moment de la floraison. Sautés, les pétioles lisses et tendres et les pédoncules ont une agréable consistance craquante. Les feuilles du pétsaï et du pakchoï se consomment également confites. (Toxopeus, et al., 2019) Les pelures de racines de navet contiennent un insecticide naturel (Moammadmehdi, et al., 2017)

En Europe, des cultivars spéciaux de navets (ou raves) constituent une importante culture fourragère. Tous les types de *Brassica rapa* sont parfois cultivés pour les marchés spécialisés des grandes villes, où ils sont destinés à des consommateurs asiatiques et – dans une moindre mesure – européens. Il n'existe aucune donnée statistique sur le rendement et le commerce, mais le commerce international se limite probablement à des exportations occasionnelles depuis l'Afrique de l'Est vers l'Europe et les pays arabes. (**Toxopeus, et al., 2019**)

#### En médecine :

Dans les pays occidentaux, le navet joue un rôle important dans l'alimentation. Outre son utilisation comme légume, les attributs médicinaux du navet ont été bien documentés, par exemple en tant qu'agent thérapeutique traditionnel pour les maladies du foie et des reins et divers autres maux. (Shafi, et al., 2014) En plus d'être un légume important et une source d'huile, le navet est également utilisé comme médicament traditionnel pour le traitement des maux de tête, douleurs thoraciques, rhumatismes, œdèmes, gonorrhée, syphilis et la rage. (Swastika al., 2019)

#### 2.6 Effets thérapeutiques et indésirables :

Une étude pharmacologique sur le navet a révélé des effets anti tumoraux, antihypertenseurs, antidiabétiques, antioxydants, anti-inflammatoires, hépato protecteurs et néphroprotecteurs. La propriété anticancéreuse s'est révélée être l'activité biologique la plus prometteuse du navet, avec l'isothiocyanate de 2-phényléthyle, le phénylpropionitrile, le brassicaphénanthrène A, le 6-paradol et le trans-6-shogaol comme principaux composants actifs (**Swastika, et al., 2019**)

Les diverses parties de la plante telles que les racines, les feuilles, les fruits et les graines regorgent de composés anticancéreux et antioxydants importants, notamment les glucosinolates, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les cétones, les aldéhydes, la vitamine C, le sélénium, etc. (Jan, et al., 2018)

Les glucosinolates et les isothiocyanates (principalement les dérivés 2-phényléthyle, 4-pentényle et 3-butényle) sont les principaux constituants du navet à bio activités diverses, en particulier pour son effet protecteur contre les cancers. En outre, les flavonoïdes, les composés phénoliques, les indoles et les substances volatiles sont également concomitants dans cette plante. (Swastika, et al., 2019)

#### 2.6.1 Effet anticancéreux et antioxydant :

Les produits hydrolytiques de glucosinolates préviennent le stress oxydatif, induisent des enzymes de détoxification, stimulent le système immunitaire, réduisent le risque de cancer, inhibent la transformation maligne et les mutations cancérogènes, en plus de réduire la prolifération des cellules cancéreuses. (Sanlier, et al., 2018)

La décoction de feuilles ou de tiges est utilisée dans le traitement du cancer .On dit que la graine en poudre est un remède populaire contre le cancer Les graines mûres écrasées sont utilisées comme cataplasme lors de brûlures (El-Sherbeny, et *al.*, 2012)

#### 2.6.2 Effet antidiabétique et rénoprotecteur :

Des études antérieures ont montré que la racine de navet avait un potentiel hypolipidémiant et que sa feuille exerçait des efficacités hypoglycémiantes et rénoprotectrices chez le rat diabétique. En outre, l'extrait de navet est également utile pour réduire l'acide urique et extraire les calculs rénaux. Il augmente l'acuité visuelle et est utilisé pour traiter la cécité nocturne. Le sirop de navet renforce la mémoire (Moammadmehdi, et al., 2017)

#### 2.6.3 Effet cardioprotecteur :

Des études ont démontré que les nitrates alimentaires, les nitrates du navet, protégeaient la santé du système cardiovasculaire en réduisant le risque de maladie coronarienne, d'accident vasculaire cérébral et d'hypertension.

#### 2.6.4 Prévention de l'ostéoporose :

Une consommation adéquate de vitamine K peut améliorer la santé des os en améliorant l'absorption du calcium, en réduisant l'excrétion urinaire du calcium et en agissant comme modificateur des protéines de la matrice osseuse. La vitamine K et le calcium contenus dans les feuilles de navet aident à lutter contre l'ostéoporose et à renforcer le squelette.

La vitamine A, le phosphore et le magnésium contribuent également à la santé des os, qui sont également présents dans les feuilles de navet.

#### 2.6.5 Autres bienfaits:

Les feuilles de navet peuvent aider à maintenir une peau et des cheveux en bonne santé en raison de leur teneur élevée en vitamine A et C

**Réduire l'anémie**: les feuilles de navet constituent à elles seules une excellente source de vitamine C et de fer. (La vitamine C avec des aliments riches en fer optimise la capacité du corps à absorber le fer).

**Digestion :** les feuilles de navet sont riches en fibres et en eau, ce qui aide à prévenir la constipation, favorise la régularité et maintient un tube digestif en bonne santé.

Fécondité et grossesse : un apport adéquat en acide folique est également nécessaire pendant la grossesse pour protéger le fœtus contre les anomalies du tube neural. Les feuilles de navet sont une bonne source d'acide folique et de fer.

Sommeil et humeur: les feuilles de navet contiennent de la choline, un nutriment important qui contribue au sommeil, aux mouvements musculaires, à l'apprentissage et à la mémoire. La choline aide également à maintenir la structure des membranes cellulaires, facilite la transmission de l'influx nerveux, aide à l'absorption des graisses et réduit l'inflammation chronique. (Ware, 2017)

#### 2.6.6 Effets indésirables :

Les personnes qui prennent des anticoagulants, tels que Coumadin ou la warfarine doivent éviter de manger soudainement des quantités plus ou moins importantes d'aliments contenant de la vitamine K (feuilles de navet), car elle joue un rôle dans la coagulation du sang et peut affecter l'action du médicament. Toute personne à risque de maladie cardiovasculaire devrait consulter son médecin avant de commencer un régime riche en nitrates.

Les nitrates peuvent provoquer une vasodilatation, de sorte qu'un régime riche en nitrates peut interagir avec certains médicaments tels que les nitrates organiques, la nitroglycérine ou les médicaments à base de nitrites utilisés pour traiter l'angine de poitrine, le citrate de sildénafil, le tadalafil et le vardénafil.

Une tasse de 55 grammes de feuilles de navet crues contient 22 mg de sodium. Il est donc déconseillé d'ajouter du sel lorsque vous cuisinez ou mangez ce légume.

#### 2.7 Valeur nutritionnelle:

Les légumes *Brassica* contiennent peu de matières grasses, riches en vitamines, minéraux et fibres, ainsi que divers composés phytochimiques. (**Sanlier**, et *al.*, 2018)

#### Chapitre I : Généralités sur Beta vulgaris L et Brassica rapa L

La racine du navet est l'endroit où se trouvent la vitamine C, le potassium et les fibres. Les feuilles contiennent des vitamines A et K, en plus de la vitamine C, du folate et du bêta-carotène, de la lutéine et de la zéaxanthine, qui sont des antioxydants courants. La lutéine et la zéaxinthine ont « montré des résultats prometteurs dans la lutte contre les affections oculaires de la dégénérescence maculaire et de la cataracte » (Polidoro, 2008) La feuille de navet contient des composés biologiquement actifs tels que des flavonoïdes, notamment l'isorhamnetin, le kaempférol et les glycosides de quercétine, des dérivés de propylate de phényle, des alcaloïdes indoliques et des glucosides de stérols (Vafaeinejad, et al., 2015)

	Navet (racines)	Navet (feuilles)
Eau (g)	91.87	1
Energie	28 (kcal)	18 (cal)
Protéine (g)	1.17	0,82
Matière grasse (g)	0.13	0.17
Carbohydrate (g)	6.43	3.92
Fibres (g)	1.8	1.8
Sucre (g)	3.8	0.45
Les minéraux	1	
Calcium (mg)	30	104
Fer (mg)	0.3	0.61
Magnésium (mg)	11	17
Phosphore (mg)	27	23
Potassium (mg)	191	163
Sodium (mg)	67	22
Zinc (mg)	0.27	0.1
Sélénium (µg)	0.7	1

**Tableau N° 05 :** Teneur en énergie et en éléments nutritifs de 100 grammes de racine de navet **(Sanlier, et** *al.***, 2018)** et de 55grammes des feuilles de navet **(Ware, 2017)** 

Chapitre II: Le Stress oxydatif

## II. Le Stress oxydatif:

## 1 Définition du stress oxydatif :

Le stress oxydatif fait référence à la production excessive de molécules hautement réactives, telles que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives d'azote (RNS) dans le corps. Les systèmes oxydants/anti oxydants sont donc déséquilibrés, entraînant des lésions tissulaires. (Yu-Jing, et al., 2019)

Les cellules génèrent en permanence des oxydants et produisent des antioxydants. Malgré leurs tentatives pour atteindre un équilibre sain, les organismes rencontrent de nombreuses situations dans lesquelles les niveaux d'oxydants ne sont plus synchroniser avec les systèmes de désintoxication de la cellule, générant une condition mortelle appelée le stress oxydatif. (Reichmann, et al., 2018)

Les ROS oxydent diverses macromolécules biologiques, telles que les protéines, les lipides et les acides nucléiques,provoquant ainsi des changements structurels et fonctionnels dans ces molécules. (Fumiaki, et *al.*, 2019)

### 2 Définition des radicaux libres :

L'oxygène, l'élément le plus important et signifiant : d'une part il est obligatoire pour les organismes aérobies, mais d'une autre part il peut causer des dommages oxydatifs dans les cellules. Les modifications apportées par l'influence négative de l'oxygène sont directement liées à des molécules formées par l'oxygène, à savoir les radicaux libres. (Karolina, et al., 2015)

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules hautement réactives avec un ou plusieurs électron (s) non apparié (s) sur leur (s) orbitale (s) externe (s). Ils peuvent se former lorsque l'oxygène interagit avec certaines molécules. L'oxygène interagit avec certaines molécules. Ces radicaux peuvent être produits dans les cellules en perdant ou en acceptant un seul électron, se comportant comme des oxydants ou des réducteurs. (Liguori, et al., 2018)

En effet, un radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc réduire en oxydant un autre composé (lipides, protéines, ADN...). (Bouzid, et al., 2014) Une fois qu'un radical libre se forme et qu'il parvient à obtenir un autre électron d'une molécule proche, il laisse sa victime chercher un électron et a maintenant fait de cette nouvelle molécule un radical libre, qui va à son tour, essayer de voler un électron aussi. Le résultat est ce que nous appelons « une cascade de radicaux libres », une énorme réaction en chaîne de radicaux libres qui vont rapidement causer des dommages sur les tissus vivants. On estime que la réaction en chaîne peut déclencher 6.023 x 10<sup>21</sup> milliards de molécules à réagir par seconde. (Howard, 2018)

Les termes espèces réactives de l'oxygène (ROS) et espèces réactives de l'azote (RNS) désignent respectivement les dérivés réactifs radicalaires et non radicalaires de l'oxygène et de l'azote. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) sont produites par toutes les cellules aérobies et jouent un rôle important dans le vieillissement ainsi que dans les maladies liées à l'âge. La génération de RONS n'est pas seulement limitée à la détermination d'effets délétères, elle est également impliquée dans l'extraction de l'énergie de molécules organiques, dans la défense immunitaire et dans le processus de signalisation. (Liguori, et al., 2018)

#### 3 Formation des radicaux libres :

En révisant la littérature, on remarque souvent un point symbolique à côté d'une abréviation chimique telle que (OH•), ce point signifie un radical libre. (**Heath**, et *al.*, 2005)

# 3.1 Espèces réactives de l'oxygène : ERO

À l'exception de certains organismes anaérobies et aérotolérants, l'oxygène (ou dioxygène, O2) est indispensable à la production d'énergie par de nombreuses formes de vie (animaux, plantes, bactéries). Cette production d'énergie (sous forme d'ATP) appelée phosphorylation oxydative se fait notamment par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons présentes dans la membrane interne des mitochondries. Ainsi, depuis que l'atmosphère terrestre a commencé à s'enrichir en oxygène il y a environ deux milliards d'années, les organismes vivants aérobies se sont adaptés à ces conditions en apprenant à consommer et à utiliser l'oxygène mais également à éliminer les métabolites réduits produits. En effet, lors du métabolisme normal, la réduction tétravalente de l'oxygène en eau se fait en plusieurs étapes successives qui donnent naissance à des intermédiaires potentiellement réduits, appelés radicaux primaires ou espèces

réactives de l'oxygène (ERO), car ces entités radicalaires et moléculaires sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance (**Migdal, et** *al.*, **2011**)

Les ROS comprennent le superoxyde  $(O_2 \bullet -)$ , le peroxyde d'hydrogène  $(H_2O_2)$ , le radical hydroxyle  $(OH \bullet)$ , et l'oxygène singulet  $(O_2 \bullet)$ . (**Fumiaki, et** *al.*, **2019**)

Environ 2 % de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial sont transformés en radicaux superoxydes  $O_2$  lors de la première réduction électronique de l'oxygène (**Figure 4-1**). (**Migdal**, et *al.*, 2011)

L'anion superoxyde (O2•¯) est un radical chargé négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. (**Garait**, 2006)

La dégradation de ces radicaux est contrôlée par des systèmes de défense, les antioxydants, qui s'adaptent au taux de radicaux présents. Ainsi, la production des radicaux superoxydes est régulée par des métalloenzymes, les superoxydes dismutases (SOD), qui catalysent leur dismutation en peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Figure 4-2**). (**Migdal, et** *al.*, **2011**)

L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'est pas un radical libre au sens propre mais il est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant. De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production. (Garait, 2006)

Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas en soi un radical mais une molécule, il est luimême toxique et capable de donner naissance, via des réactions de type « réaction de Fenton », à la plus délétère des espèces radicalaires du stress oxydant, le radical hydroxyle OH\*

## (Figure 4-3). (Migdal, et al., 2011)

Selon la réaction de Fenton, l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se décompose, en présence d'ions ferreux (Fe <sup>2+</sup>), en un ion OH <sup>-</sup> et un radical hydroxyle (OH •)

$$[H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH \cdot + OH^- + Fe^{3+}]$$

Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde (O2 • ) qui régénère Fe 3+ en Fe 2+ selon la réaction d'Haber-Weiss :

$$[O2 \bullet^{-} + Fe^{3+} \rightarrow O_2 + Fe^{2+}]$$

Ainsi, la présence simultanée de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), d'anion superoxyde (O2 • ¯) et de fer permet la production de radical hydroxyle (OH•)

L'OH•, avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, est la plus instable et la plus réactive de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. La diffusion limitée de ce radical lui permet de réagir avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant à proximité (protéines, lipides, ADN...) entraînant ainsi de multiples dommages cellulaires. (Garait, 2006)

La quantité de peroxyde d'hydrogène est régulée par l'enzyme héminique catalase (CAT) qui accélère sa dismutation (**Figure 4-4**), et par la glutathion peroxydase (GPx) qui catalyse sa réduction par le glutathion (**Figure 4-5**). Le glutathion (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) qui représente le groupement thiol majoritaire au niveau intracellulaire (10<sup>-4</sup> à 10<sup>-3</sup> mol. L<sup>-1</sup> sous forme réduite). Il possède un fort pouvoir réducteur et peut également chélater les ions Cu<sup>2+</sup> et ainsi limiter leur participation à la génération d'ERO par les réactions de type Fenton (**Figure 4-3**). Toutefois, il existe également d'autres ERO, dit secondaires, comme les radicaux peroxyles RO<sub>2</sub>\* (**Figure 4-6**), les hydroperoxydes RO<sub>2</sub>H (**Figure 4-7**) et les radicaux alkoxyles RO\* (**Figure 4-8**). (**Migdal, et al., 2011**)

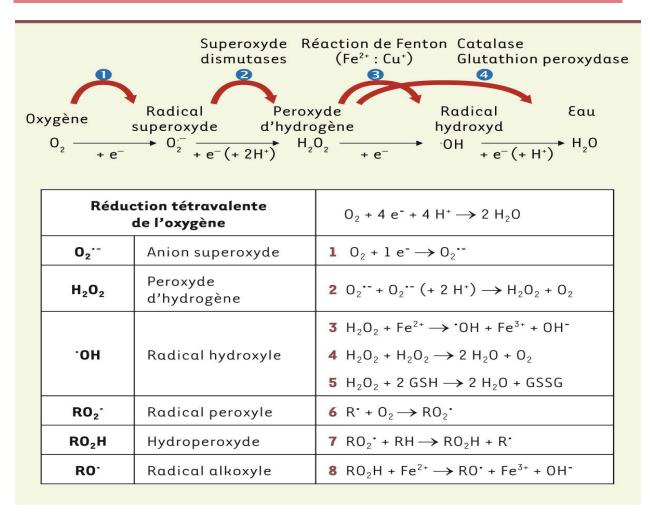


Figure N°04 : Les étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des ERO (Migdal, et al., 2011)

# 3.2 Espèces réactives de l'azote : ERN

Les oxydants contenant de l'azote, tels que l'oxyde nitrique (NO), le peroxynitrite (ONOO) et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>) sont appelés espèces réactives de l'azote (ERN).

Le NO• est relativement peu réactif, alors que l'ONOO -, produit de la réaction de NO• et O<sub>2</sub>• - est un oxydant puissant. (**Fumiaki**, et *al.*, 2019)

Le monoxyde d'azote NO• est formé à l'issue d'une réaction catalysée par la NO synthase mitochondriale (mtNOS) entre l'atome *d'azote* appartenant à une L-Arginine (un acide aminé) et une molécule  $O_2$ . Le NO• est peu diffusible dans les milieux biologiques .Le monoxyde d'azote joue le rôle de vasodilatateur au niveau cardiovasculaire. Il joue aussi un rôle dans la signalisation extra et intercellulaire, l'apoptose, les mécanismes de défense, dans la relaxation des cellules musculaires lisses, la coagulation sanguine, la neurotransmission, le maintien de la plasticité neuronale, et dans l'intégrité muqueuse gastro-intestinale. (**Bensakhria**, **2015**)

## 4 Sources de production des radicaux libres :

Il existe des sources endogènes et exogènes de RONS (Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote). (**Liguori, et al., 2018**), les mitochondries ont été identifiées comme responsables de l'initiation de la plupart des réactions des radicaux libres se produisant dans les cellules. (**Domenico Fusco, et al., 2007**)

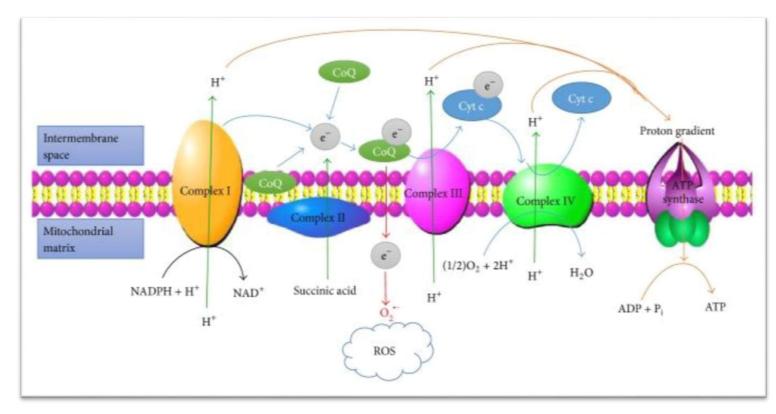
## 4.1 Sources Endogènes des radicaux libres :

#### 4.1.1 Mitochondrie:

Les éléments clés dans le fonctionnement de la mitochondrie sont d'une part, les réactions enzymatiques d'oxydation des substrats et d'autre part, la chaîne de transport des électrons ou Chaîne respiratoire.L'oxydation des substrats par le cycle de Krebs ou la β-oxydation entraîne la réduction du NAD+ en NADH et du FAD en FADH<sub>2</sub>. Ces intermédiaires sont appelés équivalents réducteurs et fournissent des électrons à la chaîne respiratoire.

Cette dernière est Composée de cinq complexes : NADH-Ubiquinone oxydoréductase (complexe I), Succinate Déshydrogénase (complexe II), Ubiquinol cytochrome C réductase (complexe III), Cytochrome C oxydase (complexe IV) et ATP synthase (complexe V).

Ces complexes contiennent de multiples centres d'oxydo-réduction : flavines, quinones, centres fer-soufre, hèmes et ions Cuivres. (**Bouzid, et** *al.*, **2014**)



**Figure N°05 :** Le transport électronique à travers la chaîne respiratoire mitochondriale et la production des ERO. (**Li, et** *al.*, **2017**)

Les complexes I – IV sont situés dans la membrane interne de la mitochondrie. Tout d'abord, les complexes I et II peuvent accepter les électrons du NADPH et de l'acide succinique, puis les transporter vers la coenzyme Q (CoQ), tout en libérant des protons. Ensuite, le complexe III peut transférer des électrons de CoQ au cytochrome C (Cyt c). Enfin, le complexe IV envoie des électrons à O<sub>2</sub>, produisant de l'H<sub>2</sub>O. Au cours de ce processus, un gradient de proton est formé, ce qui favorise la synthèse de l'ATP. Si le complexe III ne peut pas recevoir d'électrons de CoQ, ceux-ci seraient acceptés par O<sub>2</sub>, ce qui pourrait produire des ROS et entraîner un stress oxydatif. (**Li, et al., 2017**) (Voir figure 5)

## **4.1.2** Cytochromes P450 :

Le cytochrome P450 est présent à la fois dans le réticulum endoplasmique (microsomes) et dans les mitochondries dans les cellules animales, alors qu'il ne se trouve que dans le réticulum endoplasmique dans les cellules de plantes et de champignons. Les composants du système microsomal P450 sont tous liés à la membrane, alors que le système mitochondrial P450 est constitué de P450 lié à la membrane et d'un système réducteur soluble. (**Tsuneo, 2010**)

Les cytochromes de mammifères (P450) sont une famille d'enzymes impliquées dans le métabolisme oxydatif de divers composés lipophiles endogènes et exogènes. Un mauvais couplage du cycle catalytique P450 entraîne une production continue d'espèces réactives d'oxygène (ROS). (Richard, et *al.*, 2004)

### 4.1.3 NADPH oxydase:

Il s'agit d'une enzyme complexe constituée de deux composants liés à la membrane et de trois composants du cytosol. (**Bernard**, 2004) La NADPH oxydase est la source prédominante de l'anion superoxyde radicalaire (O<sub>2</sub> •) qui est formé par la réduction d'un électron de l'oxygène moléculaire, avec des électrons fournis par NADPH, pendant la respiration cellulaire. La plus grande partie de l'O<sub>2</sub>• est éliminée dans le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par la superoxyde dismutase (SOD). (**Liguori**, et *al.*, 2018)

# **4.1.4 Xanthine oxydase (XO):**

C'est une enzyme cytosolique présente dans plusieurs tissus de mammifères tels que le foie, l'intestin, les reins, les poumons, le myocarde, le cerveau, le plasma et les érythrocytes ; L'activité XO la plus élevée se trouve dans le foie et l'intestin. (Chrysoula, et al., 2012), C'est une enzyme clé du catabolisme des purines, elle est largement répandue dans les tissus humains. Elle peut catalyser la xanthine pour générer de l'acide urique. (Yajie, et al., 2014)

C'est la principale responsable de la production des radicaux libres au cours de l'exercice, elle utilise l'oxygène moléculaire comme accepteur d'électrons, ce qui entraîne la production de radicaux superoxydes (O<sub>2</sub>•-) et de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Cependant, XO entraîne également une production d'acide urique qui constitue la molécule antioxydante la plus abondante dans le plasma. (Chrysoula, et *al.*, 2012)

# 4.1.5 Monoamine oxydase:

Une enzyme présente dans la membrane mitochondriale catalyse la désamination oxydative des amines, et produit ainsi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans la matrice et le cytosol. (**Shafaq, 2012**)

## **4.1.6** NO Synthase (NOS) :

La biosynthèse de l'oxyde nitrique (NO) est catalysée par une famille des enzymes appelées NO synthases (NOS), Les mécanismes catalytiques de NOS impliquent le transport d'électrons par la flavine, à partir de la NADPH au centre de l'héme, où l'oxygène est réduit et incorporé dans l'azote de la guanidine de la L-arginine produisant du NO et L-citrulline.

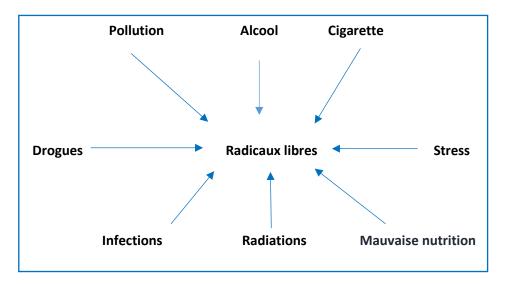
Trois isoformes distinctes de l'enzyme NOS ont été rapportés : NOS neuronale (nNOS ou NOSI), NOS inductible (iNOS ou NOSII) et NOS endothéliale (eNOS ou NOSIII). (**Simendra**, et *al.*, **2011**)

## 4.1.7 Autres Sources endogènes :

- Les cellules phagocytaires sont une autre source importante d'oxydants, elles libèrent des produits toxiques, qui incluent le monoxyde d'azote (NO•), le peroxyde d'hydrogène (H2O2) et l'anion super oxyde (O2 •-). (Asweni, et *al.*, 2017)
- L'apoptose est un processus de la mort cellulaire programmée. Elle cause la dénaturation de protéines et la phagocytose de la cellule, d'où la génération des ROS. (**Shafaq, 2012**)
- Au cours du métabolisme de l'acide arachidonique, Les ROS sont généré par voie intracellulaire dans laquelle la cyclooxygénase, la lipooxygénase, l'enzyme cytochrome P450 oxydase, sont impliqués. (Shafaq, 2012)
- Les sources cellulaires non enzymatiques de production des ROS sont aussi à considérer, Exemples : l'auto-oxydation de l'adrénaline, la dopamine, des flavines, de l'hydroquinone, et l'hémoglobine qui permet la production des O<sub>2</sub>-, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH•. (Bensakhria, 2015)

## 4.2 Sources exogènes des radicaux libres :

Les sources exogènes de RONS sont la pollution de l'air et de l'eau, le tabac, l'alcool, les métaux lourds ou de transition, les drogues (cyclosporine, tacrolimus, gentamycine et bléomycine), les solvants industriels, la cuisine (viande fumée, huiles usées et graisse), et les radiations, qui à l'intérieur du corps sont métabolisés en radicaux libres. (**Liguori, et al., 2018**)



**Figure N°06 :** Les principales sources externes des radicaux libres ayant une influence négative sur l'organisme humain. (**Karolina, et** *al.*, **2015**)

#### 5 Rôle des radicaux libres :

Les RONS jouent un double rôle, à la fois bénéfique et délétère pour le système vivant ; à des niveaux faibles à modérés, les RONS ont des effets bénéfiques et impliquent diverses fonctions physiologiques telles que la fonction immunitaire (défense contre les microorganismes pathogènes), la signalisation cellulaire, l'expression des gènes et dans la régulation redox. Cependant à plus haute concentration, les RONS génèrent un stress oxydatif, pouvant entraîner des dommages aux biomolécules. (Alugoju, et al., 2015)

# Chapitre III : Les composés Phénoliques

## III. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont, pour la plupart, dotés de pouvoir antioxydant. L'objectif principal de ce travail est l'évaluation de ces biomolécules issues des feuilles des deux espèces précédemment citées. Reconnus pour leur aptitude à piéger les radicaux libres, notre attention se focalisera sur les polyphénols totaux et les flavonoïdes.

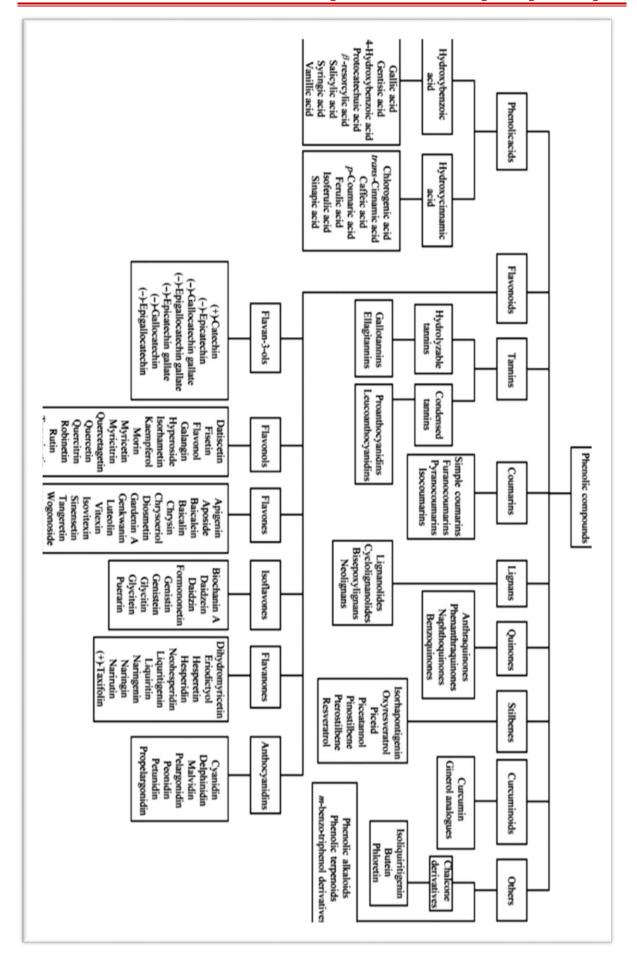
#### 1 Généralités

Les composés phénoliques sont généralement de faible poids moléculaire, ils ne semblent pas contribuer directement à la fonction principale de la plante et sont donc connus comme métabolites secondaires. (Delgoda, et al., 2017) Contrairement aux métabolites primaires, l'absence de métabolites secondaires n'entraine pas la mort immédiate de la plante, mais plutôt une altération à long terme de la capacité de survie ou de la fécondité, voire même à aucun changement significatif. Ces composés sont utiles aux derniers stades de la vie des plantes, souvent à des fins de défense (Vora, et al., 2017) contre les contraintes exotiques biotiques et abiotiques et ils ont un effet physiologique et écologique important. (Gea, 2018) Les métabolites secondaires agissent également en tant que composés de signalisation, attirant les pollinisateurs ou les animaux pour la dispersion des semences. Ils protègent également la plante des oxydants et des rayons ultraviolets. (Milena, et al., 2019) Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes ayant un cycle aromatique commun portant un ou plusieurs groupes hydroxyle, plus de 8000 composés phénoliques naturels ont été identifiés à ce jour. (Fadilah, et al., 2018)

Les composés phénoliques sont des pigments généralement responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruit (jaune, orange, rouge). Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Leurs principales sources alimentaires sont les fruits, les légumes et les céréales...etc. (Edeas, 2007)

Ces composés peuvent aller de simples molécules phénoliques à des composés hautement polymérisés. La plupart des composés phénoliques se trouvent naturellement sous forme conjuguée avec des mono ou polysaccharides, associés à un ou plusieurs groupes phénoliques. En outre, ils peuvent également être liés à des esters et à des esters méthyliques. (Milena, et al., 2019)

Les différentes catégories des composés phénoliques sont illustrées dans la figure suivante :



**Figure N°07 :** Les différentes catégories des composés phénoliques. (Ren-You Gan, et al., 2019)

Les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes sont majoritairement présents dans les feuilles, les fleurs et l'écorce de bois. Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre les agents pathogènes et les infections. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une des caractéristiques d'une sous-classe des flavonoïdes (**Gharas**, 2009)

Certains des acides phénoliques sont capables d'agir positivement contre les cancers. L'acide gallique présente des effets chimio préventifs contre le cancer du côlon chimiquement induit chez le rat (**Giftson**, et *al.*, 2010)

## 1.1 Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont des dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique et sont présents dans toutes les céréales. Ces acides présentent une activité antioxydante élevée in vitro et sont donc bénéfiques pour la santé humaine. Il existe deux classes d'acides phénoliques : les acides hydroxybenzoiques et les acides hydroxycinnamiques. (**Ratnavathi, 2019**)

# **Les acides hydroxybenzoiques (C6-C1)**

Les acides hydroxybenzoiques comprennent les acides galliques, p-hydroxybenzoique, vanillique, syringique et protocatécchique.

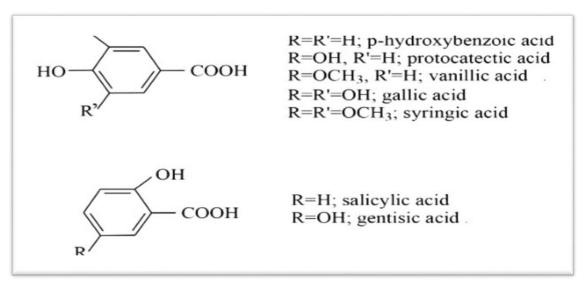


Figure N°08: Structure chimique des acides hydroxybenzoiques (Biljana, et al., 2019)

Les niveaux d'acides hydroxybenzoiques sont très importants dans les fruits rouges, les radis noirs et les oignons (**Prabhakar**, et *al.*, 2017)

## **❖** Les acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

Les acides hydroxycinnamiques les plus importants sont l'acide p-coumarique, acide caféique, acide férulique et l'acide sinapique.Les myrtilles, les kiwis, les prunes, les cerises, les pommes, les céréales et les graines oléagineuses sont les sources alimentaires les plus riches en acides hydroxycinnamiques. (**Prabhakar**, et *al.*, 2017)

Figure N°09: Structure chimique des acides hydroxycinnamique (Biljana, et al., 2019)

## 1.2 Les stilbènes (C6-C2-C6)

Ils possèdent deux fractions phényle jointes par un squelette méthylène à deux carbones, parmi les stilbènes les plus rependus : le resvératrol, les piceides et les astringines, Les fruits, les raisins, les cacahuètes, les grenades, les baies et le vin rouge sont les principales sources de stilbènes. (Prabhakar, et al., 2017)

Figure N° 10 : Structure chimique de base du resvératrol (Laura, et al., 2019)

### 1.3 Les flavonoïdes (C6-C3-C6)

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus abondants dans les fruits et les légumes, ils représentent près des deux tiers des composés phénoliques alimentaires (Laura, et al., 2019) Une grande partie des flavonoïdes ont une couleur jaune à rouge, en raison des chromophores conjugués présents dans les molécules, responsables de la gamme de couleurs des fleurs, des graines et des fruits (Milena, et al., 2019). Plus de 9000 flavonoïdes ont été identifiés (Wang, et al., 2018) La liste de ces derniers est en croissance continue. Ceci est dû à la survenance de nombreux modèles dans lesquelles les substitutions primaires (comme le groupe hydroxyle) peuvent être substitués (glycosylés ou acylés) et parfois créer des structures très complexes. (Laraba, et al., 2016). En tant que groupe, ils sont les plus bioactifs. Ils contiennent un squelette phényl benzopyranne (C6-C3-C6): deux cycles phényle (A et B) reliés par un cycle pyranique hétérocyclique (cycle C)

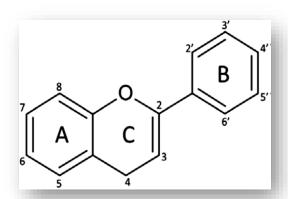


Figure N°11 : Squelette phényl benzopyranne, structure de base des flavonoïdes. (Laura, et al., 2019)

Les Principales classes des flavonoïdes sont : les flavones, les isoflavones, les flavonols, les flavanones, les flavan-3-ols et les anthocyanes, ils varient dans leurs caractéristiques structrelles par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle C. (**Laraba**, et *al.*, 2016). Cependant, il existe encore d'autres flavonoïdes sans squelette C6-C3-C6, tel que les biflavones, les furane chromones et les xanthones (**Wang**, et *al.*, 2018)

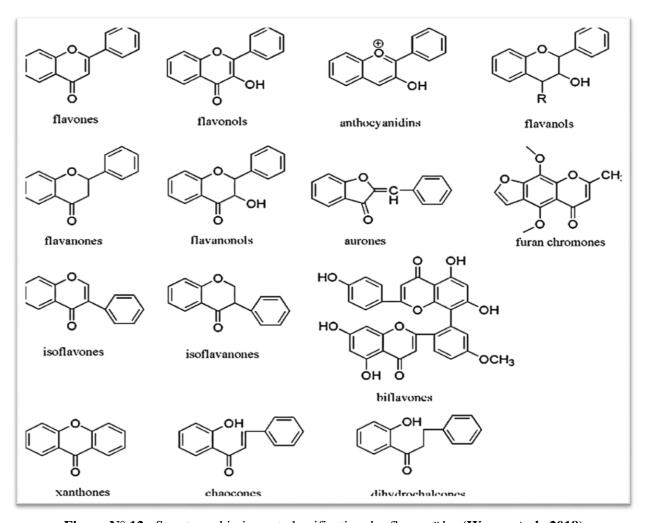


Figure N° 12 : Structure chimique et classification des flavonoïdes (Wang, et al., 2018)

Les variations dans les cycles A et B donnent naissance à différents composés au sein de la classe des flavonoïdes. Ces variations sont dues aux substitutions qui peuvent être du à l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, la sulfatation et l'acylation (Milena, et al., 2019), ou d'hydroxylation et de méthylation des cycles A et B. (Laura, et al., 2019), ils se trouvent fréquemment sous forme glycosylée ou estérifiée. Les glycosides avec leurs différentes catégories, nombres et types de connexion constituent la majorité des formes existantes des flavonoïdes, les sites de glycosylation préférés sont ceux associés aux aglycones (Wang, et al., 2018)

#### 1.3.1 Les flavones

L'un des types les plus importants de flavonoïdes, les flavones forment un groupe extrêmement important, avec plus de 2500 membres identifiés ainsi que leurs glycosides. Les flavones possèdent deux substituants sur le cycle (C) (**Dimitrios**, et *al.*, 2019), ils contiennent un groupe cétonique en C4, une double liaison entre C2 et C3, et le cycle (B) est lié à C2, les flavones les plus abondantes dans les fruits et les légumes comprennent l'apigénine, la lutéoline et leurs glycosides. (**Laura**, et *al.*, 2019)

Les flavones et les flavonols sont généralement de couleur rouge (Milena, et al., 2019), ils sont abondants dans les herbes et les épices comme le céleri, le persil, le thym et d'autres. Elles sont également présentes dans certains fruits, en particulier le cantaloup et le melon d'eau, ainsi que dans les légumes, en particulier les piments doux et forts, le chou chinois et les artichauts (Laura, et al., 2019)

#### 1.3.2 Les isoflavones

Ce sont des pigments de plantes solubles dans l'eau et qui ont des propriétés antioxydantes importantes. (Komal, et al., 2017) Les isoflavones sont des composés polyphénoliques dérivés de plantes qui ont une activité à la fois oestrogénique (agoniste des œstrogènes) et anti-oestrogénique (antagoniste des œstrogènes). Ce sont les principaux flavonoïdes des légumineuses, en particulier du soja, où ils sont présents liés aux sucres. Les isoflavones de soja comprennent la génistéine, la daidzéine et la glycitéine. (Sahin, et al., 2019)

Les isoflavones sont des flavones dans lesquelles le cycle B est lié à C 3 au lieu de C 2 (**Laura, et al., 2019**). La structure de base des isoflavones est un aglycone constitué d'un squelette 3-phénylchromane hydroxylé en positions 4' et 7. (**Bustamante, et al., 2018**) Environ 360 aglycones d'isoflavones sont connues. (**Dimitrios, et al., 2019**)

#### 1.3.3 Les flavonols

Les flavonols présentent un groupe aussi important que les flavones et présentent trois éléments de substitution du cycle C (**Dimitrios**, et *al.*, 2019). Le cycle C est insaturé en C2-C3, qui se trouve oxydé en C4 et hydroxylé en C3. (**Abotaleb**, et *al.*, 2019) Les flavonols sont des composés jaune pâle ou incolores, qui sont non seulement les Co-pigments des anthocynes, mais peuvent également absorber la lumière ultraviolette pour protéger les pétales de rose et attirer les insectes pollinisateurs, plusieurs rapports ont signalé que les aglycones de flavonols les plus prédominants dans les pétales de rose sont le Kaempferol et la quercétine. (**Wang**, et *al.*, 2018) Les flavonols sont très répandu dans le chou frisé, la laitue, les oignons, les raisins et les baies. (**Abotaleb**, et *al.*, 2019)

#### 1.3.4 Les flavanones

Les flavanones, sont également connues sous le nom de Di-hydroflavones, se caractérisent par un cycle C saturé et oxydé. Les flavanones sont distribuées dans les agrumes et sont connues pour leur activité antioxydante et leur capacité de piégeage des radicaux libres. L'hespérétine et la naringénine sont deux composés principaux de flavanones. (Abotaleb, et al., 2019) Les flavanones et d'autres flavonoïdes (chalcones et aurones) sont considérés comme des flavonoïdes mineurs car ils ne sont pas abondants dans la nature. (Laura, et al., 2019)

## 1.3.5 Les anthocyanes

Les anthocyanes sont parmi les métabolites secondaires les plus répandus chez les plantes. Ils sont responsables des couleurs orange, rouge, violet et bleu des fleurs, des fruits et des couleurs rouges des feuilles d'automne, leur couleur est influencée par le PH vacuolaire, la présence de Co-pigments et les ions métalliques. (Kallam, et *al.*, 2017)

Les anthocyanidines ne présentent pas de groupe cétonique en C4 et ils possèdent un groupement OH en C3 et deux doubles liaisons dans le cycle C, en raison de leurs caractéristiques structurelles, ce sont les seuls flavonoïdes ioniques.

Les anthocyanidines sont abondantes dans les baies, on peut les trouver aussi dans les fruits colorés comme les raisins, les cerises, les prunes, la nectarine, les pêches et les légumes comme les haricots noirs, la laitue rouge et les oignons rouges. Presque tous les anthocyanes sont des

dérivés glycosylés de six anthocyanidines : la pélargonidine, la cyanidine, la delphinidinne, la peonidine et la malvidine. (Laura, et al., 2019)

Environ 300 membres des anthocyanidines ont été identifiés dans la nature. (Dimitrios, et al., 2019)

#### 1.4 Les tanins

La dénomination de tanin comprend des composés de deux groupes chimiques distincts :

- Les tanins hydrolysables : sont des polymères d'acide ellagique ou d'acide gallique et ellagique, avec glucose.
- ❖ Les tanins condensés: résultent de la condensation de monomères de motifs flavan-3-ol. (David, et al., 2009), les oligomères flavan-3-ol sont appelés proanthocyanidines (car leur dégradation acide en présence d'alcool donne des anthocyanidines libres), tandis que les formes polymères sont appelées tanins condensés.

Les proanthocyanidines peuvent être composés uniquement de catéchine/épicatéchine (procyanidines) ou contiennent également des unités de gallocatéchine/épigallocatéchine (prodelphinidines).

Dans les produits alimentaires, les flavan-3-ol sont particulièrement abondants dans le thé, mais aussi dans le chocolat, le vin rouge, les noix et plusieurs fruits (**Laura**, et *al.*, 2019)

## **1.5** Les lignanes (C6-C3-C3-C6)

Plusieurs lignanes sont considérées comme des œstrogènes végétaux. Les lignanes sont des composés diphénolique à structure 2,3-dibenzylbutane formé par la dimérisation de deux résidus d'acide cinnamique. (**Prabhakar**, et *al.*, 2017) Les lignanes sont largement distribués mais présents à des faibles concentrations dans les céréales, les fruits, les noix, les légumes, etc. Sécoisolariciresinol, matairesinol et pinoresinol sont les lignanes les plus communs, ils sont abondants dans les graines de lin (**Laura**, et *al.*, 2019)

Figure N°13 : Structure chimique de sécoisolariciresinol (Laura, et al., 2019)

## 2 Mécanismes d'action des composés phénoliques contre les radicaux libres

Les composés phénoliques sont également des éléments importants de l'alimentation humaine en raison de leur pouvoir antioxydant potentiel, leur capacité à diminuer les dommages oxydatifs des tissus induits par le stress résultant de maladies chroniques, est potentiellement importante telle que l'activité anticancéreuse (**Lixiang**, et *al.*, 2009)

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est lié à leurs propriétés réductrices en tant qu'agents donneurs d'hydrogène ou d'électrons, ce qui prédit leur potentiel d'action en tant que piégeurs de radicaux libres (antioxydants), en outre, ils ont la capacité de chélation des métaux, en particulier de fer et de cuivre, empêchant la formation de radicaux libres catalysés par ces métaux (Milena, et al., 2019)

Les structures moléculaires, en particulier le nombre et la position des groupes hydroxyles, ainsi que la nature des substitutions sur les cycles aromatiques, confèrent aux composés phénoliques la capacité d'inactivation des radicaux libres. (**Igor, 2017**)

Sur la base de ce qui précède, le composé le plus actif en tant qu'antioxydant est celui qui possède plus d'un groupe actif en position ortho. Ainsi, le composé antioxydant le plus actif est le catéchol, qui possède deux groupes hydroxyle en position ortho (**Valgimigli, et al., 2008**). La première chaîne portant le radical peroxyle était piégée par transfert d'atome H à partir de

l'O-H phénolique labile et la seconde par réaction avec le radical phénoxyle résultant. Les catéchols sont capables de piéger deux radicaux peroxyle dans la plupart des conditions comme suit :

Figure N°14: Le mécanisme de réaction du catéchol en tant qu'antioxydant (Bendary, et al., 2013)

En outre, les composés phénoliques ont la capacité de chélation des métaux, en particulier de fer et de cuivre, empêchant la formation de radicaux libres catalysés par ces métaux. (**Milena**, et *al.*, 2019)

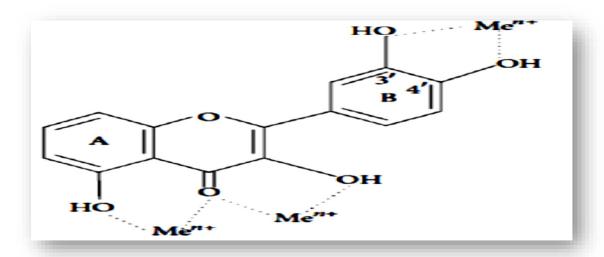


Figure N° 15: Les sites de liaison pour les traces de métaux (Men+) (Shashnak, et al., 2013)

## 3 Propriétés biologiques d'intérêt des composés phénoliques

Depuis quelques décennies, les travaux de recherche portant sur les flavonoïdes et d'autres composés phénoliques issus d'espèces de plantes médicinales ont considérablement augmenté, en raison de leurs multiples avantages pour la santé humaine (**Duangjai**, et *al.*, 2018), les polyphénols sont donc un groupe très diversifié et multifonctionnel de composés actifs des plantes ayant un potentiel de santé substantielle (**Ronald**, et *al.*, 2013)

# 3.1 Capacités antioxydantes des polyphénols

L'activité antioxydante des composés phénoliques est liée à la structure moléculaire, le degré de conjugaison et le degré d'hydroxylation qui semblent être les principaux facteurs conférant le pouvoir réducteur des polyphénols alimentaires. (Milena, et al., 2019)

Le groupe phénolique des polyphénols accepte un électron de réaction en chaine induite par un radical libre dans les composants cellulaires. L'amélioration du potentiel des antioxydants endogènes peut être expliquée par la présence de polyphénols réducteurs ou par les effets épargnants des polyphénols sur d'autres antioxydants endogènes. (Prabhakar, et al., 2017)

#### 3.2 Capacités antimicrobiennes des polyphénols

Parmi les métabolites secondaires étudiés, les polyphénols ont une forte activité antimicrobienne. Ces molécules constituent l'un des groupes de métabolites secondaires les plus nombreux et les plus divers, leurs propriétés antioxydantes constituent la base des effets antimicrobiens. (Leen, et *al.*, 2019)

De nos jours, les flavonoïdes bioactifs ont fait l'objet d'une activité antivirale et antibactérienne puissante. Par exemple, les activités thérapeutiques contre le virus de la grippe, elles ont été attribuées, en grande partie, à des structures chimiques dans des profils particuliers de méthoxylation, de glycosylation et d'hydroxylation. (Wang, et al., 2018)

#### 3.3 Capacités anti inflammatoires des polyphénols

Un grand nombre de flavonoïdes et d'autres composés phénoliques ont démontré leurs effets notables sur la fonction du système immunitaire et le processus inflammatoire. (**Duangjai**, et *al.*, 2018)

L'activité anti inflammatoire des flavonoïdes est médiée par un certain nombre de mécanismes, notamment l'inhibition d'enzymes proinflammatoires telles que la lipoxygénase, cyclooxygénase-2 et NOS. Au niveau moléculaire, les flavonoïdes stimulent la protéine kinase C, les enzymes antioxydants et détoxifiants de la phase II et la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK). Les flavonoïdes présentent également une action inhibitrice contre la voie NF-kB. (Rana, et al., 2019)

## 4 Domaines d'application des polyphénols

De nombreux métabolites secondaires produits par les plantes sont utilisés par les industries pharmaceutiques, dans le domaine de cosmétique, de la nutrition, des médicaments, des colorants, des parfums, des arômes, des compléments alimentaires. Par conséquent, l'intérêt scientifique et industriel autour des métabolites secondaires des plantes est énorme. (Gea, 2018)

## 4.1 Applications industrielles

Les composés phénoliques ont plusieurs applications dans ce domaine, qui varient d'un composé à l'autre, parmi ces derniers : les tanins et le carvacrol.

Les tanins sont des substances qui peuvent se combiner avec des protéines de peau de bêtes pour empêcher leur putréfaction et les transformer en cuir. Cette capacité concerne toute sorte de protéines et, par conséquent, les enzymes sont inclus. (**David**, et *al.*, 2009)

Le carvacrol est l'un des composés phénoliques hybrides utilisé comme substance aromatisante dans les produits alimentaires. A cause de ses activités biologiques antimicrobiennes et antivirales est aussi utilisé comme additif alimentaire dans l'alimentation des bétails pour réduire ou accompagner les antibiotiques conventionnels dans le domaine de la production de volailles, de porcines, de ruminants et d'aquaculture. (Dimitrios, et al., 2019)

## 4.2 Des applications médicinales et pharmaceutiques

D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (Macheix, et al., 2005). Ces substances phytochimiques sont présentées dans des éléments nutritifs et des médicaments à base de plantes. Des flavonoïdes et de nombreux autres composés phénoliques ont été rapportés pour leur efficacité

antioxydante, anticancéreuse, antibactérienne, cardioprotectectrice, anti-inflammatoire, de stimulation du système immunitaire et protection de la peau contre les rayons ultraviolets. (**Dimitrios, et al., 2019**) Les composés phénoliques offrent une protection contre les maladies chroniques non transmissibles non seulement par leur activité antioxydante, mais également par la régulation de nombreux processus cellulaires à différents niveaux, y compris l'inhibition des enzymes, la modification de l'expression des gènes, la phosphorylation des protéines, etc. (**Laura, et al., 2019**)

## 4.3 Applications nutritionnelles et agroalimentaires

Les flavonoïdes et les composés phénoliques sont synthétisés par divers groupes de plantes, y compris de nombreuses espèces de plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle ou la consommation diététique. (Dimitrios, et al., 2019) Ces composés contribuent aux caractéristiques colorimétriques et sensorielles des légumes et des fruits (Milena, et al., 2019), la noix de muscade est un exemple évident. Cette plante est principalement utilisée traditionnellement comme agent aromatisant (Dimitrios, et al., 2019)

La capacité de certains composés phénoliques à améliorer certaines propriétés fonctionnelles du lait et des produits laitiers a également été établie, à savoir la stabilité microbiologique, la moussabilité, la stabilité à l'oxydation et la stabilité à la chaleur. (Connell, et al., 2001) En outre la valeur potentielle des composés phénoliques en tant que biopréservateur est reconnue pour prolonger la durée de conservation des produits périssables, ces substances peuvent être utilisées pour retarder ou inhiber l'oxydation et la croissance des microorganismes. Cependant les composés phénoliques pourraient être influencés par les composants, le traitement et le stockage des aliments. (Martillanes, et al., 2017) Matériel et méthodes

#### I. Matériel et Méthodes

#### 1 Matériel:

# 1.1 Récolte et préparation des échantillons

Les feuilles de *Beta vulgaris L* ont été collectées le 01 mars 2019. La collecte a été effectuée au niveau de la région d'EL Harrouch, Wilaya de SKIKDA (**Figure 16**).

Cependant les feuilles de *Brassica rappa L* ont été collectées le 03 mars 2019, au niveau de la région de Messaoud Boudjeriou (anciennement appelée Aïn Kerma), Wilaya de

CONSTANTINE (**Figure 17**). Une fois au laboratoire un tri a été effectué pour éliminer les débris. Les échantillons ont été rincés à l'eau distillée pour éliminer les débris de terre, séchés à l'air libre, à l'abri de la lumière durant 30 jours. Après séchage, ils ont été broyés et conservés dans des bocaux en verre hermétiquement fermés à l'abri de chaleur, humidité et lumière jusqu'à utilisation.



**Figure N° 16** : *B Vulgaris L* de la région d'El Harrouch, SKIKDA (Photo originale)



**Figure N** $^{\circ}$  17 : *Brassica rapa L* de la région de Messaoud Boujriou, CONSTANTINE (Photo originale)

## 1.2 Préparation des extraits bruts :

100 g des feuilles de chaque plante ont subi une macération dans un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau; 80 : 20; v/v) pendant 72 heures. Le premier extrait récupéré est concentré sous pression réduite et une température modérée (environ 35 °C). La macération est répétée 03 fois avec renouvellement du solvant à chaque fois et dure dans chaque cas 24 heures. Les trois fractions de l'extrait hydro-méthanolique filtrés sont ensuite récupérées ensemble et concentrés à l'évaporateur rotatif à sec de type BÜCHI R-210 à une température de 40°C. Un résidu de chaque plante est récupéré après évaporation à sec et filtration pour obtenir une solution : c'est donc l'extrait hydro-alcoolique brut (BV HMeOH et BR HMeOH pour *Beta vulgaris L* et *Brassica rapa* respectivement) ; ces derniers ont été ensuite mis chacun a une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter (**Figure 18**).

## 1.3 Fractionnement des extraits bruts (Extraction liquide- liquide)

Les deux extraits hydro-alcooliques bruts : BV HMeOH et BR HMeOH et après soustraction de 80 ml de chacun (pour les sécher à l'étuve), ont été fractionnés chacun seul dans une ampoule à décanter à l'abri de la lumière dans une température ambiante modérée (35C°), en utilisant des solvants à polarité croissante (Acétate d'éthyle, n-butanol successivement).

L'extrait hydro-alcoolique brut de chaque plante est donc initialement mélangé avec l'acétate d'éthyle (V/V), après décantation la phase organique supérieure est récupérée. L'acétate d'éthyle est par la suite évaporé à sec à 40°C par un évaporateur rotatif, et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction de l'acétate d'éthyle (BV AC et BR AC pour chaque plante), La phase aqueuse inférieure est soumise à un autre fractionnement par le n-butanol pour donner la fraction butanolique (BV n-but et BR n-but), en suivant les mêmes étapes que le premier fractionnement par l'acétate d'éthyle.



Figure 18 : Extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter (photo originale)

Les trois extraits : hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanolique de chaque plante ont été séchés dans une étuve, récupérés et pesés conduisant à : (Voir tableau 6)

**Tableau**  $N^{\circ}$  **06** : Poids sec des différents extraits des deux plantes : *Beta vulgaris L* 

# Et Brassica rapa L

Extrait de plante	Poids (g)
BV HMeOH	4,80
BR HMeOH	6,14
BV AC	0,1 (100 mg)
BR AC	0,32 (322,5 mg)
BV n-but	5,12
BR n-but	4,83

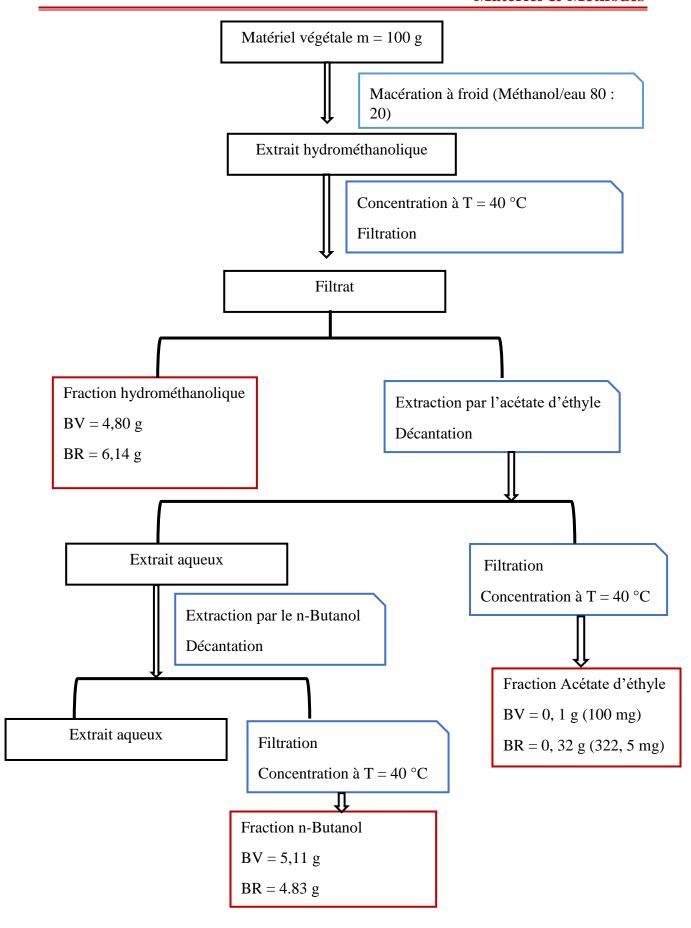


Figure N°19: Protocole d'extraction liquide- liquide (Mekkiou, 2005)

## 2 Méthode:

## 2.1 Méthode de caractérisation quantitative des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1965 par **Singleton et Rossi** 

## Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange D'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PM<sub>012</sub>O<sub>40</sub>). Il est Réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon**, 1968) La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot**, et *al.*, 2006)

#### Méthode de dosage

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole Appliqué en **2006** par **Wong** et ses collaborateurs.

Un volume de 125 μl d'extrait végétal dilué dans le méthanol est mélangé avec 500 μl d'eau distillée et 125 μL de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Après 5 minutes, 1250 μl de 2% de carbonate de sodium (Na2CO3) et 1000 μl d'eau distillée sont ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 90 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0-750 μg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par 1g poids sec de l'extrait (mg EAG/g EXS). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

## 2.2 Méthode de caractérisation quantitative des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits est réalisée par la méthode de (**Bahorun**, et *al.*, 1996)

## Principe:

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. (**Ribéreau-Gayon J, 1972**)

## Méthode de dosage:

Un volume de 1 ml d'extrait végétal dilué dans le méthanol est ajouté à 1 ml d'AlCl3 (2%) préparé dans le méthanol. Le mélange est vigoureusement agité, puis incubé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 1 heure. L'absorbance est mesurée à 415 nm. La teneur en flavonoïdes de l'extrait est obtenue en se référant à une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme de poids sec de plante (mg EQ/g Ps) (Maria, et al., 2009) .Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

## 3 Evaluation statistique:

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le logiciel Microsoft Excel 2013. Les résultats Des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type, n = 3.

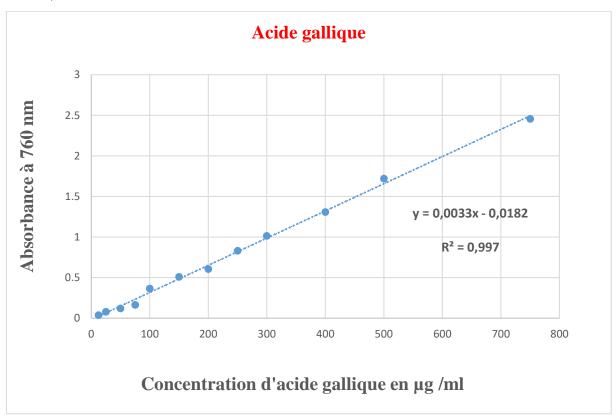
Résultats et Discussion

#### II. Résultats et discussion :

## 1 Teneur en polyphénols dans les extraits des deux plantes

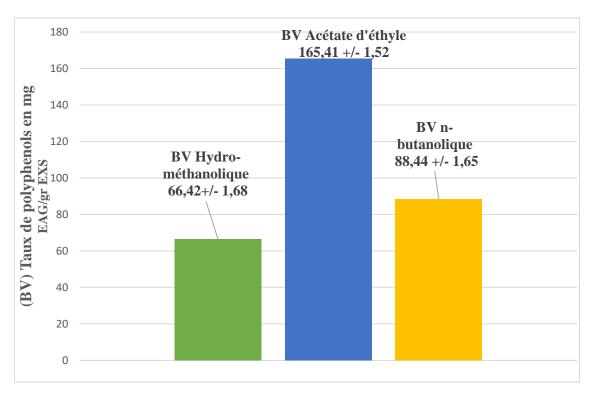
L'extraction et la préparation des phases hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanolique des feuilles de nos deux plantes a permis d'obtenir des extraits de différentes couleurs, Qu'on a conservé au frais dans des flacons ombrés jusqu' à leur utilisation.

La teneur en phénols totaux est estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque Extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique (L'équation standard de courbe : y = 0,0033 x - 0,0182 ; R2 = 0,997) (**Figure 20**). En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage représente une productibilité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme étalon, R2 = 0,997.

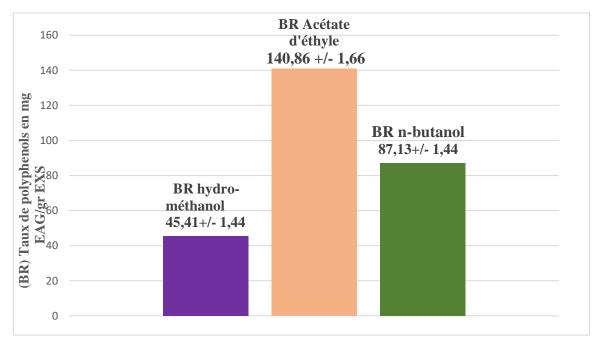


**Figure N° 20 :** Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique (Moyenne  $\pm$  ES de trois essais)

# 1.1 Teneur en polyphénols totaux dans les extraits des feuilles de Beta vulgaris L Et Brassica rapa L:



**Figure N° 21 :** Teneurs en polyphénols totaux dans l'extrait de *Beta vulgaris L* avec ses trois phases (hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanolique) équivalent d'acide gallique



**Figure N° 22 :** Teneurs en polyphénols totaux dans l'extrait de *Brassica rapa L* avec ses trois phases (hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanolique) équivalent d'acide gallique

Les polyphénols sont des composés fortement hydroxylés que l'on retrouve dans diverses fractions d'extraits végétaux. Ils ont la capacité d'absorber « les radicaux libres » dans les systèmes biologiques. Ce qui fait de ces composés de potentiels agents antioxydants.

L'analyse qualitative des différents extraits des deux plantes a été effectuée par des méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV- visible par la méthode de Folin-Ciocalteu dont le but est l'estimation des quantités en polyphénols présentes dans chaque plante. La méthode de Folin-Ciocalteu a été choisie pour doser les polyphénols pour plusieurs raisons : c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, la disponibilité du réactif de Folin et la méthode est bien standardisée, la grande longueur d'onde d'absorption du chromophore qui permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde. (Hagerman, et al., 2005)

Les quantités de polyphénols totaux correspondantes sont rapportées en mg d'équivalents d'acide gallique par gr d'extrait (mg EAG/g d'extrait). La méthode est basée sur l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique (**Figure 20**). Les Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits de *Beta vulgaris L et d Brassica rapa L* avec leurs trois phases (hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanolique) équivalent d'acide gallique sont illustrées dans les (**Figure 21 et 22**) respectivement. Chaque essai a été répété 03.

D'après les résultats, on peut constater que toutes les phases des extraits de feuille de *Beta vulgaris L* ainsi que de *Brassica rapa* sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes.

La (**Figure 21**) de (*Beta vulgaris L*) montre que l'extrait acétate d'éthyle possède la plus haute teneur en polyphénols ( $165,41 \pm 1,52$  mg EAG/g EXS), suivi par l'extrait *n*-butanolique ( $88,44 \pm 1,65$  mg EAG/g EXS) et enfin l'extrait hydrométhanolique ( $66,42 \pm 1,68$  mg EAG/g EXS).

La (**Figure 22**) de (*Brassica rapa L*) montre aussi que l'extrait acétate d'éthyle possède la plus haute teneur en polyphénols ( $140,86 \pm 1,66$  mg EAG/g EXS), suivi par l'extrait n-butanolique ( $87,13 \pm 1,44$  mg EAG/g EXS) et enfin l'extrait hydrométhanolique ( $45,41 \pm 1,44$  mg EAG/g EXS).

L'extraction liquide-liquide permet ainsi de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction et selon leur degré de glycosylation (Markham, 1982), de ce fait les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux varient significativement selon le solvant utilisé (Bourgou, et al., 2016);

Ils varient aussi sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété, le climat, la localisation géographique les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante ainsi que la température d'extraction (**Laraba**, et *al.*, 2016)

Selon (**Ouedraogo**, **et al., 2015**) l'acétate d'éthyle extrait mieux les polyphénols (165,41  $\pm$  1,52 mg pour *Beta-vulgaris* et 140,86  $\pm$  1,66 mg pour *Brassica rapa*) devant les solvants hydro-alcoolique (66,42  $\pm$  1,68 mg pour *Beta vulgaris* et 45,41  $\pm$  1,44 mg pour *Brassica rapa*), Cela s'expliquerait par le fait que les rendements d'extraction en polyphénols sont plus élevés avec les solvants de polarité inférieure à celle de l'eau.

Nos deux plantes semble être riche en composés aglycones, mono O-glycoside et di-o-glycosides car selon (**Laraba**, et *al.*, 2016): l'acétate d'éthyle est utilisé pour l'extraction des formes aglycones ou mono O-glycosides et partiellement di-o-glycosides,

Tandis que le n-butanol ayant une polarité plus élevée est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes di-o-glycosides et triglycosides et C glycosides

Nos résultats obtenus pour **la Beta vulgaris** L (**Figure 21**) de la phase hydro-méthanolique  $(66,42 \pm 1,68 \text{ mg EAG/g EXS})$  sont très proches aux travaux antérieurs réalisés par

(Hajihosseini, et *al.*, 2017) qui ont trouvé (51 mg/g EAG/g EXS) et proches aussi des résultats obtenus par l'équipe de (Sonia, et *al.*, 2018) qui ont trouvé (76.72±0.078 mg EAG/g EXS); Cependant pour la phase n-butanolique, nos résultats (88,44 ± 1,65 mg EAG/g EXS) n'était pas proches à ceux de (Sonia, et *al.*, 2018) qui ont trouvé (32.590±0.034 mg EAG/g EXS) Ceci peut être dû à la variété de l'espèce ou à l'impact de l'origine et la nature du solvant utilisé, car selon (Bettaib, et *al.*, 2016) Une modification du répertoire phénolique, sous l'influence d'un facteur ou d'un autre (tel que le solvant d'extraction), pourrait être la raison de la modification des propriétés biologiques caractéristiques d'une plante.

Si on compare la plus grande teneur en polyphénols totaux des feuilles de Beta vulgaris L qui est celle de l'acétate d'éthyle à raison de  $(165,41 \pm 1,52 \text{ mg EAG/g EXS})$ , avec la teneur en polyphénols des racines de la même plante ayant fait l'objet d'étude par l'équipe de

(**El-Beltagi, et** *al.*, **2018**) Qui ont trouvé (133,5  $\pm$  1,05 mg EAG/g EXS), on remarque qu'elles sont significativement proches, d'où l'intérêt de remettre en valeur l'usage culinaire des feuilles de betterave qui sont selon (**Biondo, et** *al.*, **2014**) généralement coupées et jetées avant d'utiliser son bulbe en raison du manque de connaissances sur leur utilisation.

Nos résultats pour la *Brassica rapa L* (**Figure 22**) de la phase hydro-méthanolique ( $45,41\pm1,44$  mg EAG/g EXS), sont presque similaires aux travaux présentés par (**Nawaz, et** *al.*, **2018**) qui ont trouvé (42,92 mg EAG/g EXS).

# 1.2 Comparaison du contenu en polyphénols totaux dans les différentes phases des deux plantes : Beta vulgaris L et Brassica rapa L

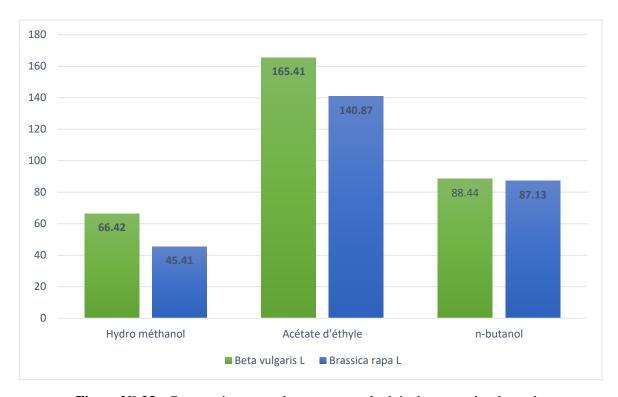
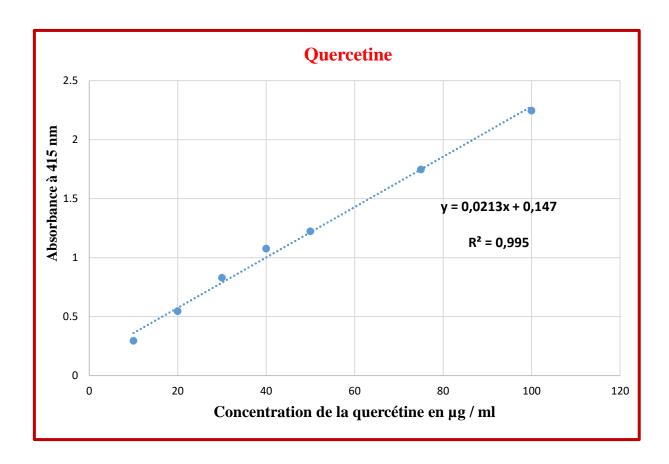


Figure  $N^{\circ}$  23 : Comparaison entre la teneur en polyphénols totaux des deux plantes (Beta vulgaris L et Brassica rappa L) dans les trois phases (hydro-méthanolique, Acétate d'éthyle et n-butanolique)

Les résultats comparatifs de la teneur en polyphénols totaux dans les différentes phases (hydrométhanolique, Acétate d'éthyle et n-butanolique) des feuilles des deux plantes (Beta vulgaris L et Brassica rappa L) présentés dans la (Figure 23) montrent que toutes les phases des extraits de feuilles sont riches en polyphénols mais en quantité différente entre les phases, cependant ce qui remarquable est que pour les deux plantes c'est l'acétate d'éthyle qui présente la plus grande teneur en polyphénols (165,41mg EAG/g EXS pour Beta vulgaris L et 140,87 mg EAG/g EXS pour Brassica rapa L), suivi par le n-butanol (88,44 mg EAG/g EXS Pour Beta vulgaris L et 87,13 mg EAG/g EXS pour Brassica rapa L) et enfin l'extrait hydrométhanolique (66,42 mg EAG/g EXS pour Beta vulgaris L et 45,41 mg EAG/g EXS pour Brassica rapa L); cette similitude du profil de solubilité dans les solvants que présentent les deux plantes pourrait être expliquer par l'analogie des composés phénoliques constituants les deux plantes et ayant une affinité presque identique pour les différents solvants, selon la taxonomie de (Hequet, et al., 2019; Carcaillet, et al., 2019) les deux plantes proviennent de la sousclasse des Magnolidae

#### 2 Teneur en flavonoïdes dans les extraits des deux plantes

La concentration des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode au trichlorure d'ammonium et les résultats ont été exprimés en (mg EQ/ g EXS). Les taux des flavonoïdes des deux extraits ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (**Figure 24**) qui suit une équation de type : y = 0.0213 x + 0.147,  $R^2 = 0.995$ .



**Figure 24** : Courbe d'étalonnage de la quercetine (Moyenne  $\pm$  ES de trois essais).

# 2.1 Teneur en flavonoides dans les extraits des feuille de Beta vulgaris L et Brassica rapa L:

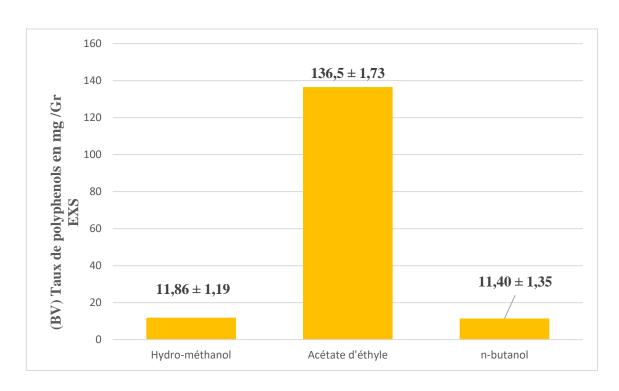


Figure  $N^{\circ}$  25 : Teneurs en flavonoides dans l'extrait de *Beta vulgaris L* avec ses trois phases (hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanolique) équivalent de la quercetine

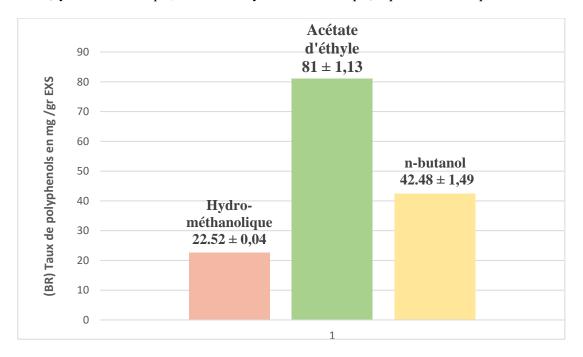


Figure  $N^{\circ}$  26 : Teneurs en flavonoides dans l'extrait de *Brassica rapa L* avec ses trois phases (hydro-méthanolique, d'acétate d'éthyle et n-butanolique) équivalent de la quercetine

La (**Figure 25**) de (*Beta vulgaris L*) montre que l'extrait acétate d'éthyle possède une très grande teneur en flavonoïdes  $(136,65 \pm 1,73 \text{ mg EQ /g EXS})$ , qui constitue presque toute la teneur en polyphénols totaux de cette phase dans la plante (**Figure 21**) ,suivi des deux autres phases hydro-méthanolique et n-butanol : toutes les deux assez faibles (4,16 mg et 4,35 mg), ceci pourrait être expliqué par la richesse de notre plante en aglycones ou mono O-glycosides et partiellement di-o-glycosides comme précédemment mentionné. (**Laraba, et al., 2016**)

Selon (Ferhat, 2009) la différence de masse molaires entre la partie hétérosidique et le reste du flavonoïdes (partie aglycone) influence solubilité des flavonoïdes, si la partie hétérosidique du flavonoïde diglycosylées domine (son poids moléculaire est plus élevé par rapport à la partie (aglycone) ce dernier sera plus soluble dans l'eau ,en l'occurrence, retrouvé dans l'extrait aqueux, alors que si la partie aglycone prédomine sur l'hétéroside, donnant ainsi une solubilité moins marqué au flavonoïde di glycosylée dans l'eau, ce dernier se retrouvera dans l'extrait d'acétate d'éthyle, par conséquent la richesse de notre phase acétate d'éthyle s'explique par la grande prédominance de flavonoïde non glycosylés (apolaires) qui sont solubles dans les solvants apolaires.

Nos résultats obtenus pour la *Beta vulgaris L* (**Figure 25**) de la phase hydro-méthanolique sont à raison de :  $(11,86 \pm 1,19 \text{ mg EQ/g EXS})$ .

De même que les résultats des polyphénols totaux pour la phase alcoolique réalisés par (Hajihosseini, et al., 2017) qui étaient très proches des nôtres, le taux des flavonoïdes l'est aussi, ils ont trouvé (17.3 mg EQ /g EXS). Ils sont également proches des résultats de (Rubóczki, et al., 2018) et ses collaborateurs, en Hongrie, ayant trouvé (8,72 mg EQ/g EXS) sur une variété Betterave dite « LARKA »

Si pour la teneur en polyphénols totaux de *Beta vulgaris L*, nos résultats étaient très proches à ceux trouvé par (**Sonia**, et *al.*, **2018**), ce n'est pas le cas pour la teneur en flavonoides car cette même équipe a trouvé des taux de  $(60.2 \pm 0.056 \text{ mg})$  et  $83.78 \pm 0.043 \text{ mg}$ ) pour les phases hydroalcooliques et n-butanolique respectivement.

La différence de résultats de la teneur en flavonoïdes entre nos résultats, et ceux de (**Sonia**, et al., 2018) réalisés en Inde, peut être expliquée par les variétés génétiques des sous espèces et les conditions climatiques qui peuvent différencier la composition des plantes, car selon (**Zeghouane**, 2014) Les variations des rendements d'une plante à une autre, semblent être liées

aux différents facteurs de propriétés génétiques, origine géographique, Conditions et durée de stockage, récolte et méthodes d'extraction appliquée.

Nos résultats obtenus pour **la** *Brassica rapa L* (**Figure 26**) montre que l'extrait acétate d'éthyle possède la plus haute teneur en flavonoïdes (81  $\pm$  1,13 mg EQ/g EXS), suivi par l'extrait *n*-butanolique (42,48  $\pm$  1,49 mg EQ/g EXS) et enfin l'extrait hydro-méthanolique (22,52  $\pm$  0,04 mg EQ/g EXS).

Ces résultats peuvent êtres expliquer par la solubilité différentielle des différentes flavonoïdes, ou les flavonoïdes polaires sont solubles dans les solvants polaires (n-butanol ensuite l'hdrométhanol) et les flavonoïdes apolaires sont solubles dans les solvants apolaires. La lecture des teneurs en flavonoïdes permet de constater que les plus grands ont été obtenus avec le solvant le moins polaire (acétate d'éthyle).

Cette hypothèse est appuyée par l'étude réalisé par (Valenta, et al., 2007) en Portugal qui ont réussi à mettre en évidence dans les feuilles de *Brassica rapa var. rapa L* 14 composés phénoliques différents (polaires et apolaires) majoritairement hydroxycinnamique et favonoidiques.

# 2.2 Comparaison du contenu en flavonoïdes dans les différentes phases des deux plantes : Beta vulgaris L et Brassica rapa L

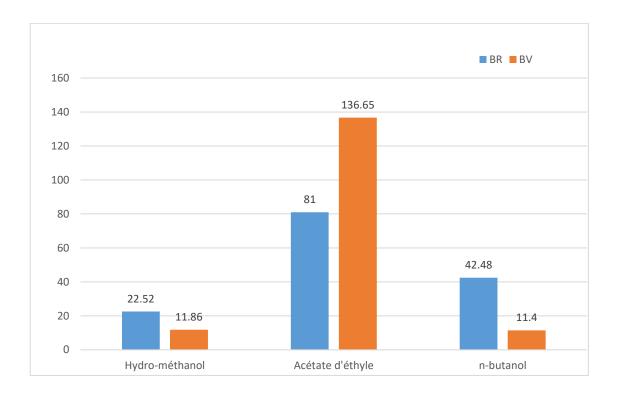


Figure N° 27 : Comparaison entre les taux de flavono $\ddot{u}$  des deux plantes (Beta vulgaris L et Brassica rappa L) dans les trois phases (hydro-méthanolique, Acétate d'éthyle et n-butanolique)

Les résultats comparatifs de la teneur en flavonoides dans les différentes phases (hydro-méthanolique, Acétate d'éthyle et n-butanolique) des feuilles des deux plantes

(*Beta vulgaris L* et *Brassica rappa L*) présentés dans la (**Figure 27**) montrent que toutes les phases des extraits de feuilles sont riches en flavonoides mais en quantité différente entre les phases.

La plus grande teneur est marquée par l'acétate d'éthyle (136,65 mg et 81 mg) pour les deux plantes : solvant préféré des flavonoïdes apolaires, suivi par les phases n-butanolique et hydrométhanolique qui sont les solvants préférés des flavonoïdes moyennement polaires et polaire. Comme précédemment mentionnés ces résultats s'expliquent par la solubilité différentielle des différents flavonoïdes dans les solvants à différentes polarités. (**Ferhat, 2009**)

Conclusion et Perspectives

### **CONCLUSION & PERSPECTIVES:**

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par Un nouveau concept, celui du « stress oxydant », qui se définit par une situation de déséquilibre entre la production des espèces réactives (oxygénées et azotées) et les mécanismes de défense et de détoxification de ces dernières. Ainsi, les acteurs du stress oxydant peuvent également avoir des effets délétères sur de nombreux constituants des cellules.

Les polyphénols présentent des propriétés anti oxydantes bien établies. Ces substances suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines, celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies en est le plus important.

Le régime méditerranéen entre autre Algérien est caractérisé par une consommation élevée et variée de produits végétaux (légumes, fruits, huile d'olive,...etc.).

Dans ce contexte nous avons choisis de faire l'étude des feuilles de deux plantes largement présentes en Algérie : *Beta vulgaris L* et *Brassica rapa L* communément appelé :Betterave rouge et Navet respectivement, les feuilles contrairement aux bulbes, étaient autrefois consommées par nos grands-parents, les habitudes alimentaires et culinaires ont changé et ces dernières sont généralement jetées par méconnaissance de leurs valeurs nutritionnelles et anti-oxydantes, d'où l'intérêt de notre étude qui vise à contribuer à la revalorisation de la consommation de ces feuilles.

D'après notre étude, l'analyse phytochimique montre que les différents types d'extraits de feuilles des deux plantes préparés dans des solvants à polarité croissante sont très riches en polyphénols totaux, ils varient entre (66,42 et 165, 41 mg EAG/g EXS) pour les feuilles de betterave rouges, et entre (45,41 et 88,41 mg EAG/g EXS) pour les feuilles de navet ; assez proches de leurs tubercules pour le betterave dont la teneur en polyphénols a fait l'objet de travaux antérieur déjà cités dans notre mémoire et qui était de (133,5  $\pm$  1,05 mg EAG/g EXS) Les flavonoïdes étaient présents aussi dans les feuilles des deux plantes, ils varient entre (11,4 et 136, 65 mg EQ/g EXS) pour la betterave rouge et (22,52 et 81 mg EQ/g EXS) pour les navets.

La différence des résultats des flavonoïdes par rapport aux polyphénols concernant les différentes phases remonte à la solubilité différentielle des molécules de flavonoïdes dans les différents solvants ; nécessitant ainsi une étude plus poussée pour déterminer leurs structures chimiques.

En perspective ils seraient intéressant de :

- Evaluer l'activité antioxydante des feuilles des deux plantes.
- Lancer une étude plus approfondie pour la recherche et la détermination structurelle des métabolites secondaires des feuilles des deux plantes.
- Comparer les résultats de cette étude avec des études réalisées avec des feuilles de plantes connues et largement utilisées dans le domaine agro-alimentaire et médical.

### **REFERENCES BIBLIOGRAHIQUES:**

**Abotaleb, Samuel Samson Mathews et Varghese Elizabeth** Flavonoids in Cancer and Apoptosis [Revue] // Cancers. - 2019.

**Alugoju, Jestadi Dinesh Babu et Periyasamy Latha** Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases [Revue] // Indian Journal of Clinical Biochemistry. - January 2015. - Vol. 30. - pp. 11-26.

**Andrea Moura, Fabiana [et al.]** Lipoic Acid: Its Antioxidant and Anti-Inflammatory Role and Clinical Applications [Revue] // Current Topics in Medicinal Chemistry. - 2015. - 5: Vol. 15. - pp. 458-483.

**Asweni [et al.]** Pleurotus giganteus (Berk. Karun & Hyde), the giant oyster mushroom inhibits NO production in LPS/H2O2 stimulated RAW 264.7 cells via STAT 3 and COX-2 pathways [Revue] // BMC Complement Altern Med. - Malaysia : [s.n.], 2017.

**Bahorun** [et al.] Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations [Revue] // Arzneimittelforschung. - nov 1996. - pp. 1086-1089.

**Baião Diego dos S.** Nutritional, Bioactive and Physicochemical Characteristics of Different Beetroot Formulations [Revue] // IntechOpen. - 06 September 2017.

**Bee Ling Tan [et al.]** Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases [Revue] // Frontiers in Pharmacology. - Malaysia: [s.n.], 16 October 2018.

**Bendary** [et al.] Antioxidant and structure—activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds [Revue]. - 2013.

Bensakhria Ayoub Stress Oxydatif [Revue] // Analytical Toxicology. - Janvier 2015.

**Bernard M babior** NADPH oxidase [Revue] // Current Opinion in Immunology. - February 2004. - Vol. 16. - pp. 42-47.

**Bettaib** [et al.] Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des graines de fenouil (Foeniculum vulgarae Mill.) [Revue] // Journal on new sciences. - 2016.

**Biljana Kaurinovic et Djendji Vastag** Flavonoids and Phenolic Acids as Potential Natural Antioxidants [Revue] // IntechOpen. - 2019.

**Biondo** [et al.] Evaluation of beetroot (Beta vulgaris L.) leaves during its developmental stages: a chemical composition study [Revue] // Food Science and Technology. - Mars 2014. - pp. 94-101.

**Boizot et J.P Charpentier** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un forestier [Revue] // Le cahier des techniques de l'Inra. - 2006. - pp. 79-82.

**Bouguerne Benaissa** Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies

cardiovasculaires (athérosclérose) [Rapport] : Thèse de doctorat / Université de Toulouse 3. - Toulouse : [s.n.], 2012.

**Bourgou [et al.]** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia [Revue] // Journal of new sciences. - 2016. - Vol. 28.

**Bouzid Mohamed Amine [et al.]** Exercice physique, marqueurs antioxydants et peroxydation lipidique : effets de l'âge et du niveau d'aptitude physique [Rapport] : Thése de Doctorat / Université du Droit et de la Santé Lille 2. - Lille : [s.n.], 2014. - p. 165.

**Bustamante et Delgado Mar'ıa Milagros** Analysis of Isoflavones in Foods [Revue] // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. - 2018.

**Carcaillet [et al.]** Brassica rapa L., 1753 [En ligne] // Inventaire national du patrimoine naturel. - 2019. - Juin 2019. - https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\_nom/86423/tab/taxo.

**Cédric GIGOT** Développement d'un procédé biotechnologique de production de molécules à note verte à partir de feuilles de betteraves [Rapport] : thése de Doctorat / Université de Liège. - Liége : [s.n.], 2011.

**Chauvet, Michel [et al.]** Brassica rappa [En ligne] // Pl@ntUse. - Mars 2019. - Juin 2019. - https://uses.plantnet-project.org/fr/Brassica\_rapa#Groupe\_Rapa.

**Chrysoula [et al.]** Flavonoid Glycosides Isolated from Unique Legume Plant Extracts as Novel Inhibitors of Xanthine Oxidase [Revue] // PLOS One. - 02 March 2012.

Connell et Fox P.F. SIGNIFICANCE AND APPLICATIONS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE PRODUCTION AND QUALITY OF MILK AND DAIRY PRODUCTS: A REVIEW [Revue] // International Dairy Journal. - 2001.

**Damian G. Deavall, Elizabeth A. Martin et Judith M.** Drug-Induced Oxidative Stress and Toxicity [Revue] // Journal of Toxicology. - 2012.

**David M.Pereira, Patrica Valentao et José A.Pereira** Phenolics: From Chemistry to Biology [Revue] // Molecules. - 2009.

**Delgoda et Murray J.E.** Chapter 7 - Evolutionary Perspectives on the Role of Plant Secondary Metabolites [Revue] // Pharmacognosy. - 2017.

**Dimitrios Tsimogiannis et Vassiliki Oreopoulou** Classification of Phenolic Compounds in Plants [Revue] // ScienceDirect. - 2019.

**Domenico Fusco [et al.]** Effects of antioxidant supplementation on the aging process [Revue] // Clin Interv Aging. - septembre 2007.

**Duangjai, Thongboonyou Areeya et Pholboon Apinan** Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview [Revue]. - 2018.

**E. V. Kalinina, N. N. Chernov et M. D. Novichkova** Role of Glutathione, Glutathione Transferase, and Glutaredoxin in Regulation of RedoxDependent Processes [Revue] // Biochemistry. - Moscow: [s.n.], January 2015. - Vol. 79. - pp. 1562-1583.

**Edeas M.** Les polyphenols et les polyphenols de thé [Revue] // Phytothérapie. - 2007. - Vol. 5. - pp. 264–270.

**El-Beltagi** [et al.] EVALUATION OF SOME CHEMICAL CONSTITUENTS ANTIOXIDANT, ANTIBACTERIAL AND ANTICANCER ACTIVITIES OF BETA VULGARIS L. ROOT [Revue]. - Egypt : [s.n.], 2018.

**El-Sherbeny [et al.]** Response of Turnip (Brassica rapa) Plants to Minerals or Organic Fertilizers Treatments [Revue] // Journal of Applied Sciences Research. - 2012. - pp. 628-634.

**Fadilah, Arsianti Ade et Yanuar Arry** Structure Activity Relationship Analysis of Antioxidant Activity of Simple Benzene Carboxylic Acids Group Based on Multiple Linear Regression [Revue] // Oriental jouranal of chemistry. - 2018.

**Favier A** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel. Thérapeutique [Revue] // L'actualité Chimique. - 2003. - pp. 108-115.

**Favier A.** Stress oxydant et pathologies humaines [Revue] // Elsevier. - 2006. - pp. 390-396.

**Federico [et al.]** hplc-dad-ms/ms-esi screening of phenolic compounds in pieris brassicae l. Reared on brassica rapa var. Rapa l [Revue] // J. Agric. Food Chem. - 2008.

**Ferhat Maroua** Recherche de substances bio actives de centaurea microcarpa coss et dur [Revue] // Mémoire on line . - 2009.

**Francesco Galli [et al.]** Vitamin E: Emerging aspects and new directions [Revue] // Free Radical Biology and Medicine . - 2017. - pp. 16-36.

**Fumiaki Ito, Yoko Sono and Tomoyuki Ito** Measurement and Clinical Significance of Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative Stress:Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation [Journal]. - Japan : MDPI, March 25, 2019. - pp. 1-2.

Garait Blandine LE STRESS OXYDANT INDUIT PAR VOIE METABOLIQUE (REGIMES ALIMENTAIRES) OU PAR VOIE GAZEUSE (HYPEROXIE) ET EFFET DE LA GLISODIN® [Rapport]: Thése de Doctorat. - Grenoble: CCSD HAL, 2006. - p. 197.

**Gea Roberto Berni, J. Armando Muñoz-Sanchez** Production of Plant Secondary Metabolites: Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists. [Revue] // Genes. - 2018.

**Ghani [et al.]** Phenotypic and genetic variation occurred during wide hybridisation and allopolyploidisation between Brassica rapa and Brassica nigra [Revue] // Scientia Horticultura. - 2014. - Vol. 176. - pp. 22-31.

**Gharas Hasna EL** Polyphenols: food sources, properties and applications [Revue] // International journal of Food Science and Technology. - 2009.

**Ghedadba [et al.]** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé [Revue] // Pharmacognosie. - 2015.

**Giftson, S Jayanthi et N Nalini** Chemopreventive efficacy of gallic acid, an antioxidant and anticarcinogenic polyphenol, against 1,2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis [Revue] // Invest New Drugs. - 2010.

**Graham J.Burton et Eric R.M.Jauniaux** Oxidative stress [Revue] // Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. - June 2011. - 287-299 : Vol. 25.

**Grubben et Denton** Beta vulgaris L [En ligne] // PROTA4U. - 2019. - https://prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Beta+vulgaris+L..

**Gwendolyn N. Y. van Gorkom [et al.]** Influence of Vitamin C on Lymphocytes : An Overview [Revue] // Antioxidants. - March 2018.

**H.V. Vu, T.V. Dam et T.J. Acosta** Regulation of superoxide dismutase by prostaglandin F2 $\alpha$  in the bovine corpus luteum [Revue] // Anim. Reprod. - June 2013. - 2 : Vol. 10. - pp. 88-98.

**Hagerman [et al.]** The chemistry behind antioxydant capacity assays [Ouvrage]. - 2005. - pp. 1841-1856.

**Hajihosseini, M Setorki et Z Hooshmandi** The antioxidant activity of Beta vulgaris leaf extract in improving scopolamine-induced spatial memory disorders in rats [Revue]. - Iran: [s.n.], 2017. - pp. 417–425.

**Haleng, Jeanine [et al.]** Le stress oxydant [Revue] // Revue Médicale de Liège. - Octobre 2007. - Vol. 62. - pp. 628-38.

**Hang Korng Ea** De l'hyperuricémie à la goutte : physiopathologie [Revue] // Revue du Rhumatisme. - Paris : [s.n.], Octobre 2011. - Vol. 78. - pp. S103-S108.

**Heath [et al.]** A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses [Revue]. - USA: Intensive and Critical Care Nursing, 2005. - pp. 24-28.

**Hequet et Corre** Beta vulgaris L., 1753 [En ligne] // Inventaire National du Patrimoine Naturel. - 2019. - https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\_nom/85820/tab/taxo.

**Hirst Gillian.** Turnip Patch [Revue]. - Australia : [s.n.], 2006.

**Howard Dr. Diana** The Interntional Dermal Institute [Online] = What Is A Free Radical? // Google Scholar. - 2018. - March 31, 2019. -

http://www.dermalinstitute.com/uk/assets/articles/22\_pdf\_53e3b46e0c39a\_What%20Is%20A%20Free%20Radical.pdf.

**Igor Cristine Vanz Borges, Maria Izabela Ferreira, Hector Alonzo Gomez Gomez** Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability [Revue] // Intech. - 2017.

**Jacques Delattre, Jean-Louis Beaudeux et Dominique Bonnefont-Rousselot** Radicaux libres et stress oxydant Aspects biologiques et pathologiques [Ouvrage] / éd. Internationales Lavoisier TEC & DOC éditions Médicales. - 2005. - pp. 14-93-94.

**Jacques Médart** Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative. [Ouvrage] / éd. Superieur De Boeck. - 2009. - pp. 51-52.

**Jan Sohail Ahmad [et al.]** Antioxidant and anticancer activities of Brassica rapa: a review [Revue] // Biology and medecine. - Pakistan: [s.n.], 2018. - Vol. 3.

**Josiane Cillard et Pierre Cillard** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations [Revue] // Oilseeds and fats, Crops and Lipids. - Rennes : [s.n.], 15 janvier 2006. - 1 : Vol. 13. - pp. 24-29.

**Kallam, Appelhagen et J Luo** Aromatic Decoration Determines the Formation of Anthocyanic Vacuolar Inclusions. [Revue] // Curr Biol. - 2017.

**Karolina** [et al.] The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease [Journal]. - Poland : ELSEVIER, December 18, 2015. - pp. 39-49.

**Kaushik Das et Aryadeep Roychoudhury** Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants [Revue] // Frontiers in Environmental science . - India : [s.n.], 02 Décembre 2014.

**Kevser Unal, Deny Susanti et Muhammad Taher** Polyphenol content and antioxidant capacity in organically and conventionally grown vegetables [Revue] // Journal of Coastal Life Medicine. - Malaysia: [s.n.], 2014.

**Kiple y Kenneth F. et Ornelas Kriemhild Coneè** The Cambridge World History of Food [Ouvrage]. - New York : Cambridge University Press, 2000. - p. 294.

**Komal, Bhattacharya Sujata et Puri Sunil** Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants [Revue] // Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. - 2017.

**Laraba, Amina Serrat et Ghania Ouassaa** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale [Rapport] : Mémoire Master / Université des fréres Mentouri Constantine. - 2016.

**Laura, Moreno-Escamilla Jesús Omar et Rodrigo-García Joaquín** Phenolic Compounds [Revue] // ScienceDirect. - 2019.

**Leen, Sleiman Ahmad et Abdel-Massih Roula M.** Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants [Revue] // Frontiers in Microbiology. - 2019.

**Li [et al.]** Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy [Revue] // Oxid Med Cell Longev. - 2017.

**Lien Ai Pham-Huy, Hua He et Chuong Pham-Huy** Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health [Revue] // International Journal of Biomedical Science. - 2008. - pp. 89–96.

**Liguori [et al.]** Oxidative stress, aging, and diseases [Journal]. - [s.l.] : Clin Interv Aging, April 26, 2018.

**Lixiang [et al.]** Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from Ilex kudingcha C.J. Tseng [Revue] // Food chemistry. - 2009.

M.A. Ruiz [et al.] Dietary combination of vitamin E, C and K affects growth antioxidant activity, and the incidence of systemic granulomatosis in meagre (Argyrosomus regius) [Revue] // aquaculture. - 31 August 2018. - Vol. 498. - pp. 606-620.

Macheix, Fleuriet Annie et Jay-Allemand Christian LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES DES VÉGÉTAUX. UN EXEMPLE DE MÉTABOLITES SECONDAIRES

D'IMPORTANCE ÉCONOMIQUE [Revue] // SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ETHNOPHARMACOLOGIE. - 2005.

Marcel B.ROBERFROID, Véronique COXAM et Nathalie DELZENNE Aliments fonctionnels [Ouvrage] / éd. DOC LAVOISIER / TEC ET. - 2008. - 2e : pp. 209-215.

Maria et R Fani Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits secs des feuilles des bouleaux argentés bulgares (Betula pendula). [Revue] // Revue de génie industriel. - 2009. - pp. 21-25.

**Marjan et Azadeh** Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements [Ouvrage]. - Iran : [s.n.], 2019. - pp. 153-158.

Martillanes, Rocha-Pimienta Javier et Cabrera-Bañegil Manuel Application of Phenolic Compounds for Food Preservation: Food [Revue]. - 2017.

**Mekkiou Ratiba** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox [Rapport] : thése de doctorat / Université Mentouri Constantine. - Constantine : [s.n.], 2005.

**Migdal Camille et Mireille Serres** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant [Revue] // médecine science. - France : [s.n.], 04 Avril 2011. - Vol. 27. - pp. 405 - 412.

Milena, Lima Verena Silva et Junior Mário Roberto Maróstica Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power [Revue]. - 2019.

**Moammadmehdi [et al.]** Co-administration effects of aqueous extract of turnip leaf and [Revue] // J Tradit Complement Med. - 2017.

Muaz Belviranli et Nilsel Okudan. Well-Known Antioxidants and Newcomers in Sport Nutrition [Revue] // Antioxidants in Sport Nutrition. - 2015.

Navet – Culture des navets [En ligne] // Jardinage bio.net. - 2019. - Juin 2019. - http://www.jardinagebio.net/navet-culture/.

**Nawaz, Shad Muhammad Aslam et Muzaffar Saima** Phytochemical Composition and Antioxidant Potential of Brassica [Revue] // IntechOpen. - Parkistan : [s.n.], 2018.

**Oguz Merhan** The Biochemistry and Antioxidant Properties of Carotenoids [Revue] // IntecOpen. - june 2017.

**Ouedraogo** [et al.] Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (Allium cepa L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso [Revue]. - 2015.

**Penelope AE Main [et al.]** The potential role of the antioxidant and detoxification properties of glutathione in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis [Revue] // Nutition & Metbolism. - 24 Avril 2012.

**Polidoro Jessica** Turniips Introduction, Scientific Classification and etymology, and Botanical description [Rapport]. - 2008.

**Polyana Batoqui França BIONDO [et al.]** Evaluation of beetroot (Beta vulgaris L.) leaves during its developmental stages: a chemical composition study [Revue] // Food Science and Technology. - Mars 2014. - pp. 94-101.

**Prabhakar, Kesharwani Rajesh K. et Keservani Raj K.** Antioxidants and Vitamins: Roles in Cellular Function and Metabolism [Revue] // ScienceDirect. - 2017.

**Ramonatxo Christelle Koechlin** Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires [Revue] // Nutrition clinique et métabolisme. - 2006. - pp. 165–177.

Rana et Gulliya Bhawna Chemistry and Pharmacology of Flavonoids- A Review [Revue] // Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research. - 2019.

**Ratnavathi C.V.** Grain Structure, Quality, and nutrition [Revue] // Food Science, Technology and Nutrition. - 2019.

**Reichmann Dana, Wilhelm Voth and Ursula Jakob** Maintaining a Healthy Proteome during Oxidative Stress [Journal] // Molecular Cell. - January 18, 2018. - p. 204.

**Ren-You Gan, Chak-Lun Chan et Qiong-Qiong Yang** Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains [Revue] // Spouted Grains. - 2019.

**Reuter S [et al.]** Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? [Journal]. - USA: Free Radic Biol Med, December 2010.

**Ribéreau-Gayon J Peynaud E,Sudraud P,Ribéreau-Gayon P** Sciences et techniques du vin [Ouvrage] / éd. Dunod. - 1972. - p. 671.

**Ribéreau-Gayon Peynaud**, **Sudraud**, **P**, **Ribéreau-Gayon P** Sciences et technique du vin [Ouvrage] / éd. Dunod. - 1968. - p. 671.

**Richard [et al.]** Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450 [Revue] // Elsevier. - USA: [s.n.], 2004.

**Ronald, Preedy Victor et Zibadi Sherma** Polyphenols in Human Health and Disease [Revue] // ScienceDirect / éd. Press Academic. - 2013. - p. 201.

**Rubóczki et Hájos Mária Takácsné** Leaf and root evaluation of bioactive compounds of different beetroot varieties [Revue] // ACTA AGRARIA DEBRECENIENSIS. - Debrecen, Hongrie: [s.n.], 2018.

**Sahin Ilyas, Birdal Bilir et Shakir Ali** Soy Isoflavones in Integrative Oncology: Increased Efficacy and Decreased Toxicity of Cancer Therapy [Revue] // SAGE Journals. - 2019.

**Sanlier et M Guler Saban** The Benefits of Brassica Vegetables on Human Health [Revue] // ScholArena. - 2018. - Vol. 1.

Sanlier et Saban Guler the Benefits of Brassica vegetables on human health [Revue]. - 2018.

**Servaites et Geiger** Glyphosate Effects on Carbon Assimilation, Ribulose Bisphosphate Carboxylase Activity, and Metabolite Levels in Sugar Beet Leaves [Revue] // Plant Physiol. - 1987.

**Shafaq Noori** An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System [Revue] // Open Access Scientific Reports. - Pakistan : [s.n.], 2012.

**Shafi** [et al.] Ethnomedicinal plant use value in the Lakki Marwat District of Pakistan [Revue] // Journal of Ethnopharmacology. - 2014. - Vol. 158. - pp. 412-422.

**Shashank Kumar et Abhay K. Pandey** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview [Revue] // The scientific world journal. - 2013.

**Shashnak Kumar et Abhay K.Pandey** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview [Revue] // The Scientific World Journal. - 2013.

**Simendra et Gupta Alok K.** Nitric oxide: role in tumour biology and iNOS/NO-based anticancer therapies [Revue] // Cancer Chemotherapy and Pharmacology. - may 2011. - Vol. 67. - pp. 1211–1224.

**Smith Andrew F.** The Oxford Encyclopedia of Food and Drink in America [Ouvrage]. - 2004. - p. 565.

**Sonia, Sumitra Singh et Shailendra Kumar Singh** Phytopharmacognostical study of Beta vulgaris L. leaves: An Update [Revue] // RESEARCH REVIEW Journals. - India: [s.n.], 2018. - 9: Vol. 3.

**Swastika Chang-An Geng [et al.]** Phytochemical and Health-Beneficial Progress of Turnip (Brassica rapa) [Revue] // Journal of Food Science. - 2019. - Vol. 84.

**Takahashi, Yokoi Suji et Takahata Yoshihito** Genetic divergence of turnip (Brassica rapa L. em. Metzg. subsp. rapa) inferred from simple sequence repeats in chloroplast and nuclear genomes and morphology [Revue] // Genetic Resources and Crop Evolution. - 2016. - Vol. 63. - pp. 869–879.

**Terekhina N.V** interactive Agricultural Ecological Atlas Of Russia and and Neighboring countries Economic Plants and their Diseases, Pests and Weeds [Revue] // Agro Atlas. - 2008.

**Toxopeus et Baas** Brassica rapa L [En ligne] // PROTA4U. - 2019. - Juin 2019. - https://prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Brassica+rapa+L..

**Tsuneo Omura** Structural diversity of cytochrome P450 enzyme system [Revue] // The Journal of Biochemistry. - Japan : [s.n.], 2010. - Vol. 147. - pp. 297-306.

**Vafaeinejad [et al.]** Hypolipidemic Activity of Aqueous Extract of Turnip (Brassica rapa) Root in Hyperlipidemic Rats [Revue] // Quarterly of the Horizon of Medical Sciences. - Iran: [s.n.], 2015. - Vol. 21. - pp. 45-51.

**Valenta [et al.]** Chemical and antioxidative assessment of dietary turnip (Brassica rapa var. rapa L.) [Revue] // Elsevier. - Portugal: [s.n.], 2007.

**Valgimigli [et al.]** The unusual reaction of semiquinone radicals with molecular oxygen. [Revue] // J Org Chem.. - 2008.

**Vora Jyoti . et Pednekar Ms. Sneha R.** Insight into the Biochemical Link between Biodiversity and Nutraceuticals [Revue] // IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology. - 2017.

**Wang, Li Qing et Bi Kai-shun** Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate [Revue] // ScienceDirect. - 2018.

**Ware Megan** MedicalNewsToday [En ligne]. - Mai 2017. - JUIN 2019. - https://www.medicalnewstoday.com/articles/285961.php.

**Yajie** [et al.] Novel Insights into the Inhibitory Mechanism of Kaempferol on Xanthine Oxidase [Revue] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. - December 2014. - pp. 526–534.

**Yu-Jing Hang and Guang-Xian Nan** Oxidative stress-induced angiogenesis [Journal] // Elsevier. - China: [s.n.], February 20, 2019.

**Zegarac J.P** Oxidative Stress: Effects on Lipids, Proteins, and DNA [En ligne] // Brunswick Labs: BioAnalytical Testing and Research Laboratories / prod. Laboratories BioAnalytical testing ans Research. - 2019. - 20 Avril 2019. - https://brunswicklabs.com/blog/oxidative-stress-effects-on-lipids-proteins-and-dna/.

**Zeghouane Hanane** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox [Rapport] : Thése de master / Université Kasdi Merbeh Ouargla. - 2014.