

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE SCIENCE ALIMENTAIRE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**GHEZZALI HADRIA**

&

**BOUTCHAICHA SABRINA**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCE ALIMENTAIRE**

**Spécialité : Qualité Des Produits Et Sécurité Alimentaire**

**THÈME**

**Élaboration d'une boisson fonctionnelle aux glucosinolates  
extraits des Brassicacées : processus de préparation et  
potentiel bienfait sur la santé**

Soutenu publiquement le 22/09/2024

DEVANT LE JURY

Présidente	ALCHAHER Fatima.Z	MAB	U. Mostaganem
Encadreur	CHAA Sara	MCB	U. Mostaganem
Examineur	CHERRAD Hayet	MAB	U. Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire*

# Remerciement

On remercie tout avant ”**Allah** ”le tout puissant qui nous a procuré du courage et de la volonté pour mener ce modeste travail

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Madame **CHAA Sarra**, nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous remercions aussi Madame **CHERRAD Hayet** et Madame **ALCHAHER Fatima** pour leur collaboration, et d'avoir accepté de juger notre travail.

Nos sincères remerciements vont également à tous les ingénieurs de laboratoire et spécialement à **Melle Rachida** pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.

Nous remercions à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à l'achèvement de ce travail

**Hadria et Sabrina**

## Dédicace

Je dédie ce travail à celui qui m'a appris combien la patience est la clé du succès, à celui dont l'âme m'accompagne partout où je vais à ceux qui me manquent face aux difficultés, et le monde ne lui a pas permis d'étancher sa tendresse à qui je porte son nom avec fierté, **mon cher père**

À mon paradis dans ce monde, mon soutien dans la vie À ceux qui ont beaucoup sacrifié pour moi ont porté mes inquiétudes et m'ont inondé de prières pour ce que, si je les décrivais, **ma mère** ne lui ferait pas justice.

Je dédie aussi ce travail à :

**Mon frère, mes sœurs**

**A toutes mes amies**

**A toute ma famille**

A mon cher binôme **Sabrina**, pour ses efforts et son soutien durant le travail, je souhaite du bon courage pour le reste de son cursus

**Hadria**

## **Dédicace**

Je tiens à adresser mes remerciements aux personnes qui m'ont aidé dans la réalisation ce mémoire.

La personne la plus importante ma tendre maman pour son amour inconditionnel et ses encouragements, sache que rien de tout cela n'aurait été possible sans toi.

A mon cher papa pour ses conseils avisés et ses nombreux sacrifices merci de m'avoir toujours poussé à donner le meilleur de moi-même.

A ma sœur FATIMA pour son écoute attentive et ses précieux conseils qui mon guidé tout au long de ce parcours. Ma sœur WISSEM pour sa gentillesse et sa présence rassurante qui m'ont été d'un grand réconfort.

Mon petit frère MOHAMED pour sa joie de vivre contagieuse.

Mes grands frères FAYCAL et ABDELKADER pour leurs humours ainsi que leurs précieux conseils.

Mon beau-frère SAAD et Sans oublier mes grands-parents,  
mes oncles et tantes pour leurs soutiens.

Un grand merci à tous pour votre amour indéfectible. Sans  
oublier aussi mon binôme HADRIA pour son soutien moral,  
sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

**Sabrina**

## Liste des abréviations

**GSL** : Glucosinolate

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

**IC50** : Concentration inhibitrice de 50 %

**BSA** : Albumine sérique bovine

**PBS** : phosphate buffered saline

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>01</b>	les pièces florales des Brassicacées	<b>09</b>
<b>02</b>	Anatomie du brocoli ( <i>Brassica oleracea L., var. Italica</i> )	<b>12</b>
<b>03</b>	Moutarde blanche ( <i>Sinapis alba L.</i> ) : (a) champ expérimental, (b) feuilles, (c) fleurs, et (d) graines	<b>15</b>
<b>04</b>	Structure Glucosinolates <b>a</b> : la structure d'erreur, <b>b</b> : la structure correcte	<b>18</b>
<b>05</b>	structure générale de glucosinolates	<b>18</b>
<b>06</b>	Trois grandes classes des glucosinolates	<b>20</b>
<b>07</b>	La biosynthèse des glucosinolates	<b>23</b>
<b>08</b>	Schéma classique du système glucosinolate-myrosinase	<b>26</b>
<b>09</b>	hydrolyse des glucosinolates	<b>27</b>
<b>10</b>	<i>Camellia sinensis</i> : <b>(A)</b> fruit, <b>(B)</b> feuilles	<b>29</b>
<b>11</b>	Thé glacé enrichi en glucosinolates extraient des graines de brocoli et de moutarde blanche	<b>31</b>
<b>12</b>	<b>(A)</b> : les graines de brocoli, <b>(B)</b> : les graines de moutarde blanche	<b>33</b>
<b>13</b>	les boîtes couvrent par un aluminium	<b>33</b>
<b>14</b>	le rinçage des graines de brocoli et de moutarde blanche	<b>34</b>
<b>15</b>	les germes de brocoli et de moutarde blanche après 4 jours de germination.	<b>34</b>
<b>16</b>	Recouverte les deux mélange par un papier aluminium	<b>35</b>
<b>17</b>	Filtration de mélange	<b>36</b>
<b>18</b>	Protocole de préparation de l'extrait.	<b>36</b>
<b>19</b>	Structure chimiques du radicale libre DPPH et sa forme	<b>38</b>

	réduite	
<b>20</b>	Protocole de l'activité anti-inflammatoire	<b>41</b>
<b>21</b>	Les extraits des graines : (A) brocoli, (B) moutarde blanche	<b>43</b>
<b>22</b>	Rendement d'extrait de brocoli et de moutarde blanche	<b>44</b>
<b>23</b>	Résultats du test du DPPH à différents concentrations	<b>47</b>
<b>24</b>	Les différentes concentrations des échantillons	<b>46</b>
<b>25</b>	le pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de vitamine C, de notre extrait éthanoliques, de thé vert, et de mélange de thé et notre extrait	<b>47</b>
<b>26</b>	Détermination de la valeur IC50	<b>50</b>
<b>27</b>	Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'extrait éthanolique, thé vert , le mélange( thé vert +extrait) , et le contrôle positif ( diclifénac) à différent concentration	<b>52</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Les différentes classes des aliments fonctionnels	<b>16</b>
<b>02</b>	la classification du brocoli	<b>13</b>
<b>03</b>	Exemples de glucosinolates et des plantes dans lesquelles on les trouvent	<b>20</b>
<b>04</b>	Classification botanique de <i>Camellia sinensis</i>	<b>28</b>
<b>05</b>	Composition chimique des feuilles de thé vert	<b>30</b>
<b>06</b>	Listes d'appareils, verreries et produits utilisé pour l'extraction	<b>35</b>
<b>07</b>	Listes d'appareils et réactifs utilisé pour l'activité anti-DPPH	<b>38</b>
<b>08</b>	Listes d'appareils et réactifs utilisé pour l'activité anti-inflammatoire	<b>40</b>
<b>09</b>	Résultats du rendement d'extraction de l'extrait éthanolique des graines de brocoli et moutarde blanche	<b>43</b>
<b>10</b>	Pourcentage d'inhibition de DPPH	<b>49</b>
<b>11</b>	Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'extrait éthanolique, thé vert , le mélange( thé vert +extrait) , et le contrôle positif ( diclifénac) à différent concentration	<b>51</b>

## Résumé

Ce travail a pour objectif, Création d'un nouveau produit antioxydant et anti-inflammatoire à base de thé vert enrichis des glucosinolates extraient des graines de brocoli (*Brassica oleracea var. italica*), et de moutarde blanche (*Sinapis alba L.*). Le présent travail vise à évaluer les activités biologiques in vitro telles que l'activité anti-inflammatoire, ainsi que l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de brocoli et de moutarde blanche.

L'extraction des glucosinolates à partir des graines de brocoli et de moutarde blanche, avec un rendement de 12,56%, 9,44% respectivement. Le résultat obtenu de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) de notre boisson présent une meilleure activité que l'acide ascorbique. L'activité anti-inflammatoire de la dénaturation protéique de notre boisson a montré qu'il a une grande capacité à empêcher la dénaturation des protéines de 95,03% par rapport le diclofénac 85,21%

En conclusion La formulation de cette boisson fonctionnelle met en évidence un potentiel exceptionnel en tant que produit bénéfique pour la santé, combinant des effets antioxydants et anti-inflammatoires importants. Les résultats indiquent que la boisson pourrait offrir des avantages significatifs pour la gestion des processus inflammatoires et le stress oxydatif, répondant ainsi aux objectifs fixés pour ce projet.

**Mots clés:** Brocoli (*Brassica oleracea var. italica*), Moutarde blanche (*Sinapis alba L.*), Glucosinolates, activité anti-inflammatoire, activité antioxydante

## **Abstract**

The objective of this work is to create a new antioxidant and anti-inflammatory product based on green tea enriched with glucosinolates extracted from the seeds of broccoli (*Brassica oleracea var. italica*) and white mustard (*Sinapis alba L.*). The aim of this study was to evaluate the in vitro biological activities, such as anti-inflammatory activity and antioxidant activity, of the ethanolic extract of broccoli and white mustard.

Glucosinolates were extracted from broccoli and white mustard seeds, with yields of 12.56% and 9.44% respectively. The antioxidant activity results obtained using the DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging method for our beverage showed better activity than ascorbic acid. The anti-inflammatory activity of protein denaturation of our drink showed that it has a high capacity to prevent protein denaturation of 95,03% compared with diclofenac 85.21%.

In conclusion the formulation of this functional drink shows exceptional potential as a health-promoting product, combining significant antioxidant and anti-inflammatory effects. The results indicate that the drink could offer significant benefits for the management of inflammatory processes and oxidative stress, thus meeting the objectives set for this project

**Key words:** Broccoli (*Brassica oleracea var. italica*), White mustard (*Sinapis alba L.*), Glucosinolates, anti-inflammatory activity, antioxidant activity

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

## **Table des matières**

Introduction.....1

### **Chapitre I : synthèse bibliographique**

#### **I.1. Les aliments fonctionnels**

I.1.1.Historique.....4

I.1.2.Définition .....4

I.1.3.Objectifs et quelques exemples des aliments fonctionnels .....5

    A. Objectifs des aliments fonctionnels .....5

    B. Exemples des aliments fonctionnels les plus célèbres .....6

I.1.4.Classement des aliments fonctionnels.....7

#### **I.2. Les Brassicaceae**

I.2.1.Introduction.....8

I.2.2.Généralités .....8

I.2.3.Systématique botanique Les Brassicacées .....	8
I.2.4.Caractéristique botaniques Les Brassicaceae.....	9
I.2.5.Utilisation des Brassicaceae dans l'alimentation.....	10
I.2.6.Le brocoli ( <i>Brassica oleracea var. italica</i> )	
I.2.6.1.Généralités sur brocoli.....	12
I.2.6.2.Caractéristique botaniques.....	12
I.2.6.3.Le brocoli, source alimentaire de composés bioactifs.....	13
A. Minéraux.....	13
B. Vitamine.....	13
C. Glucosinolates.....	13
D. Protéines .....	14
I.2.6.4.Classification botanique.....	14
I.2.7. Moutarde blanche ( <i>Sinapis alba L.</i> )	
I.2.7.1.Généralités.....	15
I.2.7.2.Description de la moutarde blanche.....	15
I.2.7.3.Production de graines de moutarde blanche.....	16
I.2.7.4.Propriétés.....	17
I.2.7.5.Utilisation.....	17
<b>I.3. Les glucosinolates</b>	
I.3.1.Généralités sur glucosinolates.....	18
I.3.2.Structure des glucosinolates.....	18
I.3.3.Aliments contenant glucosinolates.....	20

I.3.4. Les types de glucosinolates.....	20
I.3.5. Les effets des glucosinolates.....	24
A. Effets anti tumorale .....	24
B. Effets indésirables.....	25
C. Effet sur la plante.....	25
I.3.6. Couple myrosine-glucosinolates.....	26
A. Définition des glucosinolates.....	26
B. Hydrolyse des glucosinolates.....	27
<b>I.4. Thé vert</b>	
I.4.1. Introduction.....	29
I.4.2. Classification systématique.....	29
I.4.3. Description botanique.....	30
I.4.4. Composition chimique des feuilles de thé vert.....	31
<b>Création du produits</b> .....	32

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

II.1. Objectif de l'expérience.....	36
II.2. Lieu de la recherche, période.....	36
II.3. Matériel végétal (brocoli et moutarde blanche).....	36
II.3.1. La germination des graines de brocoli et moutarde blanche.....	36
II.3.1.1. Matériels utilisé pour la germination des graines .....	36
II.3.1.2. Mode opératoire .....	36
a) Faire tremper les graines.....	37

b) Faire germer des graines.....	38
II.4.Préparation de l'extrait de brocoli et de moutarde blanc.....	39
II.4.1.Procédé d'extraction.....	39
II.4.2.Calcul du rendement d'extrait.....	40
II.5.Evaluation de quelques activités biologiques .....	41
II.5.1.Evaluation de l'activité antioxydante.....	41
II.5.1.1.Matériel et réactifs.....	42
II.5.1.2.Mode opératoire.....	42
II.5.2.Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	43
II.5.2.1.Matériels et produits.....	43
II.5.2.2.Mode opératoire.....	44

## **Chapitre III : Résultats et discussions**

III.Résultats et discussions.....	47
III.1.Les rendements de l'extrait éthanolique .....	47
III.2.Détermination de l'activité antioxydant.....	50
III.3.Détermination de l'activité anti-inflammatoire.....	56
Conclusion.....	61
Références bibliographique.....	63

# **Introduction**

Dans le passé, les aliments étaient reconnus principalement pour leurs apports en substances nutritives nécessaires au fonctionnement normal du corps. Cependant, au cours des deux dernières décennies, les consommateurs sont passés du simple besoin de satisfaire la faim à la consommation d'aliments pour le maintien du bien-être et la réduction des risques des maladies. Compte tenu des tendances en matière de demande des consommateurs, l'industrie alimentaire a mis sur le marché une nouvelle catégorie de produits nommés « aliments fonctionnels ». Il s'agit d'aliments qui offrent certains bienfaits pour la santé. Essayer de créer des aliments fonctionnels qui apportent des bienfaits pour la santé est devenu un grand intérêt pour les chercheurs dans le monde entier. **(Jayalalitha et al., 2019)**.

La sensibilisation du public pour un mode de vie sain a incité la recherche de nouvelles sources alimentaires qui appartiennent à la famille des Brassicaceae, riches en nutriments essentiels et ayant des effets positifs sur la santé humaine **(Butkutė et al., 2018)**. Cette famille est composée de plantes très communes dans l'alimentation comme le chou, le radis, la roquette, le brocoli, le navet, le chou-fleur, le cresson, le chou-rave et la moutarde **(Montaut et al., 2012)**

Différentes études suggèrent que la consommation de légumes de cette famille et de ses dérivés diminue le risque de plusieurs maladies, dont divers types de cancer (colon, sein, prostate), les maladies cardiovasculaires et les maladies de la peau, et l'obésité **(Bojorquez-Rodríguez et al., 2022)**

L'une des caractéristiques les plus frappantes de cette famille botanique est la présence de plusieurs types de métabolites secondaires au goût distinctif et aux bioactivités intéressantes. Les plus étudiés sont les glucosinolates (GSL) **(Ramirez et al., 2020)**. Il a été démontré que les GSL ont de multiples effets positifs sur plusieurs maladies courantes. Des rapports ont mis en évidence des effets neuroprotecteurs, antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreux **(Bojorquez-Rodríguez et al., 2022)**

En outre, il a été constaté que le processus physiologique de germination des graines de brocoli pour produire de jeunes plantules ou des germes augmente leurs valeurs nutritives et phytochimiques. Des rapports ont montré que les pousses de brocoli comestible

constituent une source riche de GSL et d'autres substances phytochimiques telles que les composés phénoliques **(Bojorquez-Rodríguez et al., 2022)**

L'objectif général de ce travail a été de concevoir un aliment fonctionnel antioxydants et anti-inflammatoire à base de thé vert, enrichi en glucosinolates extraient des graines de brocoli et des graines de moutarde blanche.

# **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

## I.1. Les aliments fonctionnels

### I.1.1. Historique :

Le concept de fonctionnalité des aliments est un concept intéressant qui a évolué au cours du temps, on distingue trois périodes : 1) la période du ‘Quantifying Nutritionism’ (≈ 1850-1950) où les scientifiques étaient préoccupés par la découverte et la quantification des nutriments dans les aliments, ainsi que les besoins nutritionnels de l’organisme, pour lutter contre les déficiences nutritionnelles ; 2) la période du ‘Good-and-Bad Nutritionism’ (≈1960) où l’objectif principal était de cibler les nutriments à réduire ou à éviter, et ceux à privilégier, afin de lutter contre le développement des maladies chroniques ; et 3) la période du ‘Functional Nutritionism’ (du milieu des années 90 à nos jours) où les aliments sont considérés comme fonctionnels et donc capables d’optimiser notre santé ou de rectifier certains déséquilibres (fardat, 2017)

Le concept des “produits fonctionnels” est né au Japon dans les années 1980. Ce sont des aliments qui ont été développés spécifiquement pour promouvoir la santé ou réduire les risques de maladies. Ils sont généralement considérés comme étant des aliments qui doivent être consommés dans le cadre d’une alimentation équilibrée, tout en apportant des molécules bioactives ayant un bénéfice sur la santé (Salmerón, 2017; Serafini et al., 2012)

Les pays européens ont acquis le concept d'aliment fonctionnel plus de 10 ans plus tard, lorsque le Parlement européen et le Conseil ont introduit le règlement sur les allégations nutritionnelles et de santé (Reg. (EU) n. 1924/2006). L'intérêt de la recherche des aliments fonctionnels n'a connu une forte augmentation qu'au 21e siècle, et cette attention croissante à l'échelle mondiale a considérablement influencé leurs marchés, dont la taille était estimée à 162 milliards USD en 2018 et devrait atteindre 280 milliards USD d'ici 2025, avec un taux de croissance annuel d'environ 8 % (Alongi et Anese, 2021)

### **I.1.2.Définition :**

Les aliments fonctionnels ont également été définis comme étant des produits qui ont été modifiés ou enrichis à l'aide de substances naturelles qui ont des effets préventifs ou avantageux pour la santé. Cependant, ils doivent pouvoir être consommés dans des quantités compatibles avec une alimentation habituelle équilibrée et diversifiée **(Butnariu et Sarac, 2019 ; Díaz et al., 2020)**.

En particulier, ils ont déclaré que les aliments ne peuvent être définis comme fonctionnels que s'ils appartiennent aux catégories suivantes : **(Alongi et Anese, 2021)**

- produits enrichis d'ingrédients ayant une influence positive sur la santé.
- produits exempts de composés antinutritionnels.
- les matières premières améliorées/fortifiées/dépolluées par la modification des pratiques agricoles (c'est-à-dire l'alimentation animale et la sélection végétale) ou les traitements post-récolte (fruits et légumes).
- les nouveaux aliments ayant un effet bénéfique sur la santé.

Il est à noter que le terme « aliments fonctionnels » est connu sur le marché japonais sous le nom de « Foods for Specified Health Utilisation » (FOSHU). **(Siró et al., 2008)**

Parmi les composants fonctionnels, nous retrouvons : probiotiques et fibres solubles, oméga-3 – polyinsaturés, acides gras, linoléiques conjugués, antioxydants végétaux, vitamines et minéraux, certaines protéines, peptides et les acides aminés, ainsi que les phospholipides sont fréquemment mentionnés.

En ce moment, parmi les alimentaires fonctionnels les plus fréquemment utilisés sont des probiotiques, des prébiotiques, des antioxydants végétaux, des vitamines et le calcium. **(Shaikh, 2022)**

### **I.1.3. Objectifs et quelques exemples des aliments fonctionnels**

#### **A. Objectifs des aliments fonctionnels**

L'objectif des aliments fonctionnels est donc de garantir un état de bien-être et de santé en maximalisant les fonctions physiologiques de façon optimale, tout en minimisant le risque de développer une maladie, et cela tout au long de la vie. L'alimentation inclut donc des dimensions à la fois physiologique (y compris les facteurs génétiques), psychologique, socioéconomique, culturelle, environnementale, et aussi de plaisir et de bien-être. La potentielle santé d'un aliment ne peut plus être réduite à sa seule composition nutritionnelle ou densité énergétique, compte tenu des données scientifiques acquises aujourd'hui. Les aliments fonctionnels contribuent à la promotion de conditions de santé optimales et peuvent réduire les risques d'une ou plusieurs maladies non transmissibles, telles que la dyslipidémie, le cancer, le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires (MCV) ([Granato et al., 2020](#))

Les aliments fonctionnels jouent les rôles suivants promouvoir la croissance et le développement des enfants ; optimiser les processus métaboliques et l'activité physiologique des organes ; et diminuer le risque de maladies chroniques se déclarant pendant l'enfance. L'utilisation d'aliments fonctionnels en tant que médicaments est particulièrement pertinente pour le développement intra-utérin et la petite enfance. Pendant la grossesse, l'alimentation peut être considérée comme fonctionnelle en raison de son influence sur le développement prénatal ([Butnariu et Sarac, 2019](#))

Les experts des pays comme l'Europe et les États-Unis. Ont réalisé qu'en plus de pouvoir réduire le coût des soins de santé de la population vieillissante, les aliments fonctionnels pourraient également offrir un potentiel commercial à l'industrie alimentaire. ([Siró et al., 2008](#)).

#### **B. Exemples des aliments fonctionnels les plus célèbres**

- Alimentaire d'oméga-3 : yaourt aux omégas 3 ([Butnariu et Sarac, 2019](#))

- Les aliments fonctionnels peuvent réduire le risque de certaines maladies par exemple la réduction du niveau de cholestérol dans le sang ([Baumgartner et al., 2020](#) ; [Siró et al., 2008](#))
- Pain avec du fer et/ou des vitamines, des minéraux ([Butnariu et Sarac, 2019](#))
- Les aliments fonctionnels peuvent améliorer l'état général de l'organisme (par exemple, les pré et probiotiques) ([Baumgartner et al., 2020](#) ; [Siró et al., 2008](#))
- Les aliments fonctionnels peuvent inclure des aliments utilisés pour améliorer la qualité nutritionnelle d'un aliment par ailleurs pauvre en nutriments (par exemple, le calcium dans le jus d'orange) ou pour résoudre des problèmes de santé publique (par exemple, le sel de table iodé). ([Carović-Stanko et al., 2016](#))
- Le soja enrichi en calcium : pour tenter d'imiter les véritables produits laitiers, il a été proposé d'enrichir les produits à base de soja (lait de soja, tofu) en calcium ([Butnariu et Sarac, 2019](#))

#### I.1.4. Classement des aliments fonctionnels :

**Tableau 01** : Les différentes classes des aliments fonctionnels ([Siró et al., 2008](#))

Type d'aliments fonctionnels	Définition	exemples
<b>Produit naturel</b>	Un aliment contenant naturellement des composés santé	Fruits et légumes
<b>Produit modifié</b>	Un aliment duquel un composant nocif a été retiré, réduit ou remplacé par une autre substance aux effets bénéfiques	Fibres libérant de la graisse les produits de viande ou la crème glacée
<b>Produit fortifié</b>	Un aliment fortifié en nutriments additionnels	Jus de fruits fortifiés en vitamine C, laits additionnés en vitamine D
<b>Produit enrichi</b>	Un aliment dans lequel ont été ajoutés des nutriments ou	Margarines additionnées en esters de stérols, des produits

	des composés qui ne les contient normalement pas	pré- ou probiotiques
<b>Produit amélioré</b>	Un aliment dans lequel la teneur de l'un des composés a été élevée grâce à des conditions particulières d'élevage ou une composition optimisée de la nourriture	Œufs enrichis en omega-3, produits en modifiant l'alimentation des poules pondeuses

## I.2. Les Brassicaceae

### I.2.1. Introduction

La famille des Crucifères où des Brassicacées sont connues depuis longtemps. La famille des Brassicacées une famille très importante; se compose de 13 à 19 tribus (Al-shahbaz, 1985). Elle se place au 6ème rang des familles d'angiospermes (Huang et al., 2015). La présence de glucosinolates, de cellules de myrosine et des vaisseaux avec des trous vesturés sont caractéristiques de la famille (Schweingruber, 2006).

Actuellement, les chercheurs ne sont toutefois pas sûrs de l'âge de cette famille. Certains l'estiment à environ 40 millions d'années (Schranz et Mitchell-Olds, 2006) ; d'autres l'estiment qu'il y a seulement 20 millions d'années de son apparition, et une autre partie supposent qu'elle s'est séparée des autres groupes botaniques apparentés (Wikström et al., 2001).

### I.2.2. Généralités

Les Brassicaceae ou Cruciferae (crucifères) sont des plantes à fleurs dicotylédones appartenant à l'ordre des brassicales. Annuelle, bisannuelles ou vivaces, le plus souvent herbacées, mais parfois arbustives, les Brassicacées sont importantes pour l'homme : elles sont productrices d'huiles, de plantes potagères ou condimentaires, de fourragères, de plantes ornementales, médicinales ou encore en tant qu'adventices des cultures, plantes de laboratoire, OGM... Les Brassicacées sont une famille ancienne, mais évoluée, homogène et diversifiée, adaptée à de nombreux milieux de vie. La famille des Brassicacées est cosmopolite : elle se retrouve à travers le monde entier. (Poveda et al., 2022)

La plupart de ses espèces préfèrent les climats frais, elles se trouvent surtout dans les régions froides principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord, ou leur proportion dans la flore phanérogame diminue lorsqu'on s'éloigne des régions polaires. Les Brassicaceae sont principalement des plantes variables, annuelles, bisannuelles ou vivaces (Berreghioua, 2016)

### **I.2.3. Systématique botanique Les Brassicacées**

Appartiennent aux familles les plus importantes chez les Angiospermes (**Stevens, 2001 ; Huang et al., 2015**)

Reigne : Végétale

Embranchement : Spermatophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classes : Angiospermes

Sous-classes : Dialypétales

Ordres : Brassicales

Famille : Brassicaceae

### **I.2.4. Caractéristique botaniques Les Brassicaceae**

Sont des plantes annuelles ou vivaces rarement arbustives et terrestres, l'appareil végétatif se développe la première année et l'appareil reproducteur l'année suivante. Les feuilles sont isolées, presque toujours simples et alternes à stipules réduits et caducs (**Ghennou et Boufodda, 2019**). L'appareil végétatif est riche en essence sulfurée d'où la saveur piquant (**Ghennou et Boufodda, 2019**).

Leurs fleurs, régulières, en grappes, sont hermaphrodites. Le calice comprend 4 sépales, deux d'entre eux peuvent être renflés à la base, ils peuvent alors recevoir le nectar de deux glandes situées près de la base des étamines. La corolle est à 4 pétales non soudés (libres) qui alternent avec les sépales. Il y a 6 étamines (organes mâles de la fleur) 2 petites et 4 grandes (parfois 4 seulement). Le pistil (organe femelle) comporte deux carpelles soudés. Il renferme des ovules fixés sur les placentas pariétaux (Sur les côtés). Le style est simple et se prolonge par le stigmate. La pollinisation est l'œuvre des insectes (le nectar les attire) ou bien il y a auto fécondation.



**Figure 01** : les pièces florales des Brassicacées (Cragg et Newman, 2001).

Le fruit est une silique (fruit sec) allongée ou courte, on l'appelle silicule selon les espèces (Ghennou et Boufodda, 2019). L'ovaire est supère, sessile ou porté par un pied (gynophore) constitué par 2 carpelles à une loge. En certains cas, l'ovaire se rétrécit entre les ovules ou se divise transversalement en 2 ou plusieurs articles par développement intérieur des parois. Les ovules sont campylotropes. Le style est court ou très court. Le stigmate est entier, bilobé ou émarginé. Les fruits secs sont de constitutions variées (Ghennou et Boufodda, 2019)

### **I.2.5. Utilisation des Brassicaceae dans l'alimentation :**

Du point de vue taxonomique, les Crucifères appartiennent à la famille des Brassicaceae, dans l'ordre des Brassicales (ou Capparales). Cette famille est composée de plantes très communes dans l'alimentation comme le chou, le radis, la roquette, le brocoli, le navet, le chou-fleur, le cresson, le chou-rave et la moutarde. L'ordre des Brassicales rassemble en tout 16 famille (Montaut et al., 2012).

Parmi les Brassicaceae utilisées dans l'alimentation humaine, nous trouvons les graines de moutarde brune (*Brassica juncea* [L.] Czern.) Qui servent à préparer la pâte de moutarde. La racine de wasabi (*Wasabia japonica* [Miq.] Matsum.) Et celle du raifort (*Armoracia rusticana* G. Gaertn., B. Mey. & Scherb.) peuvent elles aussi être transformées en pâte condimentaire. C'est en raison de leur goût très piquant que ces trois plantes sont utilisées en assaisonnement. Une huile riche en acides oléique et lino-léique est extraite des graines de colza (*Brassica napus* L. var. *napus* L.) et est largement utilisée

dans l'alimentation humaine. Transformée par méthanolyse, l'huile de colza est source de production de biodiesel — en France : Diester. Ce mélange d'esters gras est utilisé comme adjuvant du gazole pour limiter la pollution et diminuer la consommation de produits pétroliers. Une fois que l'huile a été extraite du colza, on obtient un résidu végétal appelé « tourteau », utilisé largement en alimentation animale. Enfin, depuis quelques années, des thés contenant de l'extrait de brocoli (*Brassica oleracea L. var. italica Plenck*) sont commercialisés aux États-Unis. Par ailleurs, les germes de brocoli sont également consommés (**Montaut et al., 2012**)

## **I.2.6.Le brocoli (*Brassica oleracea var. italica*)**

### **I.2.6.1.Généralités sur brocoli**

Le brocoli (*Brassica oleracea var. italica*) est un membre de la famille des Brassicaceae, et l'un des aliments les plus importants, cultivé dans le monde entier (Martins et al., 2022). Le brocoli est une excellente source de composés phytochimiques bénéfiques pour la santé, il est principalement connu pour sa large gamme de composés bioactifs, et très riche en antioxydants nutritionnels et non nutritionnels, notamment la vitamine C, la vitamine E, le calcium et les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, les caroténoïdes et les glucosinolates (Bhandari et Kwak, 2014). Sa valeur nutritionnelle et la présence de ces composés bioactifs contribuant à la grande popularité de ce légume (Martins et al., 2018)

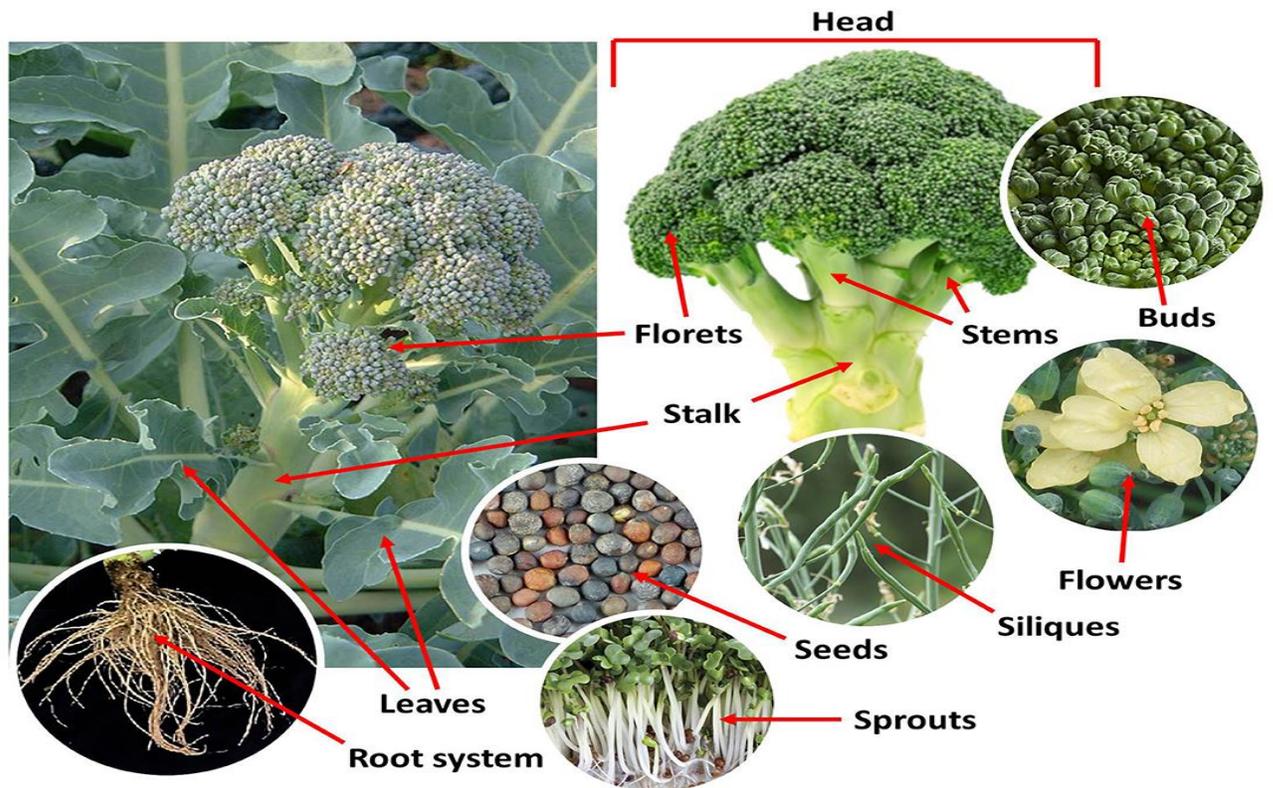
Les sous-produits du brocoli (*Brassica oleracea var. italica*) comme la graine, sont très riches en ingrédients bioactifs bénéfiques pour la santé ; principalement la glucoraphanine, connue pour son activité anticancéreuse (Thomas et al., 2018)

### **I.2.6.2.Caractéristique botaniques**

Le brocoli est une plante herbacée annuelle, de saison fraîche, dont les températures optimales de croissance se situent entre 13 et 20°C.

Il mesure de 60 à 90 cm de haut et forme une tige verte épaisse, dressée et ramifiée, avec des feuilles basales en rosette, oblongues et coriaces, de couleur gris-bleu à vert. À l'extrémité de l'axe central et des branches (tiges), le brocoli présente des grappes vertes denses et comestibles de boutons floraux (fleurons) qui, s'ils ne sont pas récoltés, s'épanouissent en fleurs jaunes à quatre pétales et produisent des fruits en forme de silique. Les fleurons et les tiges supérieures forment l'inflorescence (tête) du brocoli, qui constitue l'organe communément consommé (figure 02).

Le mot brocoli est dérivé du mot latin "brachium" (brocco en italien moderne), qui signifie branche et fait référence aux fréquentes pousses qui composent la tête (Ilahy et al., 2020).



**Figure 02:** Anatomie du brocoli (*Brassica oleracea* L., var. *Italica*) (Ilahy et al., 2020).

### 12.6.3. Le brocoli, source alimentaire de composés bioactifs

#### A. Minéraux

Le brocoli est une bonne source de certains minéraux, tels que le calcium, le zinc et le fer (Ilahy et al., 2020).

#### B. Vitamines

Le brocoli est une source de vitamines B, C, E, K. Les feuilles de brocoli semblaient accumuler plus de vitamine C (2,92 mg d'acide ascorbique/g poids sec) que ses fleurons (2,54 mg d'acide ascorbique/g poids sec) et ses graines (2,69 mg d'acide ascorbique/g poids sec) (Ilahy et al., 2020).

#### C. Glucosinolates

Le brocoli présente la teneur totale en glucosinolates la plus élevée dans les graines (110,76  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ) et les pousses (162,19  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ) par rapport à d'autres espèces de Brassica. (Gao et al., 2021)

## D. Protéines

La tyrosine était l'acide aminé le plus abondant dans les fleurons de brocoli (70,0 mg/ g poids frais), les tiges (32,0 mg/g poids frais) et les feuilles (35,0 mg/g poids frais) (Campas-Baypoli et al., 2009).

### I.2.6.4. Classification botanique

Tableau 02 : la classification du brocoli (Ilahy et al., 2020).

Règne	Plantae Haeckel
Sous-Règne	Viridae Plantae
Classe	Equisetopsida C
Clade	Spermatophyta
Sous-Classe	Magnoliidae
Ordre	Brassicales
famille	Brassicaceae
genre	Brassica L
Espèce	Brassica Oleracea L.
Sous-Espèce	Brassica Oleracea subsp. Botrytis (L.)
Variété	Brassica Oleracea Var. Italica Plenck

## **I.2.7.Moutarde blanche (*Sinapis alba* L.)**

### **I.2.7.1.Généralités**

*Sinapis alba* L. (moutarde blanche ou jaune, également connue sous le nom de Brassica hirta) est une plante annuelle de la famille des Brassicaceae originaire de la région méditerranéenne. (Mitrović et al., 2020). C'est une plante oléagineuse annuelle d'une grande valeur économique en raison de sa tolérance à la sécheresse et de sa résistance aux maladies des plantes (Arif et al., 2012)

On la trouve dans le monde entier en tant qu'espèce végétale cultivée et en tant que mauvaise herbe. C'est une plante d'hiver et de printemps qui peut être cultivée en cycles courts, généralement en rotation avec d'autres cultures céréalières, avec la possibilité d'une deuxième culture En Europe, la moutarde blanche est l'espèce de moutarde la plus utilisée et en Amérique du Nord, c'est la seule espèce en production commerciale pour l'industrie alimentaire et les condiments. (Mitrović et al., 2020)

### **I.2.7.2.Description de la moutarde blanche**

La moutarde blanche est une plante annuelle à feuilles larges, à fleurs jaunes, de la famille des Brassicaceae, qui pousse jusqu'à 100 cm de haut, avec une saison de croissance relativement courte d'environ 85-95 jours (**Figure 03**)

Les fleurs, qui s'épanouissent de mai à juin, sont jaunes et comportent quatre pétales. La moutarde tolère la sécheresse et la chaleur, elle est donc bien adaptée à la production dans les zones de sol plus sec. Elle est généralement cultivée en rotation avec des cultures céréalières pour ses jeunes feuilles, ses graines ou son engrais vert. L'utilisation de la moutarde blanche dans les rotations de cultures est souhaitable en raison de son effet sur les conditions de résidus dans le champ, les conditions d'humidité du sol et les problèmes de maladies, de mauvaises herbes et d'insectes. Idéalement, la moutarde blanche est cultivée après une culture céréalière. La moutarde est généralement cultivée en jachère ou en chaume dans les régions sèches et humides, respectivement

Les jeunes feuilles de moutarde ont une saveur piquante et sont utilisées dans les salades. Les graines sont jaunes à brun jaunâtre et ne dégagent une odeur que lorsqu'elles sont mélangées à un liquide (Mitrović et al., 2020)



**Figure03** : Moutarde blanche (*Sinapis alba* L.) : (a) champ expérimental, (b) feuilles, (c) fleurs, et (d) graines. (Mitrović et al., 2020)

### 1.2.7.3. Production de graines de moutarde blanche

La moutarde blanche est globalement cultivée sur 60 000 à 80 000 ha par an, produisant jusqu'à 685 000 t de graines. Le Népal et le Canada sont les premiers producteurs mondiaux de graines de moutarde, avec 159 710 t et 121 600 t, respectivement, en 2017; ces chiffres représentent environ 27,6 % et 21,0 %, respectivement, de l'offre mondiale. Par conséquent, le rendement moyen mondial de la production de graines de moutarde blanche est de 770-930 kg/ha. En Serbie, le rendement moyen des graines de moutarde est de 1 500-1 800 kg/ha, avec des rendements dépassant souvent 2 000 kg/ha. En comparaison, les rendements moyens du maïs et du colza de 2015 à 2018 étaient respectivement de 4 500 kg/ha et de 2 800 kg/ha. (Mitrović et al., 2020)

#### I.2.7.4. Propriétés

- Comme toutes les Brassicacées, la moutarde blanche contient un glucosinolate, nommé sinalbine (environ 160 µM/g de graines) (Sadowska et al., 2023) . Lors du broyage des graines et de la rupture des compartiments cellulaires qui en résulte, la sinalbine entre en contact avec une enzyme, la myrosinase, et se dégrade en isothiocyanate de p-hydroxybenzoyle. C'est cette dernière molécule, soufrée, qui est responsable de l'arôme de moutarde. (Torrijos et al., 2023)
- La moutarde blanche se caractérise par sa haute valeur agronomique, car elle présente des niveaux significatifs de protéines (28-40%), d'huile (24-36%), d'hydrates de carbone (20-25%), de minéraux (4%), d'acides gras oléique (26,5%) et linoléique (9,8%), et d'acide érucique (34%).(Haq et al., 2023)

#### I.2.7.5. Utilisation

Dans la médecine traditionnelle, la graine de moutarde blanche est utilisée pour ses activités anti tumorales, antivirales et analgésiques. Elle a également des activités expectorantes, stimulantes et antimicrobiennes qui sont utiles pour les affections digestives et respiratoires (Butenko et al., 2022). La moutarde blanche a de nombreuses applications culturelles, notamment les oléagineux comestibles les salades à croissance rapide, les condiments, le fourrage et l'engrais vert. La plante peut extraire les métaux lourds toxiques du sol (Mitrović et al., 2020)

## I.3. Les glucosinolates

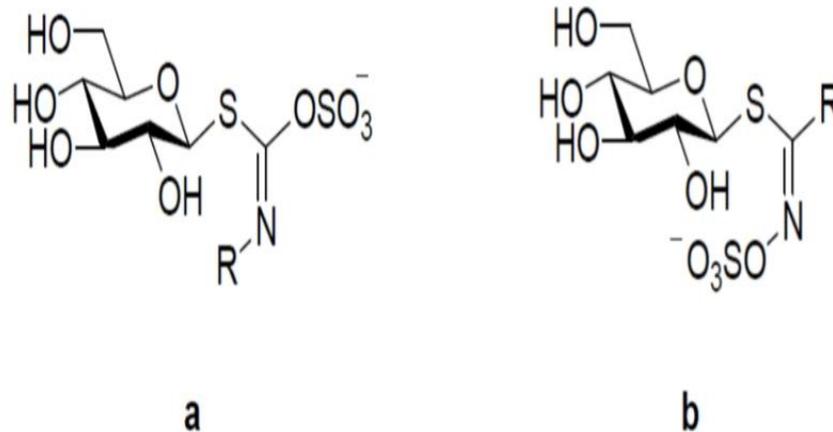
### I.3.1. Généralité sur glucosinolates

Les glucosinolates (GSL),  $\beta$ -thioglucoside-N-hydroxysulfates (ou, 1-thio- $\beta$ -Dglucopyranosidiques), sont des métabolites végétaux secondaires contenant du soufre, soluble dans l'eau, et présents presque exclusivement dans les plantes crucifères et que l'on trouve couramment en hautes concentrations dans de nombreuses espèces de la famille des Brassicaceae (Fahey et al., 2001). Par leur importante présence dans de nombreux légumes, les glucosinolates font partis de la vie humaine depuis des milliers d'années (Ouassou et al., 2019). Les premières observations relatives à leur existence remontent au XIXème siècle où les GSL sont identifiés comme étant responsables de la saveur piquante des graines de moutarde (Fahey et al., 2001)

Dans toutes les plantes contenant des glucosinolates, il coexiste aussi une enzyme spécifique, la myrosinase (thioglucoside glucohydrolase EC.3.2.1.147), qui est la seule glucosidase capable d'hydrolyser ces composés thiosaccharidiques. Cette relation enzyme-substrat unique est partie intégrante des dispositifs de défense de ces plantes contre diverses agressions, par production de composés bioactifs (fongicides, bactéricides et, insecticides). (Vig et al., 2009)

### I.3.2. Structure des glucosinolates

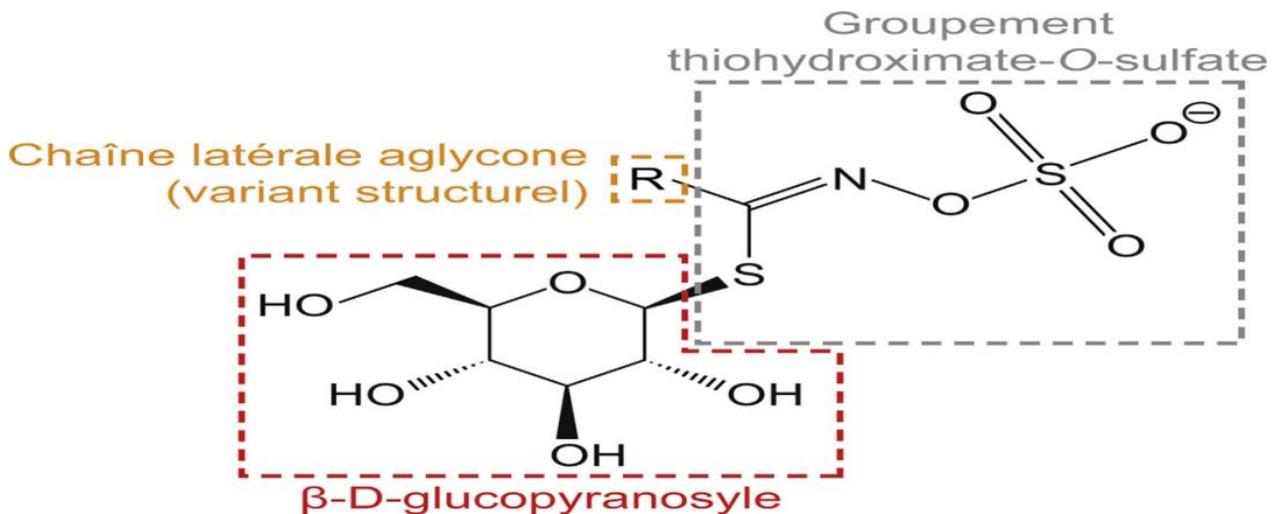
La structure générale des glucosinolates a été proposée pour la première fois encore au XIX siècle par Gadamer qui a supposé, que la chaîne latérale R est liée à l'atome d'azote (a, figure 04). Malgré de certaines difficultés, cette structure a été acceptée comme exacte jusqu'en 1956, date à laquelle, Ettliger a trouvé des erreurs dans la structure de Gadamer et proposé la structure correcte (b, figure 04). (Cerniauskaite, 2010)



**Figure 04** : Structure Glucosinolates **a** : la structure d'erreur, **b** : la structure correcte  
(Cerniauskaite, 2010)

La constitution moléculaire des glucosinolates combine trois entités structurales remarquables (Possenti *et al.*, 2016)

- Une partie glycosidique : unité 1-thio-D-glucopyranosyle, toujours de la configuration  $\beta$
- Une partie anionique : fonction anomérique thiohydroximate O-sulfatée, généralement associée à un cation de potassium pour les glucosinolates obtenus par extraction de source végétale
- Une partie relativement hydrophobe : une chaîne latérale R



**Figure 05** : Structure générale de glucosinolates (Ouassou et al, 2019)

### I.3.3. Aliments contenant des glucosinolates

Les glucosinolates regroupent plus de 130 molécules issues du métabolisme secondaire des plantes de l'ordre des Brassicales (Chen et Andreasson, 2001). Mais seul un nombre restreint se retrouve essentiellement dans les plantes issues des Brassicacées et dont les organes sont couramment consommés *Brassica oleracea* (choux divers dont chou-fleur et brocoli), *Raphanus sativum* (radis), *Brassica rapa* (navet) ou *Brassica napus* (colza). (Fahey et al., 2001). Les glucosinolates se trouvent également chez les plantes des familles des Cleomaceae, des Capparaceae et des Resedaceae (Ouassou et al., 2019)

Les niveaux des glucosinolates varient à différents stades de développement de la plante et sont affectés par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques tels que les conditions de croissance, les infections fongiques ou bactériennes, les blessures causés par les insectes ou par d'autres formes de stress biotiques. D'autres facteurs indirects tels que le stress hydrique (sécheresse ou inondations) et thermique peuvent avoir également une influence sur la teneur en glucosinolates dans la plante (Brown et al., 2003). Les niveaux élevés de glucosinolates se trouvent dans les jeunes feuilles, les pousses, les siliques et dans les graines mûres (Ouassou et al., 2019). Les glucosinolates sont hydrophiles, stables et stockés dans des vacuoles de la plupart des tissus végétaux (Brown et al., 2003)

### I.3.4. Les types des glucosinolates

Ce dernier constitue le principal variant structural des glucosinolates, qui sont divisés en trois catégories selon la nature des acides aminés précurseurs du groupement R : (Ouassou et al., 2019)

- Les glucosinolates aliphatiques, dérivés en grande partie de la méthionine (Met), mais aussi de l'alanine (Ala), l'isoleucine (Ile), la leucine (Leu) et la valine (Val),
- Les glucosinolates aromatiques benzéniques dérivés de la phénylalanine (Phe) et de la tyrosine (Tyr)
- Les glucosinolates indoliques dérivés du tryptophane (Trp)

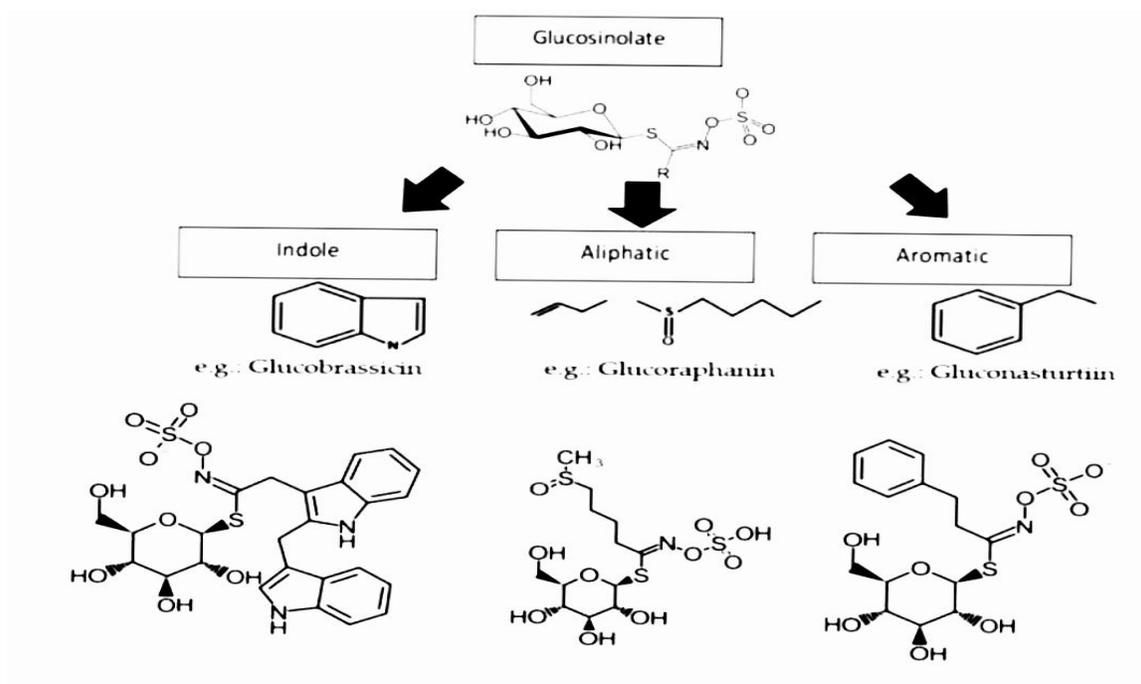


Figure 06 : Trois grandes classes des glucosinolates (kamal et al., 2022)

Tableau 03 : Exemples de glucosinolates et des plantes dans lesquelles on les trouvent (Montaut et al., 2012)

Glucosinoltes	Nom chimique	Plante
<b>Aliphatique</b>		
<b>Sinigrine</b>	Allyl	Moutarde
<b>Glucoérucine</b>	4-méthylsulfanylbuty	Roquette
<b>Glucoraphanine</b>	4-méthylsulfinylbutyl	Germes de brocoli
<b>Glucoraphasatine</b>	4-méthylsulfanyl-3-	Germes de daikon
<b>Gluconapine</b>	butényl 3-butényl	Chou de Bruxelles
<b>Aromatique</b>		
<b>Gluconasturtiine</b>	2-phényléthy	Cresson, brocoli, navet
<b>Glucotropaeoline</b>	Benzyl	Cresson

<b>Sinalbin</b>	4-Hydroxybenzyl	Moutarde
<b>Indolique</b>		
<b>Glucobrassicine</b>	3-indolylméthyl	Chou de Bruxelles Paste

Cela se fait en trois étapes ([Ouassou et al., 2019](#)) :

- **Elongation de la chaîne latérale**

Cette première étape consiste en cinq modifications enzymatiques, partant du cytosol, désamination par une aminotransférase (branched-chain aminotransférase [BCAT]), et conduisant à la formation d'acides  $\alpha$ -cétoacide, qui sont ensuite pénétrés par les acides  $\alpha$ -cétoacide le transporteur des chloroplastes (transporteur des acides biliaires [BAT]) entre dans trois cycles successifs de transformation : condensation avec l'acétyl-CoA par la méthylthioalkylmalate synthase (MAM), isomérisation par l'isopropylmalate Enzyme (IPMI) isomérisation suivie de la décarboxylation oxydative déshydrogénase (IPMDH) à l'aide de fils de malate d'isopropyle à la synthèse d'acides  $\alpha$ -cétoacide avec un seul groupe méthylène. Ce homocétoacide peut alors être à nouveau transféré dans le cytosol par la même protéine de transport et subir une transamination par le biais de BCAT avant d'entrer dans la seconde étape de synthèse.

- **Biosynthèse de la structure de base de glucosinolate**

La deuxième étape de la biosynthèse des GSL se déroule de la même manière que soit l'acide aminé précurseur et se subdivise selon sept modifications enzymatiques consécutives qui conduisent à la formation de la structure de base des glucosinolates. Les deux premières transformations se produisent au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique et impliquent des enzymes du cytochrome P450 codées par deux familles distinctes de gènes, CYP79 et CYP83. Deux N-hydroxylations du précurseur, suivi de réactions de décarboxylation et de déshydratation, sont catalysées par des enzymes de la

famille CYP79 conduisant à la formation d'aldoximes. Les aldoximes sont ensuite transformées en composés actifs (oxydes de nitrile ou acides nitriques) par des enzymes de la famille des CYP83. Une modification supplémentaire de ces composés actifs se produit dans le cytosol, où ils se lient d'abord au glutathion, un donneur de soufre tripeptide qui contient cystéine. Le produit de cette réaction peut être catalysé par la glutathion S-transférase (GST) puis clivé par la G-glutamate peptidase (GGP) pour former le S-alkyl-thiohydroxamate, qui est ensuite clivé par l'action de la lyase convertie en thiohydroxamate (C-S lyase). L'intégration du glucose est la dernière partie des étapes de biosynthèse de la structure de base des glucosinolates. Elle est catalysée par les glucosyltransférases (UGT) et conduit à la formation de desthioglucosinolates, qui sont finalement sulfatés par les thiotransférases (SOT) pour former la structure de base des glucosinolates.

- **Modification de la chaîne latérale**

La troisième et dernière étape de la biosynthèse de ces composés peut alors commencer, comprenant des modifications secondaires importantes de la chaîne latérale R et ces différents types de transformations sont à l'origine de l'essentiel de la diversité structurale observée. Bien que les chaînes latérales des glucosinolates aliphatiques puissent subir diverses modifications secondaires (oxydation, hydroxylation, alcénylation, benzylation), la conversion des glucosinolates d'indole est plus quantitativement affectée. Limitée (hydroxylation et méthylation), une seule étape dans la réaction d'hydroxylation du phénylglucosinolate a été observé durant cette période.

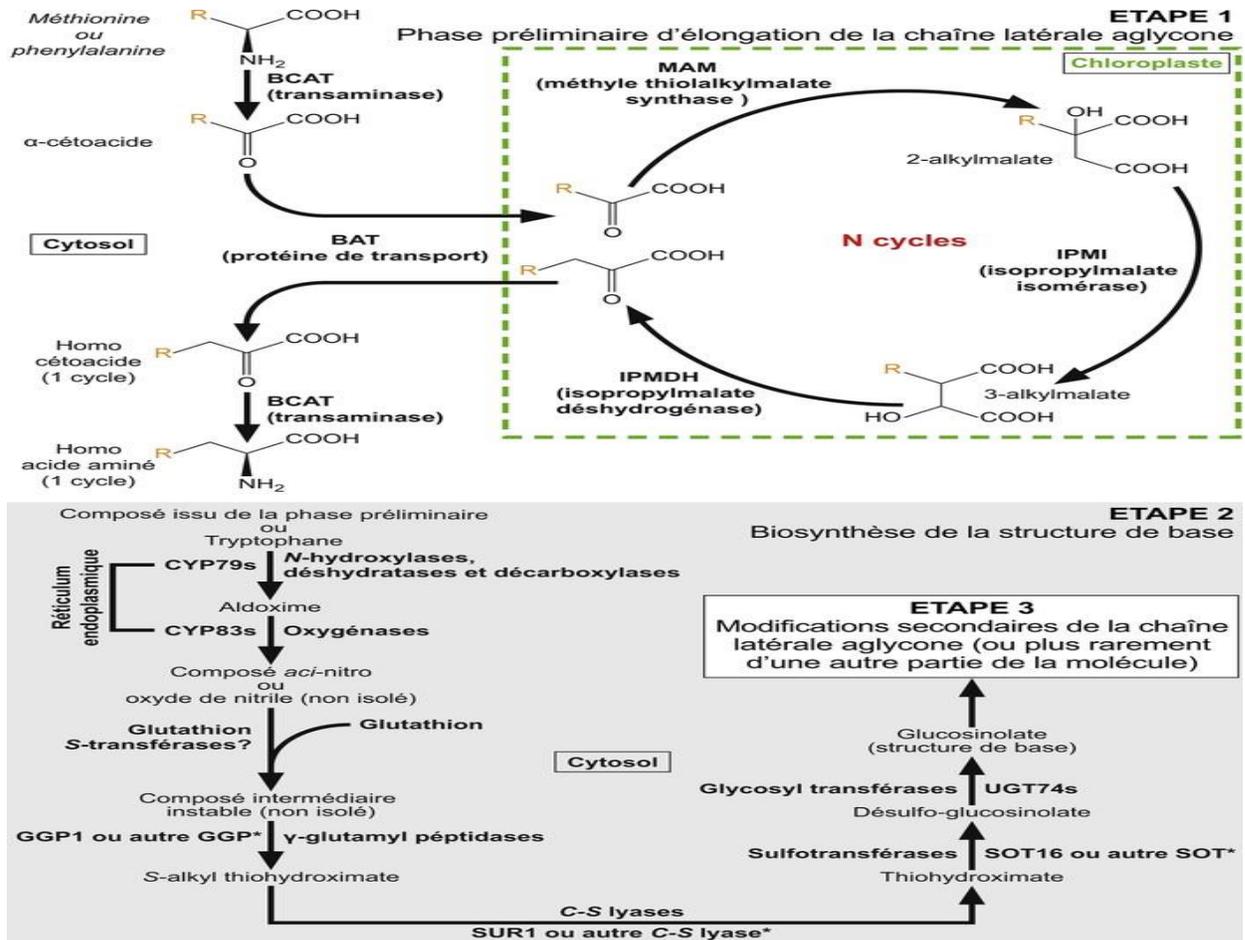


Figure 07: La biosynthèse des glucosinolates (Ouassou et al., 2019)

### I.3.5. Les effets des glucosinolates

#### A. Effets anti tumorale

Certains produits de dégradation tels que les indoles et les isothiocyanates sont reconnus pour leurs propriétés anticancérigènes à faible concentration (Conoway et al., 2002). Des études épidémiologiques estiment en outre qu'une consommation abondante de fruits et de légumes crucifères permettrait la réduction drastique du risque d'apparition de cancer (Higdon et al., 2007). Les légumes crucifères sont uniques en ce qu'ils sont de riches sources de composés contenant du soufre connus sous le nom de glucosinolates (Melim et al., 2022). Le potentiel de la sinigrine comme agent préventif de la croissance

de cellules cancérigènes a été mis en avant notamment d'après les travaux de **Bhattacharya (2010)**

Le sulforaphane (SF) exerce une forte activité contre plusieurs types de cancer, notamment les cancers de la prostate, du poumon, du sein, de l'estomac, de la leucémie, du côlon et de l'estomac (**Lin et al., 2022**)

### **B. Effets indésirables**

Les glucosinolates (Gls) contenant du soufre, Une teneur élevée en soufre peut être associée à des carences en oligo-éléments et à la polioencéphalomalacie. Par conséquent, bien que les Brassicaceae constituent une part importante du régime alimentaire, leur surconsommation n'est pas recommandée. Le bétail nourri avec des rations riches en glucosinolates présente des effets négatifs, notamment une réduction de la consommation alimentaire et de la croissance, une irritation gastro-intestinale, un goitre, une anémie et des lésions hépatiques et rénales (**Bischoff, 2021**)

La grosse consommation des végétaux de la famille crucifères, contenant des peut induire une hypertrophie de la thyroïde. Ce sont les 1,3-oxazolidine-2-thiones, issues de la cyclisation spontanée des isothiocyanates, qui sont responsables de ce phénomène. L'hypertrophie constitue en réalité une réponse due à un blocage de la fonction thyroïdienne. Une telle réponse permet de compenser une diminution de la quantité d'hormones dont la production peut être perturbée de deux manières: (**Heaney et Fenwick, 1995 ; Tripathi et Mishra, 2007**).

- L'iode nécessaire à la synthèse des précurseurs se trouve en compétition avec des ions thiocyanates. Dans ce cas, une supplémentation en iode fait disparaître ce phénomène.
- La formation des précurseurs des hormones est inhibée par des 1,3-oxazolidine-2-thiones ou des isothiocyanates issus de l'hydrolyse des glucosinolates. La solution thérapeutique adaptée à ce cas de figure est l'apport d'hormones thyroïdiennes

### **C. Effet sur la plante**

Les GSL jouent un rôle important dans la protection de la plante. En effet, les plantes utilisent des substances dérivées des GSL comme mécanisme de défense contre les agressions externes (organismes pathogènes, ravages des insectes et herbivores), agissant comme des pesticides naturels et de formidables agents de biofumigation. Lorsque les tissus végétaux sont mécaniquement endommagés, les GLS pourraient être hydrolysés par l'enzyme myrosinase en une variété de produits de dégradation, y compris les isothiocyanates (ITC), les Thiocyanates, les nitriles, les épithionitriles et les oxazolidines (Guo et al., 2016)

Les GLS sont connus par leur rôle de réserve en azote et en soufre pour la plante, notamment pour la synthèse d'acides aminés en cas de nutrition carencée. Les GLS sont normalement hydrophiles, stables et stockés dans des vacuoles de la plupart des tissus végétaux (Ouassou et al., 2019) . Pour la majorité des plantes du genre Brassica, la majorité des GSL se retrouve dans les fleurs et les graines (Gupta et al., 2012; Bhandari et al., 2015) .

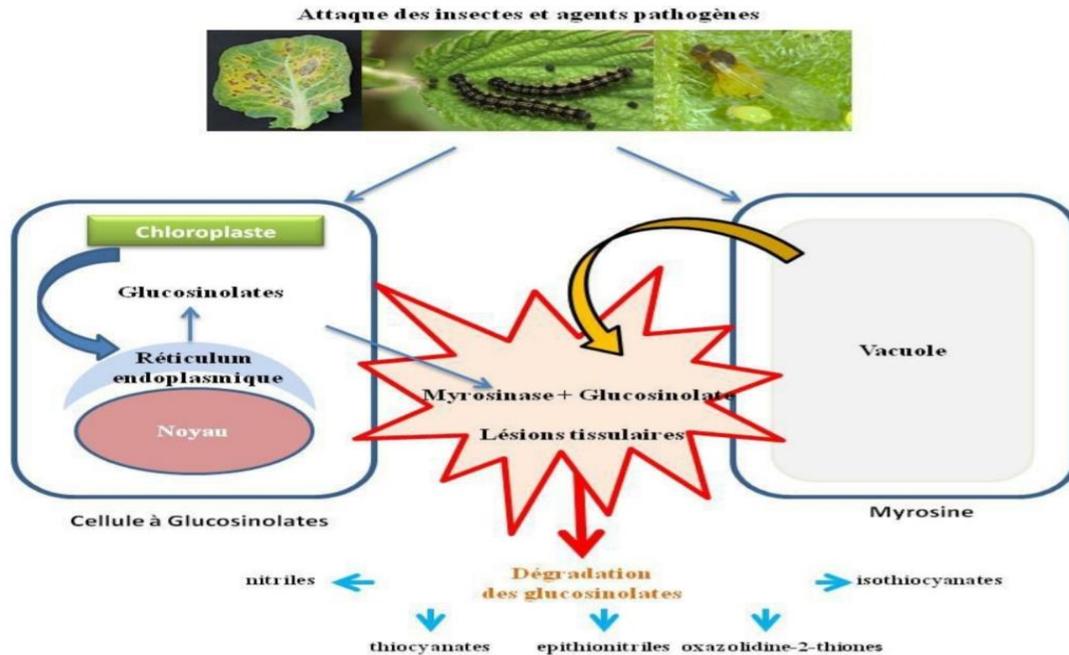
### I.3.6. Couple myrosinase-glucosinolates

#### A. Définition de la myrosine

La myrosinase (thioglucosidase, EC 3.2.1.147) a été découverte pour la première fois dans les graines de moutarde, et plus tard dans toutes les plantes contenant du GSL (Bones et Rossiter, 1996). une enzyme endogène qui coexiste avec les GSL dans la plante mais respectivement stockés dans des compartiments cellulaires différents (Fahey et al., 2001; Bones et al., 2006)

A l'attaque d'un herbivore ou d'un agent pathogène, les glucosinolates entrent en contact avec les myrosinases et sont hydrolysés en composés bioactifs à large spectre d'activité antifongique, antibactérienne et insecticide. Les plantes utilisent le système glucosinolates-myrosinase comme système de défense contre des insectes herbivores et des agents pathogènes. Dans les tissus intacts, les glucosinolates et les myrosinases sont séparés spatialement, lors d'une agression de tissu végétal, les glucosinolates stockés dans des vacuoles sont libérés et entrent en contact avec les myrosinases en présence de

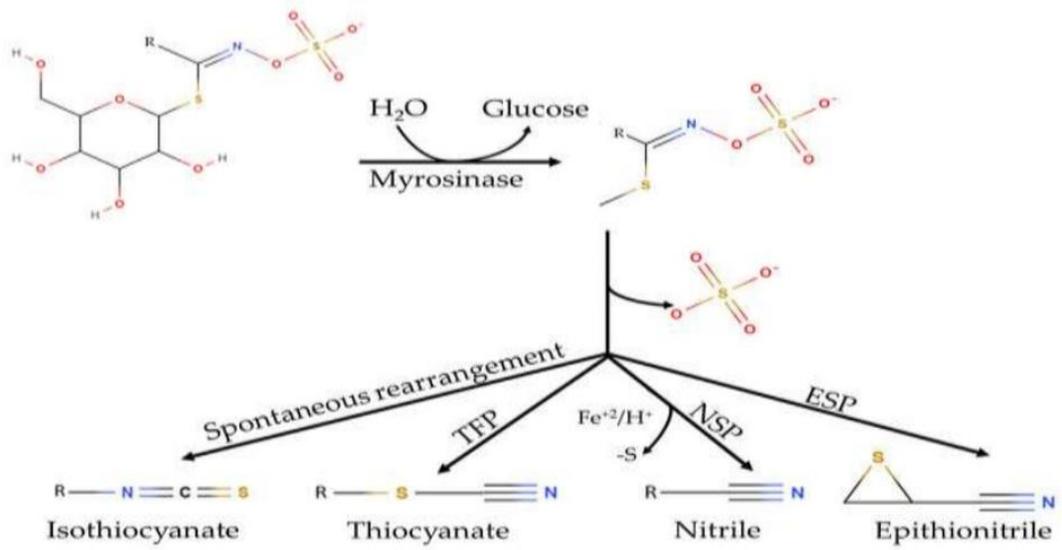
l'eau. Les glucosinolates sont hydrolysés en produits toxiques pour les agresseurs tels que les isothiocyanates, les nitriles, les epithionitriles, les thiocyanates et les oxazolidine-2-thiones (Ouassou *et al.*, 2019)



**Figure 08:** Schéma classique du système glucosinolate-myrosinase. (Ouassou *et al.*, 2019)

## B. Hydrolyse des glucosinolates

La myrosinase catalyse l'hydrolyse de la liaison thioglucosidique des GLs, pour libérer un D-glucose et un intermédiaire instable, le thiohydroximate-O-sulfate. Cet aglycone est ensuite spontanément réarrangé pour former différents produits (isothiocyanates, thiocyanates, nitriles et soufre élémentaire) dérivés présentant potentiellement différentes activités biologiques en fonction de la structure de la chaîne latérale du glucosinolate impliqué, des conditions du milieu ainsi que de la présence de cofacteurs ou de protéines spécifiques (Winde *et Wittstock*, 2011 ; Ouassou *et al.*, 2019). Alors que les isothiocyanates constituent le groupe de produits d'hydrolyse le plus courant et que leur toxicité a été démontrée pour un large spectre d'organismes (Wittstock *et al.*, 2010)



**Figure 09** : hydrolyse des glucosinolates (Roman et al., 2020)

## I.4. Thé vert

### I.4.1. Introduction

Le thé vert (*Camellia sinensis*) est une sorte de thé non fermenté qui conserve dans une large mesure les substances naturelles contenues dans les feuilles fraîches (Zhao et al., 2022). Il est une ancienne boisson et la deuxième boisson la plus populaire au monde après l'eau (Diaz et al., 2010). Le thé vert fait partie de ces plantes de plus en plus consommées pour leur effet bénéfique et préventif pour la santé (Yarnell, 2005). Ses propriétés supposées amincissantes, antioxydantes (polyphénols), stimulantes (caféine) et diurétiques en font une espèce appréciée (Sharangi, 2009).

Il est utilisé dans les systèmes de médecine traditionnelle mais aussi prisé au Moyen Orient et en Afrique du nord, a conquis plus récemment le marché Européen (Yashin et al., 2011). Il est considéré comme adapté aux patients souffrant d'hypertension, d'hyperlipidémie, de maladie coronarienne, d'artériosclérose et de diabète. (Zhao et al., 2022)

### I.4.2. Classification systématique

**Tableau 04:** Classification botanique de *Camellia sinensis* (Namita et al., 2012)

<b>Règne</b>	Plantea
<b>Ordre</b>	Ericales
<b>Famille</b>	Theaceae
<b>Genre</b>	Camellia
<b>Espèce</b>	Camellia sinensis

### I.4.3. Description botanique

Le *Camellia sinensis* chinois est originaire de Chine continentale, d'Asie du Sud et du Sud-Est, mais il est aujourd'hui cultivé dans le monde entier dans les régions tropicales et subtropicales.

Les feuilles mesurent 4 à 15 cm de long et 2 à 5 cm de large. Les jeunes feuilles vert claires sont de préférence récoltées pour la production de thé ; Elles ont de courts poils blancs sur le dessous. Les feuilles plus anciennes sont d'un vert plus foncé. Les différents âges des feuilles produisent des qualités de thé différentes, car leurs compositions chimiques sont différentes. En général, la pointe (bourgeon) et les deux ou trois premières feuilles sont récoltées pour être transformées. Cette cueillette manuelle est répétée toutes les une à deux semaines.

Le fruit est une capsule à déhiscence loculicide ne contenant que peu de graines. (Namita et al., 2012)

(A)



(B)



**Figure 10:** *Camellia sinensis* : (A) fruit, (B) feuilles (Namita et al., 2012)

#### I.4.4. Composition chimique des feuilles de thé vert

**Tableau 05:** Composition chimique des feuilles de thé vert (Cabrera et al., 2006)

Constituant	Pourcentage (% de feuilles séchées)
protéines	15
acides aminés	4
Eléments minéraux	5
Fibres	26
Polyphénols	37
Caféine	3,5
Lipides	7

# Création du produit

## Création du produit

Notre produit est innovant nommé « **Green Wave** »



**Figure 11.** Thé glacé enrichi en glucosinolates extraient des graines de brocoli et de moutarde blanche

En effet, le produit se forge autour de la notion de préserver la santé des consommateurs et fournir un produit répondant aux normes et de leurs besoins nutritifs, les légumes sont aujourd'hui synonymes de santé est cela est devenu une notion que les individus ont intégré.

Le produit en question est une boisson fonctionnelle à base de thé vert enrichis en glucosinolates extraient des graines de brocoli et de la moutarde blanche, la boisson a un goût rafraichissant elle est saine au même temps bonne, elle est disponible en différentes goût

L'objectif de cette réalisation est donc fabriquer une boisson naturelle et saine sans additifs alimentaires et sans conservateurs pour la sécurité de consommateur et qui lui apporte un effet antioxydant et anti inflammatoire sur sa santé, ce produit est destiné

# Création du produit

surtout pour les personnes cancéreuses, et les personnes souffrant d'un déséquilibre au niveau du système immunitaire.

# **Chapitre II : Matériels et méthodes**

## II.1. Objectif de l'expérience

- Notre travail vise l'évolution de l'activité anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait éthanolique des grains de Brocoli (*Brassica Oleracea*) et les graines de moutarde blanche (*Sinapis Alba*).
- Création d'un nouveau produit anticancéreux, antioxydant, anti-inflammatoire à base de thé vert enrichis des glucosinolates extraient des graines de brocoli et de moutarde blanche

## II.2. Lieu de la recherche, période

Les travaux expérimentaux relatifs à cette étude ont été menés entre avril et juin au sein de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Les analyses ont été effectuées précisément au laboratoire de biochimie.

## II.3. Matériel végétal (brocoli et moutarde blanche )

### II.3.1.La germination des graines de brocoli et moutarde blanche

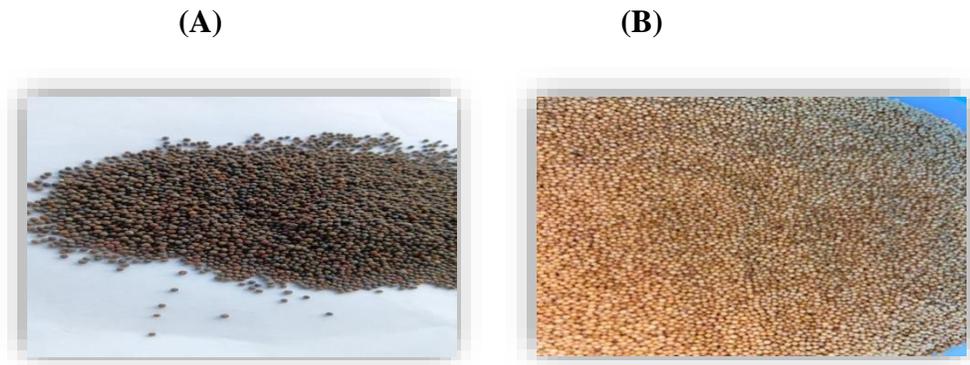
#### II.3.1.1.Matériels utilisés pour la germination des graines

- Les graines de brocoli et moutarde blanche
- L'eau filtrée
- Des boites en verre
- Papier aluminium
- Les boites en verre

#### II.3.1.2.Mode opératoire

##### a) Faire tremper les graines

- Les graines ont été mises dans des boites en verre stérile. Pour stériliser les boites, on les mises au lave-vaisselle ou les laver à l'eau chaude
- On mit deux cuillères de graines dans la boite puis la recouvrit d'eau filtrée légèrement fraîche au toucher sur 5 à 6 cm Brasser légèrement et laisser tremper au minimum 8 heures



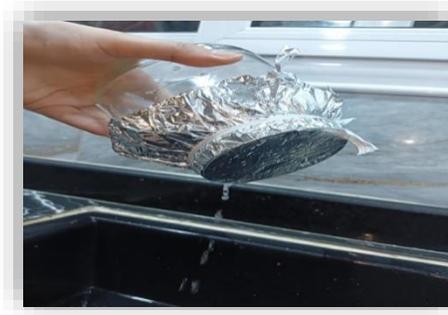
**Figure12** : (A) : les graines de brocoli, (B) : les graines de moutarde blanche  
(photo personnel)

- On a couvert la boîte avec de l'aluminium. On fixe ce dernier avec un élastique puis on introduit des petits trous sur la surface pour l'aération.



**Figure13** : les boîtes couvertes par un aluminium (photo personnel)

- Les graines ont été transférées dans un endroit sombre.
- b) Faire germer les graines**
- Une fois que les graines ont été trempées pendant environ 8 heures, on applique plusieurs rinçages.
  - On refait les rinçages deux fois par jour, matin et soir (chaque 12 heures)



**Figure 14** : le rinçage des graines de brocoli et de moutarde blanche (**photo personnel**)

- Après le rinçage, il faut bien vider toute l'eau et incliner la boîte dans un endroit sombre
- Vérifier que les graines n'obstruent pas les trous du couvercle et que l'air peut circuler
- Après 3 à 4 jours, lorsque les germes présentent des feuilles jaunes, placez-les dans un endroit éclairé, afin de favoriser le développement de la chlorophylle. Les feuilles passeront alors du jaune au vert et les germes s'enrichiront en nutriments.



**Figure 15** : les germes de brocoli et de moutarde blanche après 4 jours de germination. (**Photo personnel**)

- On continue à rincer les graines toutes les 8 heures. À cette étape, les germes risqueront encore de développer des moisissures. Il nous faudra alors continuer à les rincer toutes les 8 heures, jusqu'à qu'ils prennent leur couleur verte. Une fois que les feuilles des pousses sont vert foncé, au bout de deux jours, les germes seront prêts à être utilisés.

## II.4.Préparation de l'extrait de brocoli et de moutarde

Le Tableau ci-dessous représente les différents matériels et les instruments utilisés pour la procédure d'extraction :

**Tableau 06:** Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction

Appareil	Verreries et Autres	Solvant et Soluté
-Balance	-Papier aluminium	-Les germes de brocoli
-une centrifugeuse	-un papier filtre	-Les germes de moutarde
-une plaque agitatrice	-Entonnoir	blanche
	-Spatule	-Eau distillé
		-Éthanol 50%

### II.4.1.Procédé d'extraction

Selon l'étude de ([Bojorquez-Rodriguez et al., 2022](#)), l'utilisation d'une concentration de 50 % d'éthanol a augmenté la concentration de glucosinolates

- Une quantité de 50g des germes de brocoli, et 50 g des germes de moutarde blanche a été broyées dans 250 ml de l'éthanol 50% à l'aide d'un bras mixeur.
- Les deux mélanges ont été macérés dans un récipient en verre fermé et recouverte d'un papier aluminium et maintenue dans un agitateur à mouvement alternatif pendant 24h à température ambiante à l'abri de la lumière.



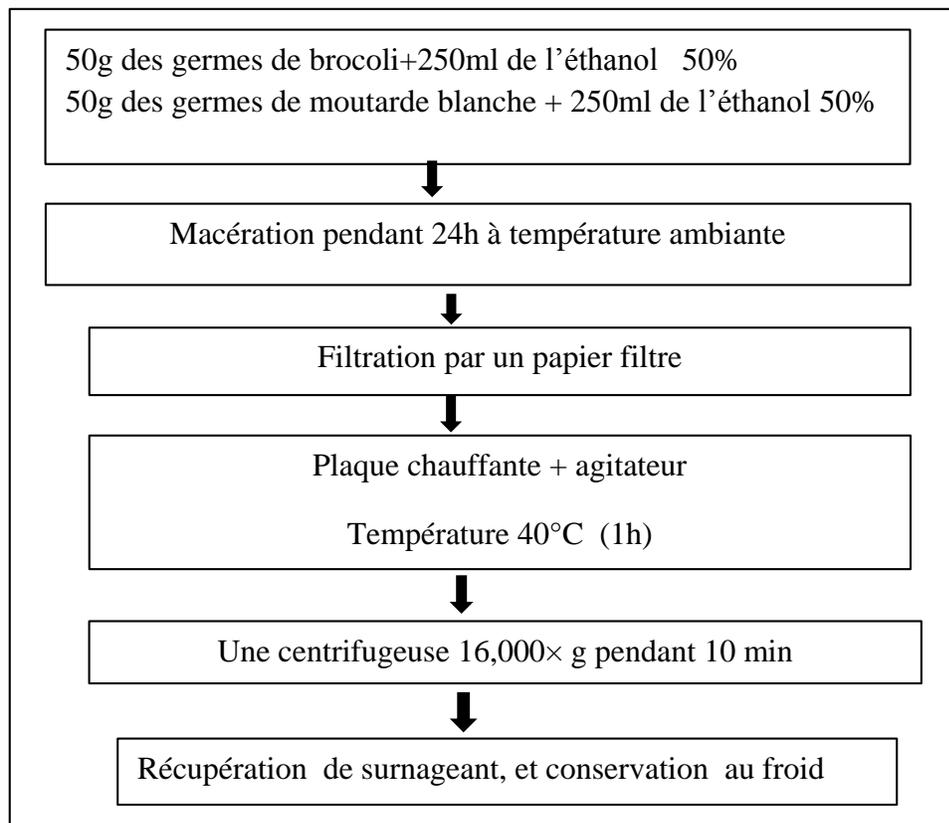
**Figure16:** recouverte les deux mélange par péprier aluminium (photo personnel)

- Après 24h, Les échantillons a été filtré à l'aide d'un papier filtre.



**Figure17** : filtration de mélange (photo personnel)

- les échantillons ont été incubés sur un incubateur agitateur pendant 1 h à 40°C. La macération a été répétée 3 fois avec renouvellement du solvant.
- une centrifugeuse 16,000× g pendant 10 min.
- on a récupéré l'extrait clarifié (surnageant)
- Le surnageant a été conservé à froid pour l'utilisation ultérieure



**Figure18** : Protocole de préparation de l'extrait.

## II.4.2. Calcul du rendement d'extrait

Nous pouvons déterminer le rendement de l'extrait éthanolique des germes en calculant le rapport suivant

$$R\% = (P_1 - P_2) / P_3 \times 100$$

**P<sub>1</sub>** : poids du tube après centrifugation

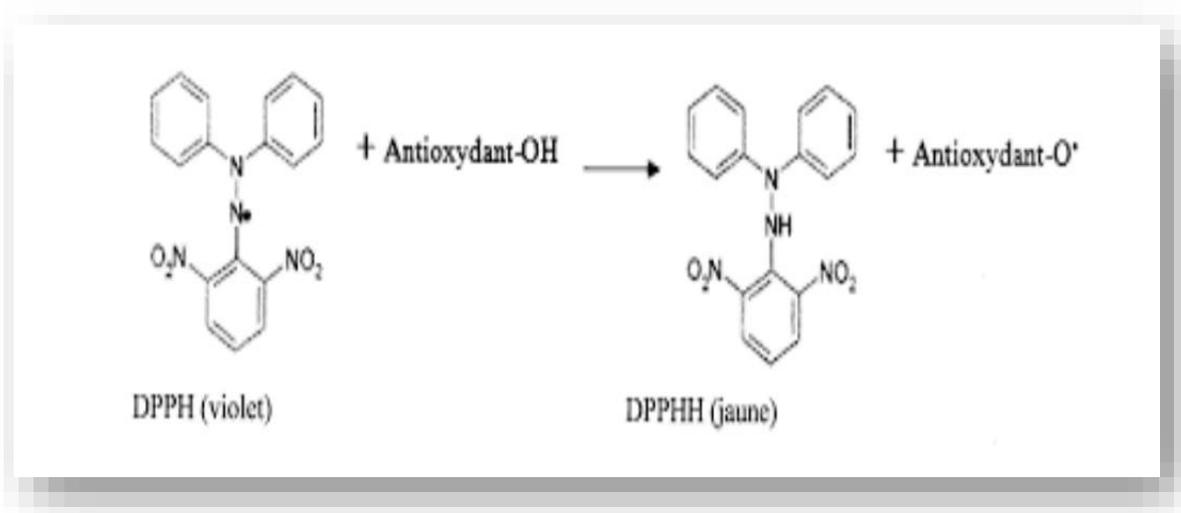
**P<sub>2</sub>** : poids du tube avant centrifugation

**P<sub>3</sub>** : poids de la matière végétale de départ

## II.5. Evolution de quelques activités biologiques

### II.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante

La méthode du DPPH• (diphényl picryl-hydrayl) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPHH (diphényl picryl-hydrazine). La réduction du DPPH• en DPPH-H induit un changement de sa couleur violette en jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort. (Mansouri et al., 2005).



**Figure19** : Structure chimique du radical libre DPPH et sa forme réduite (Congo, 2012)

### II.5.1.1. Matériel et réactifs

Les différents matériels et les réactifs utilisés sont résumés dans le Tableau

**Tableau 07** : Liste d'appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH.

Appareil	Verrerie et autres	Réactifs	Solvant et Solutés
-Micropipettes : 1000ul- 50ul-10ul	-Eprouvettes graduées de 25 ml	-Acide ascorbique	-éthanol
-Spectrophotométrie	-Spatule	-le DPPH (2.2 diphényle1- picryl hydrazyl	-Eau distillé
-Balance de précision	-Verre de montre -Entonnoir -Papier aluminium - Fiole jaugée 100ml	-Extrait des germes de brocoli -Extrait des germes de moutarde blanche	

### II.5.1.2. Mode opératoire

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH. 25µl de chaque solution éthanolique de extrait (brocoli+moutarde blanche), thé vert ,et le mélange thé vert avec extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 2.5 ml de la solution éthanolique du DPPH (0,002%) qui est préparée par la solubilisation de 0,002g de DPPH poudre dans 50ml de éthanol. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 25µl d'éthanol avec 2.5 ml de la solution éthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517nm après 30 min d'incubation et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Tous les essais ont été effectués en triple.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

**Abs contrôle** : absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai)

**Abs test** : absorbance d'extrait.

Les valeurs de l'EC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire

### II.5.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été évalué par la méthode de dénaturation des protéines selon la recommandation ([Leelaprakash et Dass , 2011](#))

#### II.5.2.1. Matériels et produits

L'ensemble des matériels et produits utilisés pour réaliser cette étude sont résumés dans le Tableau ci-dessous :

**Tableau 08** : Liste d'appareils et réactifs utilisé dans l'activité anti-inflammatoire

Appareil	Verrerie et Autres	Réactifs	Solvant et Solutés
-Spectrophotométrie - Micropipettes : 1000ul- 50ul-10ul - Bain-marie - Balance de précision - Une agitateur	- Eprouvette de 2 ml - Papier aluminium - Fiole jaugée 100ml - Verre de montre	- Diclofenac - Extrait éthanolique (brocoli + moutarde blanche) - l'albumine sérique bovine (BSA) - PBS	- Ethanol - Eau distillée

### II.5.2.2. Mode opératoire

Le mélange réactionnel était constitué de 0,2 ml de l'albumine sérique bovine (BSA) à 1% et 2,8 ml de PBS (pH 6,4) ajoutés à 2,0 ml de sérum physiologique (témoin négatif), en faisant varier la concentration de l'extrait( brocoli +moutarde blanche ) ou du thé vert ou du mélange thé vert avec extrait ou du diclofénac sodique( 30 ,50, 100 et 150 µg/ml), respectivement. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 20 min et chauffé à 51°C pendant 20 min. Les échantillons ont été refroidis, et l'absorbance a été lue à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre

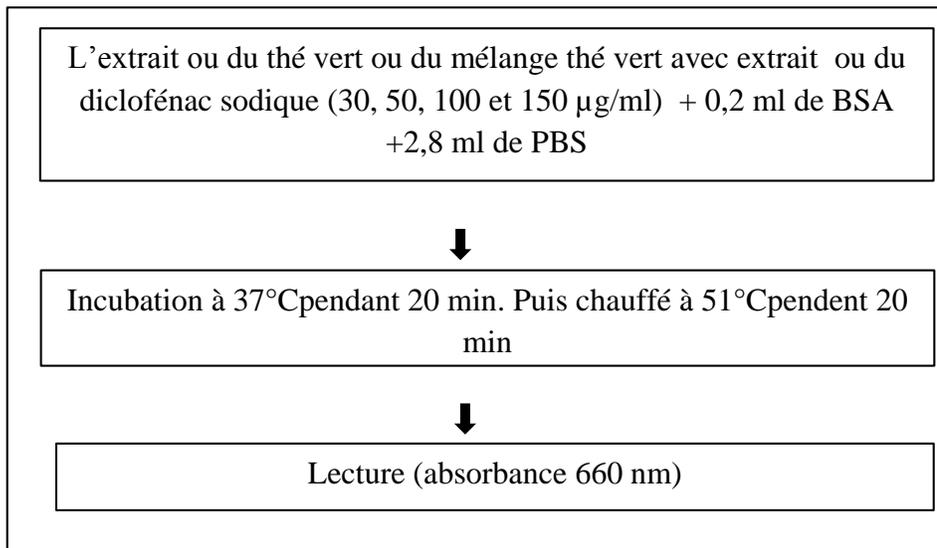
Le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition de la dénaturation} = 100 \times (A1 - A2 / A1)$$

**A1** =Absorbance du contrôle négatif

**A2** = Absorbance de l'échantillon

Le résultat obtenu est exprimé en concentration d'extrait pour inhiber 50% de dénaturation de la BSA (IC50)



**Figure20** : protocole de l'activité anti-inflammatoire

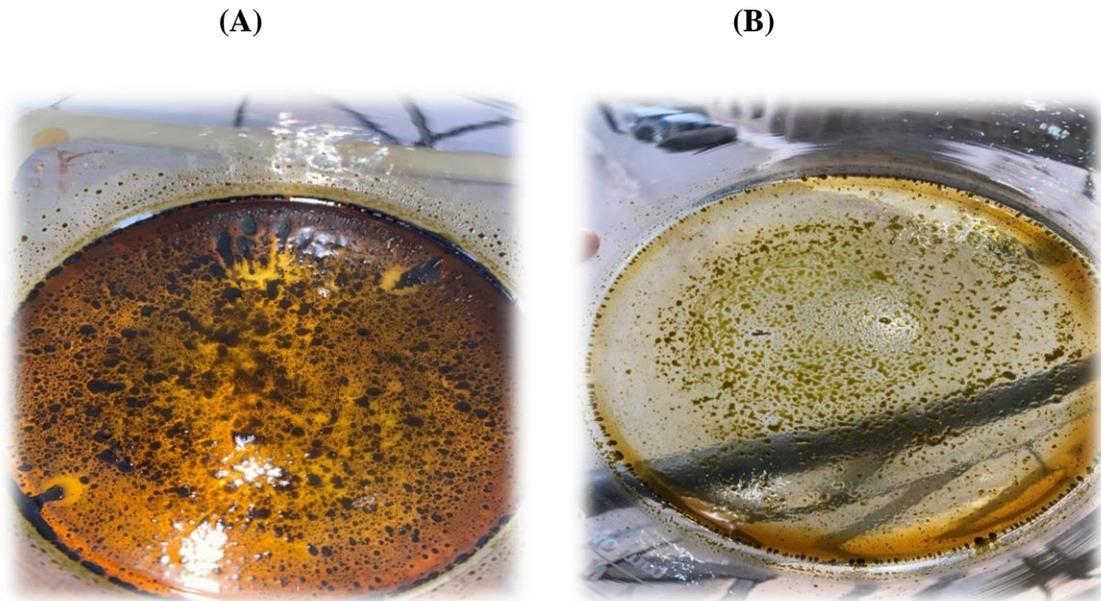
# **Chapitre III :**

# **Résultats et**

# **discussion**

### III. Résultats et discussion

Les différents extraits obtenus des graines de brocoli et de la moutarde blanche sont de couleur marron foncée (**figure21**)



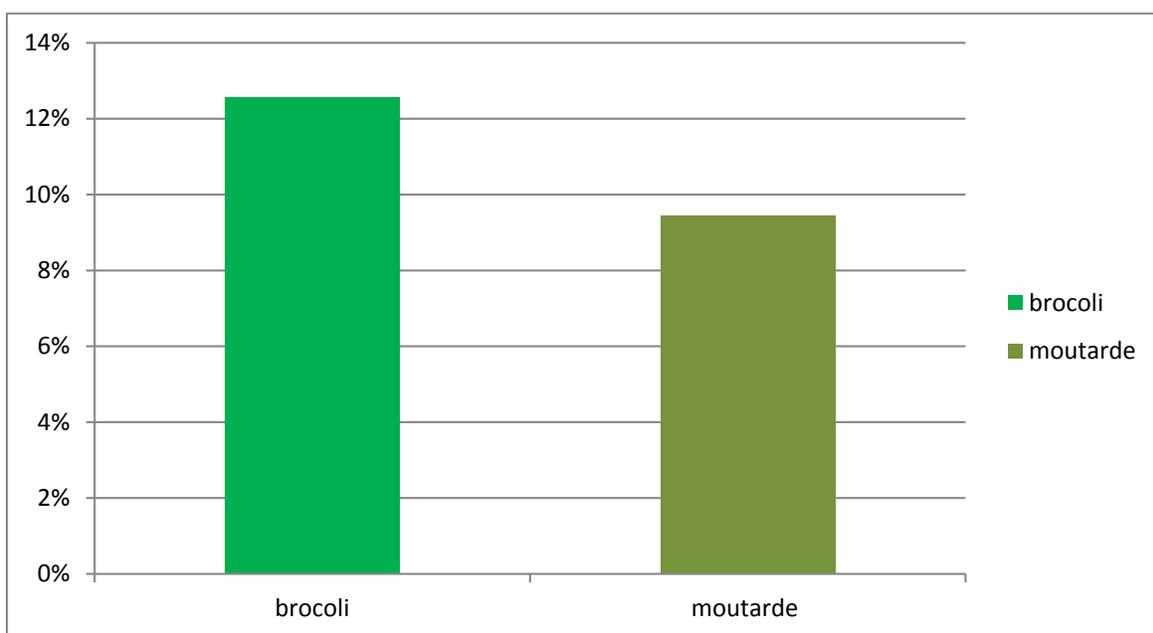
**Figure 21:** les extraits des graines : (A) brocoli, (B) moutarde blanche (**photo personnel**)

#### III.1. Les rendements de l'extrait éthanolique

Après la récupération de l'extrait éthanolique, le rendement d'extraction a été calculé et la valeur est représentée dans le tableau ci-dessous :

**Tableau09:** Résultats du rendement d'extraction de l'extrait éthanolique des germes de brocoli et des germes de moutarde blanche

Matières végétales	Extrait	Rendement
50g	Brocoli	12,56%
	Moutarde blanche	9,44%



**Figure22** : rendement d'extrait de brocoli et de moutarde blanche

Dans notre étude, nous avons opté pour une seule méthode d'extraction pour obtenir l'extrait de GLS. Le rendement d'extraction est un paramètre important pour évaluer l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs de la plante. Dans notre cas, le rendement représente la quantité d'extrait obtenue à partir de la matière végétale initiale, et il peut donner des indications sur la richesse en composés bioactifs dans l'extrait.

D'après les résultats notés, il apparaît que le rendement d'extrait de brocoli est 12,56%, et il est noté aussi un rendement de 9,44% de l'extrait de moutarde blanche dans 50g

Ces résultats sont très importants et nettement supérieurs à celui rapporté sur l'extrait préparé par (Rouari et al.,2022), qui ont obtenus un rendement de l'extrait de *Oudneya*

*africana* (la famille des brassicacées) 13,37 % pour 100 g. De plus, l'étude de mémoire par **(Abderrezzaq, 2022)** l' extrait à partir des graines de *Lepidium Sativum* (la famille des brassicacées) broyées et qui a été effectuée par l'éthanol, a donné un rendement d'extraction égale 13.2% par rapport à 100g

Le résultat de **(Rizwan et al., 2015)** qui ont trouvé le rendement de l'extrait *Lepidium sativum* L. (la famille des brassicacées) de 9.62% par rapport le poids (10g). Ce résultat est supérieur à celui obtenus.

Les graines de brocoli ont longuement été considérés comme une riche source de GLS et de leurs produits d'hydrolyse (en particulier SFN), qui sont une classe bien connue de médicaments chimio-thérapeutiques anticancéreux **(Cheng et al., 2016)**. Les glucosinolates sont notamment rencontrés dans les Brassicaceae ou Crucifères (chou, navet, brocoli, radis, moutarde) et présents à des teneurs variables. **(Derbel et al., 2005)**. Cette différence entre les résultats peuvent être expliquées par le fait que les rendements des extraits de glucosinolates sont influencés par plusieurs facteurs lors de leurs extractions : varie en fonction du génotype, de la durée de germination, le tissu végétal, la croissance, d'autres variations génétiques. Ce résultat pourrait être lié à la polarité similaire des deux solvants hydroalcooliques et les substances phytochimiques d'intérêt sont généralement à base d'éthanol afin d'éviter d'éventuelles réactions toxicologiques liées à l'utilisation du méthanol. **(Bojorquez-Rodríguez et al., 2022)**

Ainsi, le changement du rendement d'extraction peut être lié soit aux conditions expérimentales (procédé d'extraction, durée d'extraction, etc.) soit par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'extrait. Le climat, la zone géographique, la génétique de la plante utilisée, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode d'extraction employée...etc. sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en extraits **(Kelen et Tepe, 2008)**

En conclusion, le rendement élevé que nous avons obtenu pour l'extrait éthanolique du brocoli et moutarde blanche suggère une extraction efficace des composés bioactifs de la plante. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour caractériser

davantage ces composés et évaluer leur potentiel pour des activités biologiques spécifiques, telles que les propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes que nous avons étudié.

### III.2. Détermination de l'activité antioxydante

La méthode est souvent employée en raison de son efficacité et de sa rapidité. Elle repose sur la mesure de la capacité d'un produit à transmettre un radical hydrogène H. au radical oxydé DPPH. Dans cette forme, le radical est stable et de couleur violette intense, mais il se transforme en jaune lorsqu'il est réduit (DPPH-H) (en présence d'un antioxydant). On peut observer le changement de couleur grâce à la spectrophotométrie 517nm.



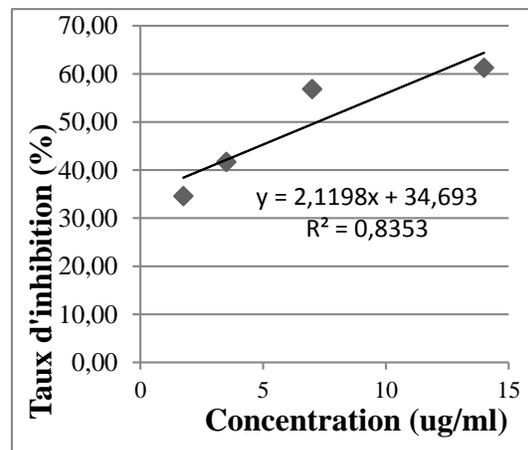
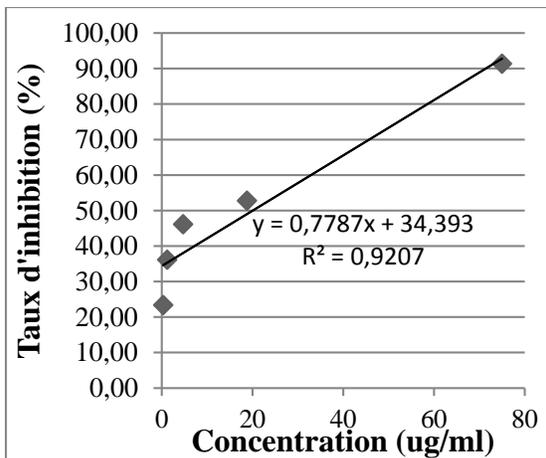
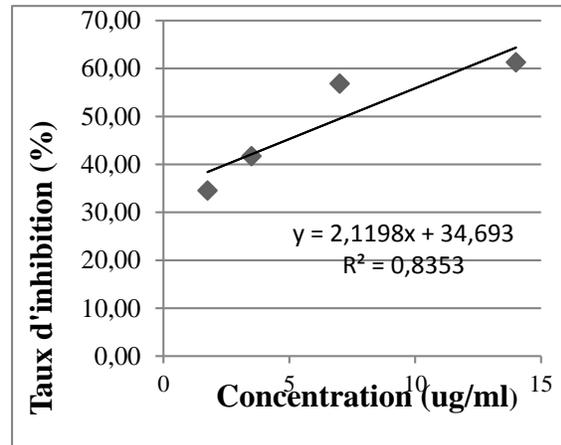
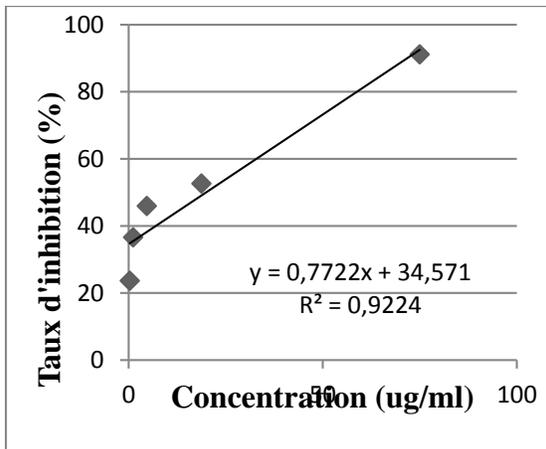
**Figure 23 :** Résultats du test du DPPH à différentes concentrations (**photo personnel**)

Afin de quantifier les molécules antioxydants présents dans l'extrait éthanolique (des germes de *Brassica oleracea var. italica* avec *Sinapis alba L.*), et le thé, et le mélange de thé avec l'extrait éthanolique, nous avons utilisés l'acide ascorbique (Vitamine C) comme standard connus pour son excellente activité antioxydante.



**Figure24:** les différentes concentrations des échantillons (photo personnel)

Les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) dans la **figure25**, qui représente le pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration



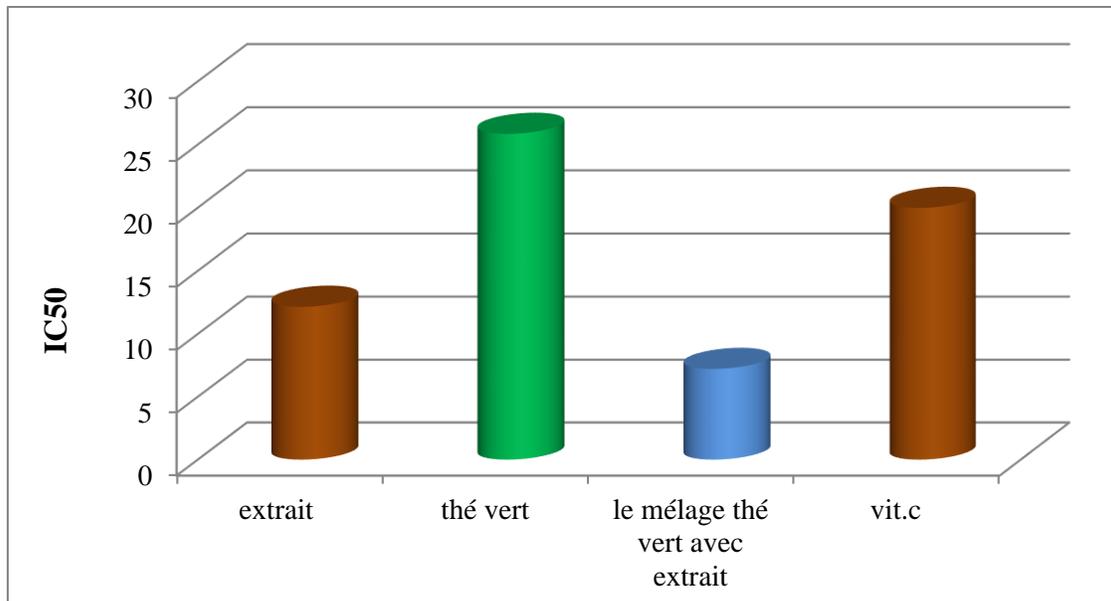
**Figure25** : le pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de vitamine C, de notre extrait éthanoliques, de thé vert, et de mélange de thé et notre extrait

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons déterminé les IC50 des échantillons, et les résultats sont mentionnés dans **le tableau 10**, et **la figure 26**

À des fins comparatives, nous avons évalué l'IC50 des quatre composés (Vitamine C, extrait, thé vert, le mélange thé vert et extrait). Cet indicateur exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour faire décroître la concentration initiale du DPPH• à la moitié (50%). L'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydant d'un composé. Cela veut dire que la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC50 est petite.

**Tableau 10:** Pourcentage d'inhibition de DPPH

IC50 de DPPH de Vitamine C	19,98 ug/ml
IC50 de DPPH de l'extrait	12,5 ug/ml
IC50 de DPPH de thé vert	25,84 ug/ml
IC50 de DPPH du mélange de thé vert et extrait	7,22 ug/ml



**Figure 26** : Détermination de la valeur IC50

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration

Dans cette étude, l'activité antioxydante de l'extrait (de brocoli +moutarde blanche) a été obtenue en utilisant l'essai DPPH, et une IC50 de 12,5 µg/ml a été obtenue, pour le thé vert on a marqué une IC50 25,84 ug/ml, le mélange thé vert avec extrait a enregistré une IC50 de 7,22 ug/ml. L'IC50, où la concentration inhibitrice à 50 %, est la concentration qui est nécessaire pour réduire l'activité initiale du radical DPPH de 50 %.

Le taux d'inhibition du DPPH enregistré en présence de l'extrait est inférieur à celle de l'acide ascorbique. Plus la valeur de l'IC50 est faible, plus l'extrait est efficace pour neutraliser les radicaux libres, indiquant une forte activité antioxydante.

Notre extrait éthanolique mélangé au thé vert montre que l'IC50 est faible par rapport l'acide ascorbique, donc notre boisson possède une activité antioxydante plus forte que le standard.

Les extraits de légumes de Brassica ont été examinés pour leurs activités antioxydant en utilisant différents systèmes d'oxydation et méthodes pour mesurer la capacité antioxydante (Podsędek, 2007)

Selon l'étude de (Rizwan et al., 2015) de l'extrait *Lepidium sativum* L. (la famille des brassicacées) présentent des valeurs respectives d'IC50 de 62µg/ml. Ces derniers ont confirmé une activité antioxydante inférieure à celle obtenue.

Les composés phénoliques comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité anti-oxydante des plantes (Li et al., 2007). Selon l'étude (Sibi et al., 2013) L'analyse phytochimique de l'extrait de brocoli a révélé la présence des flavonoïdes, les polyphénols et alcaloïdes, les tanins.

La capacité de piéger du radical DPPH diffère considérablement selon le solvant, qui influence sur la qualité des composés extraits et elle est lié aux les effets antioxydant (Anggraini et al., 2019)

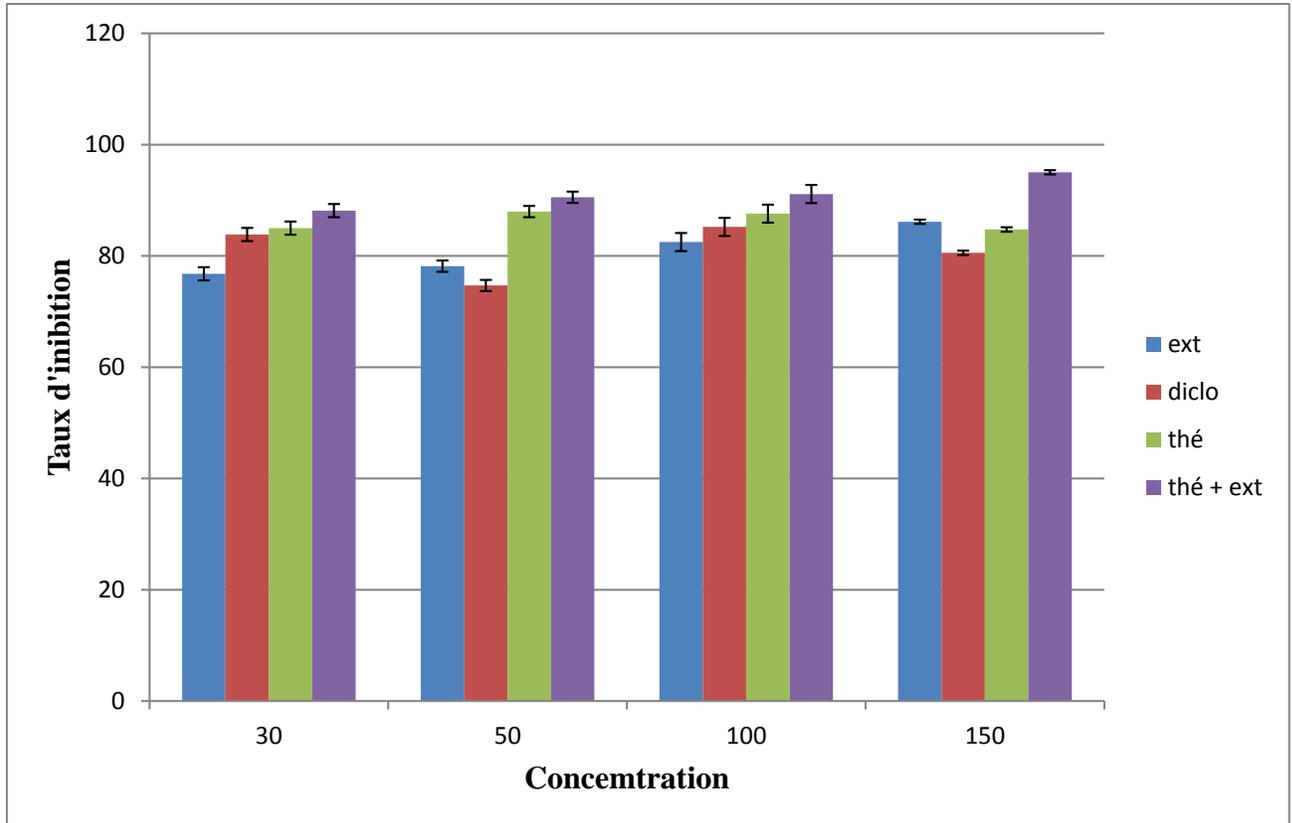
### III.3.Détermination de l'activité anti-inflammatoire

Le test d'inhibition de la dénaturation protéique est le plus convenable pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait (brocoli + moutarde blanche), le thé vert, diclofénac, et le mélange (thé vert +extrait).

La protéine utilisée pour ces tests est l'albumine de sérum bovine (BSA). Dans ce test nous avons utilisé la diclofénac comme standard. Les résultats sont représentés dans le **tableau 11** et **la figure 27** ci-dessous.

**Tableau11** : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'extrait éthanolique , thé vert , le mélange ( thé vert +extrait) ,et le contrôle positif (diclofénac) à différentes concentration

	30 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	150 µg/ml
l'extrait éthanolique	76,80±0,40	78,16±1,63	82,50±1,01	87,09±1,19
thé vert	76,54±0,63	82,50±1,01	84,75±12,48	86,14±1,18
le mélange (thé vert +extrait)	88,14 ±1,14	90,53±0,22	91,12±0,74	95,03±0,90
diclofénac	83,86±0,38	74,69±2,99	85,21±1,40	80,55±0,93



**Figure 27** : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique, diclofénac, thé vert, et le mélange (thé vert +extrait).

L'expérience de dénaturation des protéines de la BSA, en présence de l'extrait (brocoli+moutarde blanche), thé vert, le mélange thé vert avec extrait, et du diclofénac, révèle des résultats notables. Le taux d'inhibition de l'extrait éthanolique, thé vert, et le mélange(thé vert + extrait) a la concentration de 150 µg/ml et la plus élevée à 87,09%, 86,14%,95,03% respectivement, et a elle diminué à 76,80%, 76,54%,88,14% pour une concentration de 30 µg/ml

Le taux d'inhibition du mélange est supérieure à toutes les concentrations par rapport le diclofénac

Le diclofénac montre également une capacité à inhiber la dénaturation de la BSA, bien que moins efficace que le mélange à toutes les concentrations testées. Le taux d'inhibition

de diclofénac diminue avec l'augmentation de la concentration, de 85,21% à 100 µg/ml et 74,69% à 50 µg/ml

Notre extrait éthanolique mélangé au thé vert montre une capacité supérieure à inhiber la dénaturation de la BSA par rapport au diclofénac et le thé vert

En comparant ces résultats avec la littérature scientifique, nous pouvons constater que d'autres études ont également utilisé le test d'inhibition de la dénaturation protéique pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits, une étude menée par **(Ramesh et al., 2022)** sur l'extrait de tige et de feuille de brocoli ont également utilisé ce test d'inhibition pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. Les résultats ont montré le taux d'inhibition de la dénaturation de tige de brocoli est 46%, et de 42 % pour l'extrait de feuille à une concentration de 500 µg/ml

De plus, une étude menée par **(Semwal et al., 2021)** ont signalé que l'extrait éthanolique de *Brassica Rapa* (la famille de Brassicaceae) a présenté le maximum de la dénaturation de la BSA (93,10%) à 800µg/ml

Une autre étude menée par **(Venkatachalam, 2021)** sur une autre espèce appartenant aux *Coldenia Procumbens* (la famille de Boraginaceae), a montré que l'extrait d'éthanol avait un pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines de 82 % à une concentration de 250 µg/ml.

Le brocoli montre des propriétés anti-inflammatoire par la présence de hautes concentrations de Sulforaphane (SFN), qui sont utilisés pour traiter le cancer du sein et un certain nombre d'autres maladies. **(Meliboeva et al., 2022)** . Selon l'étude de **(Bahadoran et al., 2013)**, montre que l'efficacité potentielle du sulforaphane dérivé des jeunes graines de brocoli a été confirmé comme une option de traitement viable pour le diabète de type 2. Ce dernier cible certains récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes, qui contribuent à l'homéostasie du glucose dans des conditions d'hyperglycémie et l'oxydation. Selon l'étude de **(Xian et al., 2018)**, révèle que *Sinapis blanc* et du sperme de *Sinapis jaune* (famille: Brassicaceae) sont des agents anti-inflammatoires efficaces contre les processus inflammatoires aigus et chroniques

La plupart des résultats des études réalisées sur des humains ont indiqué les effets bénéfiques du thé vert et des catéchines du thé contre les maladies inflammatoires. **(Ohishi et al., 2016)**

# Conclusion

Ce mémoire explore la fabrication d'une boisson fonctionnelle à base de thé vert enrichis en glucosinolates extraient des graines de brocoli et de la moutarde blanche

Les glucosinolates, présent dans les plantes de la famille Brassicacées, tels que le brocoli et la moutarde blanche, sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, qui peuvent contribuer à la prévention des maladies chroniques et améliorer la santé humaine.

Dans le cadre de la recherche des activités biologiques de l'extrait éthanolique des graines du brocoli et de moutarde blanche, thé vert, le mélange (thé vert l'extrait), diclofénac, nous avons évalué leurs activités antioxydants et activités anti-inflammatoire.

- Le rendement de l'extraction par éthanol des graines de brocoli est 12,56% et les graines de moutarde blanche est 9,44%
- Le mélange (thé vert + l'extrait) possède une activité anti radicalaire (DPPH) supérieur à celle enregistrée pour le standard vitC. Cependant, l'activité antioxydante de l'extrait est IC50 à 7,22 ug/ml et 19,98 ug/ml.
- L'activité anti-inflammatoire, par la méthode de dénaturation des protéines de la BSA, est plus importante pour le mélange par rapport le diclofénac utilisé comme référence, avec des taux d'inhibition de la dénaturation des protéines de 95,03% et 85,21% respectivement.

En conclusion, notre travail a contribué à enrichir les connaissances sur le brocoli et la moutarde blanche et a mis en évidence son potentiel en tant que source de nouveaux médicaments naturels. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour isoler et caractériser les composés bioactifs spécifiques responsables de ces activités, et pour évaluer leur efficacité et leur sécurité dans des modèles précliniques et cliniques et in vivo sur des modèles animaux. Nous espérons que notre travail servira de base pour de futures études et contribuera à la valorisation de la médecine traditionnelle pour le bien-être de l'humanité.

# **Références bibliographiques**

## « A »

1. **Abderrezzaq, A. (2022).** Effet anti-inflammatoire de graine de *Lepidium sativum*. L. Mémoire de fin d'études Pour l'obtention du diplôme de Master en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 83p
2. **Alongi, M., & Anese, M. (2021).** Re-thinking functional food development through a holistic approach. *Journal of Functional Foods*, 81, 104466.
3. **Al-Shehbaz, I. A. (1985).** The genera of Brassiceae (Cruciferae; Brassicaceae) in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 66(3), 279-351.
4. **Anggraini, D., & Sihotang, H. T. (2019).** Decision Support System For Choosing The Best Class Guardian With Simple Additive Weighting Method: Decision Support System For Choosing The Best Class Guardian With Simple Additive Weighting Method. *Jurnal Mantik*, 3(3), 1-9.
5. **Arif, M., Shehzad, M. A., & Mushtaq, S. (2012).** Inter and intra row spacing effects on growth, seed yield and oil contents of white mustard (*Sinapis alba L.*) under rainfed conditions. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 49(1), 21-25.

## « B »

6. **Baumgartner, S., Bruckert, E., Gallo, A., & Plat, J. (2020).** The position of functional foods and supplements with a serum LDL-C lowering effect in the spectrum ranging from universal to care-related CVD risk management. *Atherosclerosis*, 311, 116-123.
7. **Berreghioua, A. (2016).** *Investigation phytochimique des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algerien: Moricandiaarvensis et Zillamacroptera* (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou BekrBelkaid).
8. **Bhandari, S. R., & Kwak, J. H. (2014).** Seasonal variation in phytochemicals and antioxidant activities in different tissues of various Broccoli cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 13(4).

9. **Bhandari, S. R., Jo, J. S., & Lee, J. G. (2015).** Comparison of glucosinolate profiles in different tissues of nine Brassica crops. *Molecules*, 20(9), 15827-15841.
10. **Bhattacharya, A., Li, Y., Wade, K. L., Paonessa, J. D., Fahey, J. W., & Zhang, Y. (2010).** Allyl isothiocyanate-rich mustard seed powder inhibits bladder cancer growth and muscle invasion. *Carcinogenesis*, 31(12), 2105-2110.
11. **Bones, A. M., & Rossiter, J. T. (1996).** The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum*, 97(1), 194-208.
12. **Bones, A. M., & Rossiter, J. T. (2006).** The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, 67(11), 1053-1067.
13. **Bojorquez-Rodríguez, E. M., Guajardo-Flores, D., Jacobo-Velázquez, D. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2022).** Evaluation of the effects of process conditions on the extraction of glucosinolates from broccoli sprouts. *Horticulturae*, 8(11), 1090.
14. **Brown, P. D., Tokuhisa, J. G., Reichelt, M., & Gershenzon, J. (2003).** Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 62(3), 471-481.
15. **Butenko, S., Melnyk, A., Melnyk, T., Jia, P., & Kolosok, V. (2022).** Influence of Growth Regulators with Anti-Stress Activity on Productivity Parameters of *Sinapis alba* L. *Journal of Ecological Engineering*, 23(9), 128-135.
16. **Butkutė, B., Taujenis, L., & Norkevičienė, E. (2018).** Small-seeded legumes as a novel food source. Variation of nutritional, mineral and phytochemical profiles in the chain: Raw seeds-sprouted seeds-microgreens. *Molecules*, 24(1), 133.
17. **Butnariu, M., & Sarac, I. (2019).** Functional food. *International Journal of Nutrition*, 3(3), 7-16.

« C »

18. **Cabrera, C., Artacho, R., & Giménez, R. (2006).** Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79-99.
19. **Campas-Baypoli, O. N., Sánchez-Machado, D. I., Bueno-Solano, C., Núñez-Gastélum, J. A., Reyes-Moreno, C., & López-Cervantes, J. (2009).**

- Biochemical composition and physicochemical properties of broccoli flours. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup4), 163-173.
- 20. Carović-Stanko, K., Petek, M., Grdiša, M., Pintar, J., Bedeković, D. A. L. I. B. O. R., HerakĆustić, M., & Satovic, Z. (2016).** Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods-a review. *Czech journal of food sciences*, 34(5), 377-390.
- 21. Conaway, C., Yang, Y. M., & Chung, F. L. (2002).** Isothiocyanates as cancer chemopreventive agents: their biological activities and metabolism in rodents and humans. *Current drug metabolism*, 3(3), 233-255.
- 22. Congo M. (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae). Thèse de doctorat : pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso, 42 p.
- 23. Cragg, GM ,& Newman, DJ (2001).** Découverte de médicaments produits naturels dans le prochain millénaire. *Biologie pharmaceutique* , 39 (sup1), 8-17.
- 24. Chen, S., & Andreasson, E. (2001).** Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant physiology and biochemistry*, 39(9), 743-758.
- 25. Cerniauskaite, D. (2010).** Glucosinolates-myrosinase: synthèse de substrats naturels et artificiels, inhibiteurs et produits de transformation enzymatique (Doctoral dissertation, Université d'Orléans; Université de technologie (Kaunas, Lituanie)).
- 26. Cheung, K. L., & Kong, A. N. (2010).** Molecular targets of dietary phenethyl isothiocyanate and sulforaphane for cancer chemoprevention. *The AAPS journal*, 12, 87-97.

« D »

- 27. Derbel, S., & Ghedira, K. (2005).** Phytonutriments and their impact on health. *Phytothérapie*, 3, 28-34.
- 28. Díaz, L. D., Fernández-Ruiz, V., & Cámara, M. (2020).** An international regulatory review of food health-related claims in functional food products labeling. *Journal of Functional Foods*, 68, 103896.

- 29. Diaz, J., DO, T.K.T., Feuillâtre, M., Loffredo, L. (2010).** Authentification phytochimique de l'espèce *camellia sinensis* (L.) Kuntze par analyse HPLC. Francis et Taylor, Paris, 2010, 100 pages.

« F »

- 30. Fahey, J. W., Zalcmann, A. T., & Talalay, P. (2001).** The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56(1), 5-51.

« G »

- 31. Gao, M., He, R., Shi, R., Zhang, Y., Song, S., Su, W., & Liu, H. (2021).** Differential Effects of Low Light Intensity on Broccoli Microgreens Growth and Phytochemicals. *Agronomy* 2021, 11, 537.
- 32. Ghennou S., Boufodda C., 2019.** Dosage des polyphénols et activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Lobularia maritima* Desf. Dans la région de Mostaganem. Mémoire de fin d'études Pour l'obtention du diplôme de Master en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 83p
- 33. Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020).** Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual review of food science and technology*, 11(1), 93-118.
- 34. Guo, R., Huang, Z., Deng, Y., Chen, X., Xu Han, X., & Lai, Z. (2016).** Comparative transcriptome analyses reveal a special glucosinolate metabolism mechanism in *Brassica alboglabra* sprouts. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1497.
- 35. Gupta, S., Sangha, M. K., Kaur, G., Atwal, A. K., Banga, S., & Banga, S. S. (2012).** Variability for leaf and seed glucosinolate contents and profiles in a germplasm collection of the *Brassica juncea*. *Biochem. Anal. Biochem*, 1(120), 2161-1009.

## « H »

36. Haq, E. U., Hassan, F. U., Zhou, F., Gong, X., Manaf, A., Shabbir, G., ...&Shamsi, I. H. (2023). Nitrogen Fertilization Improves the Agro-Morphological and Yield Attributes of *Sinapis alba* L. *Agronomy*, 13(6), 1621.
37. Heaney, R. K., & Fenwick, G. R. (1995). Natural toxins and protective factors in Brassica species, including rapeseed. *Natural toxins*, 3(4), 233-237.
38. Higdon, J. V., Delage, B., Williams, D. E., & Dashwood, R. H. (2007). Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological research*, 55(3), 224-236.
39. Huang, C. H., Sun, R., Hu, Y., Zeng, L., Zhang, N., Cai, L., ... & Ma, H. (2016). Resolution of Brassicaceae phylogeny using nuclear genes uncovers nested radiations and supports convergent morphological evolution. *Molecular biology and evolution*, 33(2), 394-412.

## « I »

40. Ilahy, R., Tlili, I., Pék, Z., Montefusco, A., Siddiqui, M. W., Homa, F., ...&Lenucci, M. S. (2020). Pre-and post-harvest factors affecting glucosinolate content in broccoli. *Frontiers in nutrition*, 7, 147.

## « J »

41. Jayalalitha, V., Elango, A., Pugazhenthii, T. R., & Balasundaram, B. (2019). Yoghurt: Ideal vehicle for healthy ingredients: A. *IJCS*, 7(4), 1139-1144.
42. Jie, M., Cheung, W. M., Yu, V., Zhou, Y., Tong, P. H., & Ho, J. W. (2014). Anti-proliferative activities of sinigrin on carcinogen-induced hepatotoxicity in rats. *PLoS One*, 9(10), e110145.

## « K »

43. Kang, D. G., keun Yun, C., & Lee, H. S. (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3), 231-236.4096-4104.

44. Kamal, R. M., AbdullRazis, A. F., MohdSukri, N. S., Perimal, E. K., Ahmad, H., Patrick, R., ... & Rigaud, S. (2022). Beneficial health effects of glucosinolates-derived isothiocyanates on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 27(3), 624.
45. Kelen, M., & Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource technology*, 99(10),

« L »

46. Lin, H., Sun, J., Hu, Z., Cheng, C., Lin, S., Zou, H., & Yan, X. (2022). Variation in Glucosinolate Accumulation among Different Sprout and Seedling Stages of Broccoli (*Brassica oleracea var. italica*). *Plants*, 11(12), 1563.
47. Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.

« M »

48. Mahmood, T., Akhtar, N., & Khan, B. A. (2010). The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(19), 2028-2033.
49. Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chemistry*, 89(3), 411-420.
50. Martins, T., Colaço, B., Venâncio, C., Pires, M. J., Oliveira, P. A., Rosa, E., & Antunes, L. M. (2018). Potential effects of sulforaphane to fight obesity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(8), 2837-2844.
51. Martins, T., Oliveira, P. A., Pires, M. J., Neuparth, M. J., Lanzarin, G., Félix, L., ... & Antunes, L. M. (2022). Effect of a sub-chronic oral exposure of Broccoli (*Brassica oleracea L. Var. Italica*) by-products flour on the physiological parameters of FVB/N Mice: a pilot study. *Foods*, 11(1), 120.

- 52. Meliboeva, S., Boltayev, M., & Jalilov, F. (2022).** The effect of broccoli sprouts on diabetes mellitus and the gastrointestinal tract. *Science and innovation, 1*(D5), 81-87.
- 53. Melim, C., Lauro, M. R., Pires, I. M., Oliveira, P. J., & Cabral, C. (2022).** The role of glucosinolates from cruciferous vegetables (Brassicaceae) in gastrointestinal cancers: from prevention to therapeutics. *Pharmaceutics, 14*(1), 190.
- 54. Mitrović, P. M., Stamenković, O. S., Banković-Ilić, I., Djalović, I. G., Nježić, Z. B., Farooq, M., ... & Veljković, V. B. (2020).** White mustard (*Sinapis alba L.*) oil in biodiesel production: a review. *Frontiers in plant science, 11*, 299.
- 55. Montaut, S., Rollin, P., De Nicola, G. R., Iori, R., & Tatibouët, A. (2012).** Composés bioactifs des Crucifères: un apport bénéfique dans notre quotidien. *Phytothérapie, 10*(6), 342-349.

« N »

- 56. Namita, P., Mukesh, R., & Vijay, K. J. (2012).** *Camellia sinensis* (green tea): a review. *Global journal of pharmacology, 6*(2), 52-59.

« O »

- 57. Ohishi, T., Goto, S., Monira, P., Isemura, M., & Nakamura, Y. (2016).** Anti-inflammatory action of green tea. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents), 15*(2), 74-90.
- 58. Ouassou, M., El Amrani, A., & Mukhaimar, M. (2019).** Mécanismes de biosynthèse et de régulation des glucosinolates. *Eur. Sci. J, 15*(3), 313.
- 59. Ouassou, M., Mukhaimar, M., El Amrani, A., Kroymann, J., & Chauveau, O. (2019).** Biosynthèse des glucosinolates indoliques et rôle écologique de leurs modifications secondaires. *Comptes Rendus Biologies, 342*(3-4), 58-80.

« P »

60. Podsędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food science and Technology*, 40(1), 1-11.
61. Possenti, M., Baima, S., Raffo, A., Durazzo, A., Giusti, A. M., & Natella, F. (2016). Glucosinolates.
62. Poveda, J., Rodríguez, V. M., Díaz-Urbano, M., Sklenář, F., Saati-Santamaría, Z., Menéndez, E., & Velasco, P. (2022). Endophytic fungi from kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) modify roots-glucosinolate profile and promote plant growth in cultivated Brassica species. First description of *Pyrenophoragallaeciana*. *Frontiers in microbiology*, 13, 981507.

« R »

63. Ramesh, A., Nandi, A., Devanathan, S., Jayaraman, L., & Sivaji, S. (2023). Anti-inflammatory, anti-oxidative, and anti-microbial activities of the phytochemicals isolated from various parts of broccoli wastes. *J. Adv. Biotechnol. Exp. Ther*, 6, 67-83.
64. Ramirez, D., Abellán-Victorio, A., Beretta, V., Camargo, A., & Moreno, D. A. (2020). Functional ingredients from Brassicaceae species: Overview and perspectives. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 1998.
65. RizwanAhamad, R. A., MohdMujeeb, M. M., Firoz Anwar, F. A., & Aftab Ahmad, A. A. (2015). Phytochemical analysis and evaluation of anti-oxidant activity of methanolic extract of *Lepidium sativum* L. seeds.
66. Román, J., González, D., Inostroza-Ponta, M., & Mahn, A. (2020). Molecular modeling of epithiospecifier and nitrile-specifier proteins of broccoli and their interaction with aglycones. *Molecules*, 25(4), 772.
67. Rouari, L., Gouzi, H., Ghermaoui, M., Benaceur, F., Kemassi, A., Merabti, B., ... & Chaibi, R. (2022). First study of larvicidal activity of Algerian *Oudneya africana* extracts against *Culex pipiens* larvae. *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(1), 65-70.

## « S »

68. Sadowska, U., Jewiarz, K., Kopak, M., Dziadek, K., Francik, R., & Kopec, A. (2023). Proximate analysis and antioxidant properties of young plants of *Sinapis alba* L. Depend on the time of harvest and variety. *Applied Sciences*, 13(13), 7980.
69. Salmerón, I. (2017). Fermented cereal beverages: From probiotic, prebiotic and synbiotic towards Nanoscience designed healthy drinks. *Letters in applied microbiology*, 65(2), 114-124.
70. Schranz, M. E., Lysak, M. A., & Mitchell-Olds, T. (2006). The ABC's of comparative genomics in the Brassicaceae: building blocks of crucifer genomes. *Trends in plant science*, 11(11), 535-542.
71. Schweingruber, F. H. (2006). Anatomical characteristics and ecological trends in the xylem and phloem of Brassicaceae and Resedaceae. *Iawa Journal*, 27(4), 419-442.
72. Serafini, M., Stanzione, A., & Foddai, S. (2012). Functional foods: traditional use and European legislation. *International journal of food sciences and nutrition*, 63(sup1), 7-9.
73. Shaikh, S. (2022). Sources and health benefits of functional food components. In *Current Topics in Functional Food*. IntechOpen
74. Sharangi, A. B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)—A review. *Food research international*, 42(5-6), 529-535.
75. Sibi, G., Shukla, A., Dhananjaya, K., Ravikumar, K. R., & Mallesha, H. (2013). In vitro antibacterial activities of Broccoli (*Brassica oleracea* L. var *italica*) against food borne bacteria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(5), 100-103.
76. Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51(3), 456-467.
77. Stevens, W. D., Ulloa, C., Pool, A., & Montiel, O. M. (2001). *Flora de Nicaragua* (Vol. 85, No. 1, p. 943). St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.

## « T »

- 78. Thomas, M. (2018).** *Fabrication d'extraits bioactifs bénéfiques pour la santé et riches en glucoraphanine à partir de rejets industriels de Brassicaoleracea (brocoli) en utilisant la technologie verte* (Doctoral dissertation, Université Laval).
- 79. Torrijos, R., Righetti, L., Cirlini, M., Calani, L., Mañes, J., Meca, G., & Dall'Asta, C. (2023).** Phytochemical profiling of volatile and bioactive compounds in yellow mustard (*Sinapisalba*) and oriental mustard (*Brassica juncea*) seed flour and bran. *LWT*, 173, 114221.
- 80. Tripathi, M. K., & Mishra, A. S. (2007).** Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Animal feed science and technology*, 132(1-2), 1-27.

## « V »

- 81. Venkatachalam, D. (2021)** .International Journal of Modern Pharmaceutical Research, 5(4), 189-194

## « W »

- 82. Winde, I., & Wittstock, U. (2011).** Insect herbivore counteradaptations to the plant glucosinolate–myrosinase system. *Phytochemistry*, 72(13), 1566-1575.
- 83. Wikström, N., Savolainen, V., & Chase, M. W. (2001).** Evolution of the angiosperms: calibrating the family tree. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1482), 2211-2220.
- 84. Wittstock, U., Kurzbach, E., Herfurth, A. M., & Stauber, E. J. (2016).** Glucosinolate breakdown. In *Advances in botanical research* (Vol. 80, pp. 125-169). Academic Press.

## « X »

- 85. Xian, Y. F., Hu, Z., Ip, S. P., Chen, J. N., Su, Z. R., Lai, X. P., & Lin, Z. X. (2018).** Comparison of the anti-inflammatory effects of *Sinapis alba* and *Brassica juncea* in mouse models of inflammation. *Phytomedicine*, 50, 196-204.

## « Y »

- 86. Yarnell, W. (2005).** Tea, Black/Green *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. *Clinical review*. The ABC Clinical Guide to Herbs: 335-345P.
- 87. Yashin, A., Yashin, Y., & Nemzer, B. (2011).** Determination of antioxidant activity in tea extracts, and their total antioxidant content. *American journal of biomedical sciences*, 3(4), 322-335.

## « Z »

- 88. Zhao, T., Li, C., Wang, S., & Song, X. (2022).** Green tea (*Camellia sinensis*): A review of its phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Molecules*, 27(12), 3909.