

Effet de digestion gastro-intestinale *in vitro* sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante d'ail triquètre *Allium triquetrum* L.

Imen LAIB^{1, 2*}, Hanane KARIT¹, Rahma BOUZERDOUNA¹, Fatima KETTOUCHE¹, Malika BARKAT²

¹Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Faculté des Sciences, Université 20 Août 1955, Skikda Algérie

²Laboratoire BIOQUAL, INATAA, Université Constantine 1, Algérie

*mina.laib@gmail.com

Submitted on 3rd February 2022. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 31st March 2022
<https://doi.org/10.35759/JABs.171.5>

RÉSUMÉ

Objectifs : L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de la digestion gastro-intestinale *in vitro* sur la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des tanins et le potentiel antioxydant des parties comestibles (feuilles et bulbes) d'*Allium triquetrum* (Ail triquètre).

Méthodologie et résultats : Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins de la plante non digérée et digérée ont été évaluées par dosage spectrophotométrique. La détermination de l'activité antioxydante a été effectuée par deux méthodes DPPH, ABTS. Les résultats obtenus montrent que la digestion gastro-intestinale *in vitro* réduit les teneurs des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins. Une forte capacité antioxydante a été obtenue pour les extraits d'ail triquètre. L'étude de l'effet de la digestion *in vitro* sur l'activité antioxydante par la méthode DPPH montre une augmentation de cette dernière par rapport à l'extrait de l'ail triquètre non digérée. Cependant, la méthode ABTS a abouti à des effets différents selon la phase de digestion, la phase salivaire semble diminuer l'activité antioxydante. Par contre, une augmentation de celle-ci a été notée durant la phase gastrique suivie d'un abaissement au cours de la phase intestinale. La phase gastrique a révélé la meilleure activité pour les deux méthodes de détermination du pouvoir antioxydant.

Conclusion et applications : La composition phénolique et l'activité antioxydante d'ail triquètre ont été modifiées de manière significative pendant la digestion *in vitro*. Les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins étaient instables dans l'environnement gastro-intestinal tandis que le potentiel antioxydant a été relativement maintenu après la digestion.

Les résultats obtenus dans cette étude pourraient servir comme données préliminaires à des analyses futures concernant l'amélioration de la bioaccessibilité des ingrédients bioactifs dans le corps humains.

Mots clés : *Allium triquetrum*, digestion gastro-intestinale *in vitro*, polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante

ABSTRACT

Objective : The objective of this work is to evaluate the effect of *in vitro* gastro-intestinal digestion on the total polyphenol content, flavonoids, tannins and the antioxidant potential of edible parts (leaves and bulb) of *Allium triquetrum* (*three cornered leek*)

Methodology and Results: The contents of total polyphenols, flavonoids and tannins of the digested and undigested plant were determined by spectrophotometric methods. The determination of antioxidant activity was carried out by two methods DPPH and ABTS. The results obtained show that *in vitro* gastrointestinal digestion decreases the contents of total polyphenols, flavonoids and tannins. *Allium triquetrum* extracts reveals a strong antioxidant activity which increases after gastrointestinal digestion for the DPPH method. However, the ABTS method Results obtained for the three phases of digestion are different. Salivary phase cause a decrease in the antioxidant activity. However, antioxidant activity increase during the gastric phase then increases after the intestinal digestion. The gastric phase revealed the best activities for the two methods of antioxidant activity evaluation.

Conclusion and applications of results: The phenolic composition and antioxidant activity of the three cornered leek were significantly altered during *in vitro* digestion. Total polyphenols, flavonoids and tannins were unstable in the gastrointestinal environment while the antioxidant potential was relatively maintained after digestion. The results obtained in this study could be used as preliminary data for future analyses concerning the improvement of bioaccessibility of bioactive ingredients in the human body.

Keywords: *Allium triquetrum*, *in vitro* gastro-intestinal digestion, total polyphenols content, flavonoids, tannins, antioxidant activity.

INTRODUCTION

Allium triquetrum L. (Alliaceae), également connu sous le nom de poireau à trois angles, oignon triangle ou ail à tige triangulaire, est une plante à fleurs, vivace, bulbeuse, originaire de la région méditerranéenne occidentale et centrale (Parsons et Cuthbertson, 2001 ; Blood, 2001) étant couramment trouvée dans les écosystèmes des zones humides. Plante annuelle, à tige molle triquètre (triangulaire, à angle aigu) de 10 à 40 cm, épaisse, se rétrécit progressivement de la base jusqu'à l'inflorescence. Les feuilles sont glabres, planes dessus et aiguës dessous. Les fleurs sont blanches en clochettes pendantes, elle comporte 6 à 12 fleurs pédicellées (généralement penchée du même côté). Le bulbe est capsulaire, blanc, petit, tendre et à odeur de poireau. L'identification d'*A. triquetrum* n'est pas difficile. L'ail triquètre se distingue des autres espèces du genre *Allium* par la forme à trois angles de la tige florifère, les fleurs aux tépales blancs et aux bandes

vertes centrales, et son odeur distinctive d'oignon (Parsons et Cuthbertson, 1992 ; Walsh et Entwisle, 1994). *A. triquetrum* L. est signalé dans la région de Tell, mais assez rare dans l'ouest de l'Algérie. Outre les aspects ornementaux, l'oignon triangulaire a été envisagé pour les applications culinaires, où les feuilles peuvent être utilisées pour aromatiser la pâtisserie ou assaisonner les salades en Kabylie, alors que les jeunes feuilles et le cœur des racines sont consommés crus ou cuits à la vapeur. De plus, les fleurs d'*A. Triquetrum* L. sont traditionnellement utilisées en médecine traditionnelle, en particulier pour la cicatrisation des plaies (Rabah *et al.*, 2020). Certaines études ont déjà lié les bienfaits pour la santé d'*A. Triquetrum* L. à la présence de métabolites secondaires spécifiques, en particulier les composés phénoliques. En fait, les bulbes et les fleurs d'oignon triangulaire sont riches en flavonoïdes, comme les glycosides de kaempférol, et les saponines. Les propriétés

antioxydantes puissantes d'ail triquètre est étroitement lié à ces composés phénoliques (Corea *et al.*, 2003 ; Maccelli *et al.*, 2020). Pour obtenir un effet bénéfique de cette plante sur la santé, il faut que ces polyphénols doivent être stables durant la digestion pour atteindre la circulation sanguine à travers la paroi intestinale (Soriano Sancho *et al.*, 2015). Les polyphénols sont ingérés sous forme de mélanges complexes immergés dans une matrice alimentaire. Donc il est important de déterminer comment ce processus de digestion affecte les polyphénols et leur stabilité car cela, à son tour, affectent leur bioaccessibilité à l'absorption ainsi que leurs effets bénéfiques possibles sur les cellules qui tapissent l'intestin (Kamiloglu, 2016). L'effet de la digestion gastro-intestinale *in vitro* sur la stabilité des composés polyphénoliques, et sur leurs

propriétés antioxydantes, a été l'un des sujets plus largement examinés au cours de la dernière décennie. Tel est le cas avec une grande variété de fruits, y compris les agrumes (Chen *et al.*, 2014) , différents types des baies(Liang *et al.*, 2012), tomate (Talens *et al.*, 2016) , grain de raisin (Chen *et al.*, 2014), Pomme (Bouayed *et al.*, 2012) et figues (Kamiloglu et Capanoglu, 2013).Ainsi que les extraits phénoliques de la pulpe de la caroube (Ydjedd *et al.*, 2017). Néanmoins, il ya un manque d'études qui ont abordé l'effet de la digestion *in vitro* sur les polyphénols d'*Allium triquetrum*. L'objectif de cette étude s'articule sur l'évaluation de l'effet de la digestion gastro-intestinale *in vitro* sur le contenu en composés phénoliques et le potentiel antioxydant des parties comestibles (feuilles et bulbes) d'ail triquètre.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce travail a été effectué au laboratoire de Biochimie, Faculté des Sciences, Université 20 Août 1955 Skikda, Algérie. L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet de la digestion *in vitro* sur la teneur des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins) et l'activité antioxydante de l'ail triquètre *Allium triquetrum* L.

Matériel végétal : La plante utilisée dans cette étude est l'ail triquètre *Allium triquetrum* L. Le choix de cette plante comme sujet d'étude dans le présent travail a été guidé non seulement par les diverses applications traditionnelles et culinaires qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une espèce méditerranéenne commune dans le Nord de l'Algérie, surtout dans le Tell, en plus elle est relativement peu étudiée. L'échantillonnage a été réalisé manuellement le 24 Février 2021 de la région de Djenan el Anab, Commune : Beni bechir(Longitude : 6.983°, Latitude : 36.8°, Altitude : 198m) située à 13 Km de la ville de SKIKDA, Algérie, et ils ont été placés dans des sacs en plastique stériles et amenés au laboratoire pour analyse .,Avant l'utilisation,

les échantillons ont été débarassés des débris (parties mortes, organes altérés) , soigneusement lavés , ensuite les organes de la plante sont séparés et découpés en petits morceaux . Les parties comestibles de la plante (feuilles et les bulbes fraîches) ont fait l'objet de notre investigation.

Extraction de composés phénoliques : 206.4g d'échantillon (feuilles et bulbes) ont été additionnés à 100 ml de méthanol 80%, le mélange est agité pendant 1h et ensuite macéré pendant 24 h .Les extraits obtenus sont filtrés, les feuilles et les bulbes d'ail triquètre ont été ré extraites trois fois et les extraits combinés ont été employés pour les expériences. Ensuite, l'échantillon a été centrifugé à 4500 trs/mn pendant 30 minutes et le surnageant obtenu est considéré comme extrait des parties comestibles d'ail triquètre non digéré (Elfalleh *et al.* ,2012).

Digestion gastro-intestinale *in vitro* : Les parties comestibles (feuilles et bulbes) d'ail triquètre ont été soumise successivement à la digestion buccale, gastrique et intestinale suivant une nouvelle méthode de digestion

statique normalisée basée sur des conditions physiologiquement pertinentes développées par Minekus *et al.* (2014) et modifiées par Ydjedd *et al.*, (2017). Les liquides qui

composent les différentes phases de la digestion utilisées dans cette étude sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Composition de trois liquides de la digestion (orale, gastrique et intestinale) (Ydjedd *et al.*, 2017).

SOLUTIONS	Solution ajoutée pour préparer 250ml de liquide salivaire (LS) (ml)	Solution ajoutée pour préparer 250ml de liquide gastrique (LS) (ml)	Solution ajoutée pour préparer 250ml de liquide intestinale (LS) (ml)
NaCl (2M)	-	23.6	19.2
KH ₂ PO ₄ (0,5 M)	7.4	1.8	1.6
NaHCO ₃ (1M)	13.6	25	85.8
KCL (0,5 M)	30.2	13.8	13.6
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆ (0,15M)	1	0.8	2.2
HCl (6M)	0.18	2.6	2.8
NH ₄ (CO ₃) ₂	0.12	1	-

La phase orale : Pour la simulation de la digestion orale, on a mélangé 4 g d'échantillon (ail triquètre à l'état frais) avec 17,5 ml de fluide salivaire, 75 µl de CaCl₂ (H₂O)₆ 0,3 M et 15mg d'α-amylase. Ensuite le mélange est incubé dans un bain marie pendant 2 min à 37 ° C, puis centrifugé avec une centrifugeuse Sigma à 4500tr/mn pendant 30 minutes. 10 ml de la phase orale (PO) sont prélevés pour les analyses ultérieures.

La phase gastrique : La digestion gastrique s'est poursuivie par l'addition immédiate de 10ml de liquide gastrique, de 20 µl de CaCl₂ (H₂O)₆ à 0,3 M à 10 ml de la phase orale. Ensuite, le pH est ajusté à 3. Après addition de 0.16 g de pepsine, le volume final a été complété à 250 ml par l'eau distillée, le mélange a été incubé sous agitation pendant 2 h à 37 ° C puis la PG a été centrifugée pendant 30 minutes à 4500 tr/min. À la fin de la digestion gastrique 10 ml ont été récupérés.

La phase intestinale : La digestion intestinale était simulée par l'ajout de 39 ml de liquide intestinale, 200 µl de CaCl₂ à 0,3 M et 0.16 g de sels biliaires dans le liquide intestinale. Après ajustement du pH à 8 avec NaOH 1 M, 0.25g de pancréatine ont été ajoutés, ensuite, le

volume final a été complété par l'eau distillée jusqu'à l'obtention de 250ml. Le mélange final a ensuite été incubé sous agitation pendant 2 h à 37 ° C. La phase intestinale (PI) a été centrifugée pendant 30 minutes à 4500 tr/min. Les surnageants obtenus après centrifugation sont considérés comme extraits de la plante digérée et ils sont réservés pour effectuer les différentes analyses.

Dosage des composés phénolique totaux : Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu(FC) décrite par Waterhouse (1999).avec quelques modifications. 5ml de chaque extrait (extrait de la plante non digérée et les trois extraits des phases de digestion : salivaire, gastrique et intestinale) ont été mélangés avec 0,4ml du réactif Follin-Ciocalteu et 1,2 ml de Na₂CO₃ à 2%. Après agitation et incubation du mélange réactionnel à l'obscurité et à température ambiante pendant deux heures, la lecture des absorbances est mesurée à 760 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière fraîche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique réalisée avec 6 valeurs de concentrations (variant de 0 à 1 mg/ml). Le

contenu phénolique total d'extrait est calculé par la formule suivante :

$$QP = \frac{C_0 V_0 F}{m}$$

Où :

QP : la teneur en polyphénols en mg EAG/ g de matière fraîche

M : la masse de la plante utilisée pour l'extraction

C0 : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EAG/ml

V0 : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml

F : le facteur de dilution= V_m/V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml (Hebi et Eddouks, 2015)

Dosage des flavonoïdes totaux : La détermination des flavonoïdes totaux a été réalisée été selon la méthode décrite par Dehpour *et al.* (2009). 5 ml de chaque extrait (extrait de la plante non digérée et des trois des phases de digestion : salivaire, gastrique et intestinale) sont ajoutés à 1,5 ml d'éthanol 80 % et 0,1 ml d' $AlCl_3$ à 10 % avec 0,1 ml d'acétate de sodium 1 M. Après incubation du mélange à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 415 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercetine/ g de matière fraîche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercetine (de 0 à 1 mg/ml). La concentration des composés flavonoïdes est calculée selon l'équation suivante :

$$QF = \frac{C_0 V_0 F}{m}$$

Où :

QF : la teneur en tanins en mg EQ/ g de matière fraîche

m : la masse de la plante utilisée pour l'extraction

C0 : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EQ/ml

V0 : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml

F : le facteur de dilution= V_m/V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

Dosage des tanins : 2ml d'extrait d'ail triquètre , liquide salivaire ,liquide gastrique et liquide intestinale sont additionnés à un volume de 2 ml du réactif butanol-HCL (77mg $FeSO_4$ dissouts dans 500ml butanol-HCL(2 ;3)) . Le mélange est ensuite incubé à 95°C pendant 15 minutes .Les tanins se dissocient sous l'effet de la chaleur en milieu acide donnant une coloration spécifique, l'absorbance est mesuré à 530 nm .La concentration des tanins est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide tannique .La teneur en tanins est exprimée en mg EAT/ g de matière fraîche.

La concentration des tanins est mesurée selon l'équation suivante :

$$QT = \frac{C_0 V_0 F}{m}$$

Où :

QT : la teneur en tanins en mg EAT/ g de matière fraîche

m : la masse de la plante utilisée pour l'extraction

C0 : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EAT/ml

V0 : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml

F : le facteur de dilution= V_m/V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

Détermination de l'activité antioxydante : Compte tenu de la complexité des mécanismes d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de mesurer le potentiel antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, on utilise différents tests pour déterminer l'activité antioxydante. Les antioxydants peuvent piéger les radicaux libres par deux mécanismes : par transfert d'électron ou par transfert d'atome d'hydrogène. Les méthodes

DPPH[•] et ABTS^{•+}) permettent le transfert d'un atome d'hydrogène. Le DPPH[•] est un radical commercial directement utilisable, alors que l'ABTS^{•+} doit être généré par une réaction enzymatique ou chimique. La solubilité des deux radicaux est différente : ABTS^{•+} est soluble en milieux organique et aqueux tandis que DPPH[•] est soluble uniquement dans des solvants organiques (plus particulièrement alcoolique). Le test à l'ABTS^{•+} permet donc l'étude de tous les agents hydrophiles et lipophiles. Le test au DPPH[•] est plus restrictif.

Détermination de l'activité anti oxydante par la méthode DPPH : Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 6mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 160 µl de DPPH sont ajoutés à 1 ml des différentes concentrations de solutions d'extrait de la plante digérée et non digérée (0-1 mg/ml). L'incubation est à l'obscurité pendant 2 heures et la lecture se fait à 517nm. Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures séparées ± écart type.

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I\% = \frac{A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}}{A \text{ blanc}} \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans l'éthanol).

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

Les concentrations d'extrait en fonction des pourcentages du DPPH inhibé, ont été tracées afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH[•] (Sharififar *et al.*, 2007).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins de la plante non digérée Les teneurs des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins

Détermination de l'activité antioxydante par la méthode ABTS

La méthode de piégeage du radical libre ABTS[•] suivie est celle décrite par Re *et al.* (1999) avec légères modifications. Pour la préparation de la solution d'ABTS, 5 ml d'eau ont été mélangés avec 19,2mg d'ABTS et 3,3 mg de K₂S₂O₈ ensuite le mélange est incubé à l'obscurité pendant 16h. 16µl d'ABTS sont ajoutés à 1 ml des différentes concentrations de solutions d'extrait digérée et non digérée (0-1 mg/ml). L'incubation se fait à l'obscurité pendant 10 minutes et la lecture est effectuée à 734nm.

L'activité anti oxydante a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$I\% = \frac{A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}}{A \text{ blanc}} \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc (ABTS dans l'éthanol)

A échantillon : Absorbance du composé d'essai

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS ont été tracés en fonction des concentrations d'extrait pour déterminer l'index IC50.

Analyse statistique : Les moyennes plus ou moins l'écart type des trois répétitions ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées par Excel 2010. Les moyennes ont été comparées par analyse de variance ANOVA à un seul facteur suivi par test *Post hoc* - Tukey à l'aide du logiciel SPSS (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.). Les lettres en exposant ; a, b, c, d indiquent une différence significative au seuil de signification 0,05.

d'ail triquètre non digérée sont consignés dans la Fig.1

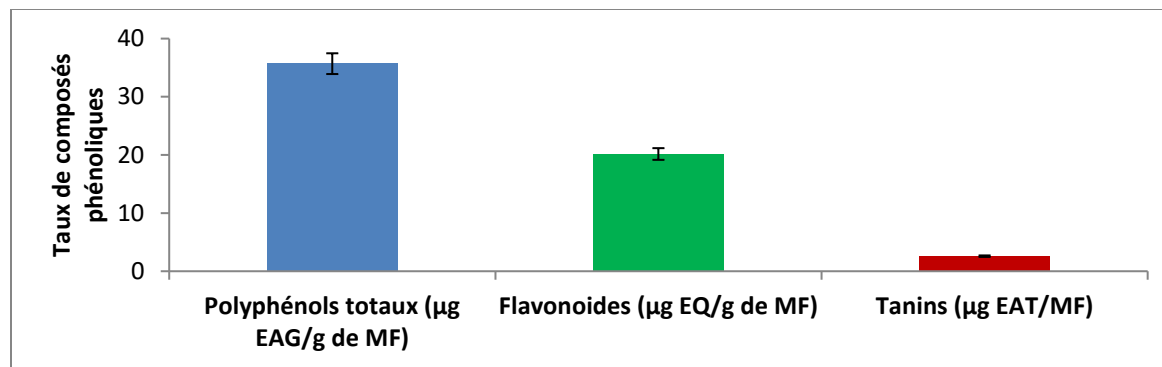


Fig.1 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins d'ail triquètre non digérée

Les résultats obtenus indiquent que les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins sont de $35.69 \pm 0.004 \mu\text{g EAG/mg MF}$, $20.16 \pm 0.0002 \mu\text{g EQ/g de MF}$ et $2.59 \pm 2.47 \cdot 10^{-5} \mu\text{g EAT/g de MF}$, respectivement. Plusieurs études ont montré la richesse d'ail triquètre en composés phénoliques (Corea *et al.*, 2003 ; Maccelli *et al.*, 2020). En comparant les résultats obtenus avec d'autres travaux qui ont été réalisés dans ce contexte, on trouve que le taux des polyphénols totaux ($35.69 \pm 0.004 \mu\text{g EAG/g de MF}$) obtenu dans notre étude est inférieur à ce rapporté par Menacer *et al.* (2017) qui ont exprimé les résultats par rapport l'ail triquètre sec et qui ont trouvé une teneur de $14.31 \pm 0.36 \text{ mg EAG/g MS}$. De même, Himed (2015) a testé l'effet de deux modes d'extraction (extraction par microonde et par macération) sur la teneur en polyphénols totaux des feuilles et des bulbes d'ail triquètre, elle a trouvé que les teneurs en polyphénols sont de 10,049 et 9,810 mg EAG/g PS pour l'extraction par microonde et par macération, respectivement. Tandis que Benchennaf et Babouche (2018), qui ont signalé que la teneur en polyphénols totaux est de $338.85 \pm 2.771 \text{ mg EAG/100g MS}$ pour les bulbes et $1645 \pm 34.77 \text{ mg EAG/100g}$ les feuilles d'ail triquètre. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires principaux d'ail triquètre. Selon Corea *et al.* (2003), la fraction flavonoïdique d'ail triquètre comporte des C-glycosylflavones, des aglycone flavonique et des kaempferol glycosides. Selon Maccelli *et al.* (2020), la quantification des composés phénoliques par

HPLC a permis d'identifier les flavonoïdes suivant : quercétine, naringénine, naringine 7-O-glycoside et catéchine. La teneur des flavonoïdes obtenue dans notre étude ($20.16 \pm 0.0002 \mu\text{g EQ/g de MF}$) est inférieure à celle rapporté par Menacer *et al.*, (2017) qui ont trouvé un taux de $22.12 \pm 0.33 \text{ mg EQ /MS}$. Par contre Notre résultats est proche de Himed (2015) qui a montré que la teneur en flavonoïdes varie entre $19 \mu\text{g EQ/g MS}$ pour l'extraction par macération et $12 \mu\text{g EQ/g MS}$ pour des échantillons obtenus par une extraction microonde. Cependant le taux en tanins obtenu dans notre étude est relativement proche à ce obtenu par Himed (2015) qui a trouvé que l'extraction par micro-onde préserve mieux les tanins par rapport à l'extraction par macération. Les taux enregistrés dans cette étude sont de l'ordre de $32 \mu\text{g EAT/g PS}$ (pour l'extraction par microonde) et $22 \mu\text{g EAT/g PS}$ (pour l'extraction par macération). Cette différence entre nos résultats et ceux obtenus par les autres chercheurs est peut-être dû au temps, aux saisons de la récolte, aux conditions climatiques, conditions d'extraction et du dosage lui-même qui pourraient jouer un rôle critique sur la composition et les caractéristiques structurales des principaux composés bioactifs d'ail triquètre (Rodríguez-González *et al.*, 2012 ; Ray et Aswatha, 2013). Selon Rawel *et al.* (2005), les méthodes de conservation, de séchage et la lumière peuvent affecter la teneur en flavonoïdes.

Effet de la digestion gastro-intestinale sur les composés phénoliques d'ail triquètre
Effet de la digestion gastro-intestinale sur la teneur en polyphénols totaux : Les effets des

trois phases de digestion sur les teneurs en polyphénols totaux d'ail triquètre sont illustrés dans la Fig. 2.

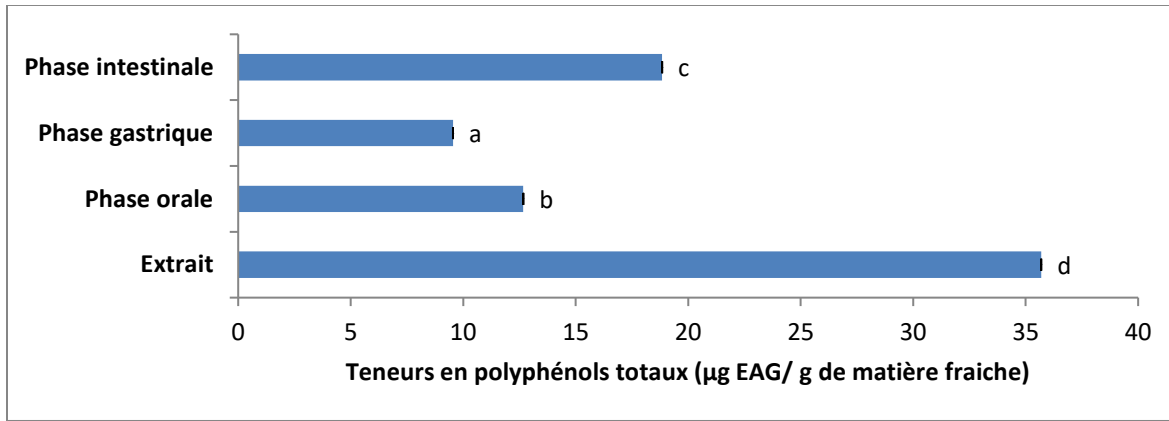


Fig.2 : Effet de la digestion *in vitro* sur les teneurs en polyphénols totaux d'ail triquètre. Les lettres a, b, c et d indiquent une différence significative entre les teneurs en polyphénols de la plante non digérée et digérée au seuil de signification de 0,05

L'analyse de la variance a montré l'existence d'une différence significative ($P < 0,05$) entre les différentes teneurs en polyphénols totaux des trois phases de digestion (salivaire, gastrique et intestinale) et la plante non digérée. Le test de comparaisons multiples (annexe) entre les différents groupes montrent que les quatre phases (Extrait d'ail non digéré, phase salivaire, phase gastrique et phase intestinale) se différencient significativement ($p < 0,05$). A la lecture des résultats obtenus, on constate que la valeur la plus élevée est observée pour l'extrait avec $35.69 \pm 0.004 \mu\text{g EAG/g}$ de matière fraîche. La digestion *in vitro* affecte la teneur en polyphénols totaux qui diminue progressivement depuis la phase salivaire avec

$12.67 \pm 0.0004 \mu\text{g EAG/g}$ de matière fraîche ; passant par la phase gastrique avec $9.54 \pm 0.007 \mu\text{g EAG/g}$ de matière fraîche, suivi d'une augmentation au cours de la phase intestinale avec $18.84 \pm 6.70 \cdot 10^{-5} \mu\text{g EAG/g}$ de matière fraîche.

Effet de la digestion gastro-intestinale sur la teneur en flavonoïdes : Le dosage des FT d'ail triquètre digéré et non digéré a été effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), à partir de la courbe d'étalonnage du quercétine. Les résultats sont exprimés en microgramme (μg) équivalent de quercétine par gramme de matière fraîche et sont représentés dans la Fig. 3.

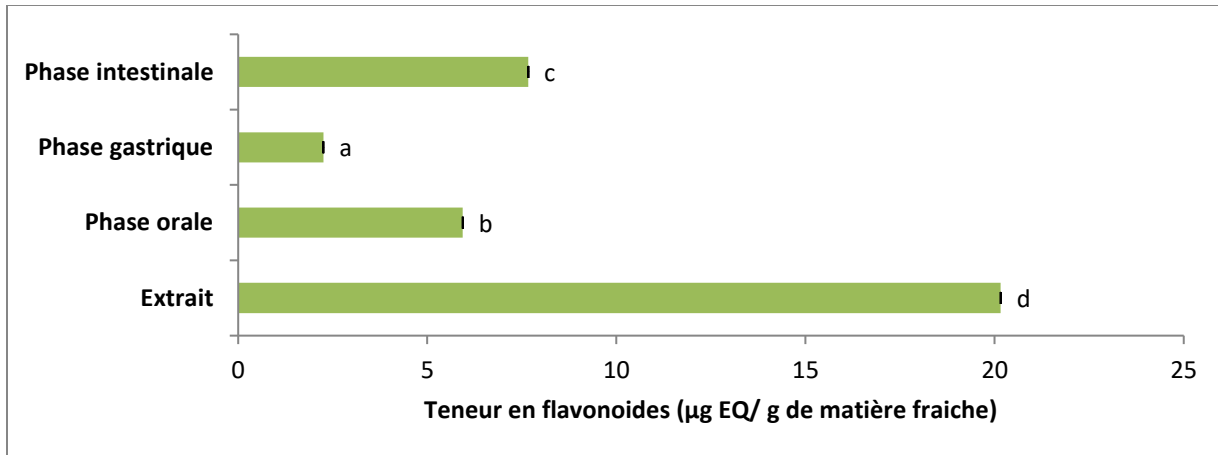


Fig.3. Effet de la digestion *in vitro* sur les teneurs en flavonoïdes d'ail triquètre. Les lettres a, b, c et d indiquent une différence significative entre les teneurs en polyphénols de la plante non digérée et digérée au seuil de signification de 0,05

Une différence significative ($p < 0.05$) a été notée entre l'ail triquètre avant et après digestion (phase salivaire, phase gastrique et phase intestinale). La teneur en flavonoïdes a été réduite à des degrés différents pendant la digestion. Les taux en flavonoïdes sont équivalents à 20.16 ± 0.0002 ; 5.93 ± 0.0005 ; 2.25 ± 0.0001 et $7.67 \pm 0.0002 \mu\text{g EQ/g}$ de matière fraîche non digéré, après digestion salivaire, gastrique et intestinale respectivement. A la lecture des résultats

obtenus, on constate que les deux phases de digestion progressivement la (salivaire, gastrique) semblent provoquer une diminution progressive des taux des flavonoïdes cela est suivi d'un accroissement durant la phase intestinale de digestion.

Effet de la digestion gastro-intestinale sur la teneur en tanins : Les résultats qui illustrent la variation des teneurs en tanins en fonction des phases de digestion sont enregistrés dans la Fig. 4.

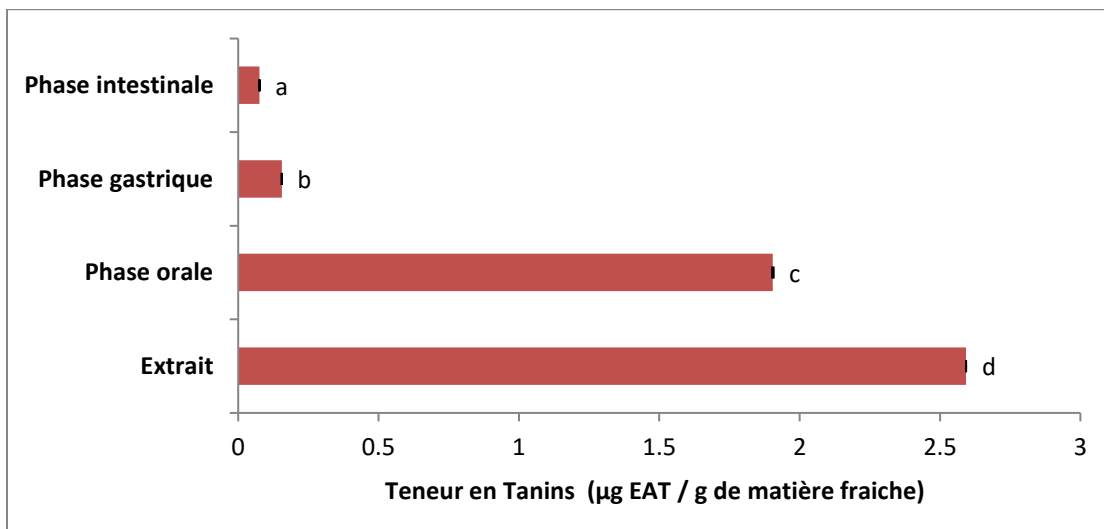


Fig.4 : Effet de la digestion *in vitro* sur les teneurs en tanins d'ail triquètre. Les lettres a, b, c et d indiquent une différence significative entre les teneurs en tanins de la plante non digérée et digérée au seuil de signification de 0,05

Il existe une différence significative ($p < 0.05$) entre les teneurs en tanins de l'ail triquètre non digéré et les différentes étapes de digestion (salivaire, gastrique et intestinale). A la lumière de résultats présentés dans la figure On observe une diminution progressive de la teneur des tanins totaux durant les étapes de

DISCUSSION

Les données de la littérature concernant l'effet de la digestion sur les composés phénoliques d'ail triquètre sont rares. Le plus souvent, seules les teneurs en composés phénoliques de la plante non digérée ou d'autres espèces du genre *Allium* ont été évaluées. Une augmentation de ces composés après digestion gastro intestinale a été signalé par Bhat et Patel (2013) pour *Allium sativum*. De même, ce même constat a été rapporté par Zudaire *et al.* (2017) qui ont étudié la bio accessibilité des polyphénols d'*Allium cepa* L. Les variations des teneurs des composés phénoliques au cours des étapes de digestion de pissenlit dépendent des caractéristiques de la matrice végétale, de l'interaction des composés phytochimiques avec d'autres composants alimentaires et les conditions physiologiques rencontrées dans les différents compartiments du tube digestif. De plus, les propriétés physico-chimiques des composés phytochimiques eux-mêmes sont des paramètres importants (Alminger *et al.*, 2014). La diminution des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) au cours de la phase salivaire est peut être due aux interactions entre les polyphénols d'*Allium triquetrum* et l'enzyme salivaire α -amylase (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2014 ; Jakobek, 2015). Les interactions entre les polyphénols et les protéines ont fait l'objet d'études approfondies dans le passé et ont révélé que les protéines peuvent interagir avec les polyphénols et donc modifier la disponibilité des polyphénols pour la digestion (Nagar *et al.*, 2017) en plus de la formation de l'astringence lorsqu'il s'agit d'une interaction entre les tanins et les protéines salivaires

digestion. Les teneurs en tanins obtenus sont de l'ordre de $2.47 \pm 2.47 \cdot 10^{-5}$; 1.90 ± 0.002 ; $0.15 \pm 9.35 \cdot 10^{-5}$ et $0.07 \pm 8.6 \cdot 10^{-6}$ $\mu\text{g EAT/g}$ de matière fraîche non digéré, après digestion salivaire, gastrique et intestinale respectivement.

(Jakobek, 2015). Lorsqu'ils atteignent l'estomac, les polyphénols sont souvent libérés de la matrice alimentaire et hydrolysés par l'environnement de pH acide, en fonction de leur structure chimique et de l'interaction avec la matrice alimentaire (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2014 ; Arenas et Trinidad, 2017 ; Nagar *et al.*, 2020) et cela peut expliquer la réduction des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) constatée dans notre étude durant la phase gastrique. Certains auteurs Green *et al.* (2007) et Annunziata *et al.* (2018) suggèrent que la transition des polyphénols des milieux gastrique induirait certains changements structurels conduisant ainsi à leur dégradation d'où leur faible teneur à la fin de la digestion, ce qui est en accordance avec les résultats obtenus. Également, l'acidité du milieu gastrique provoque la dégradation des oligomères des flavonoïdes en unités plus petites, en diminuant ainsi leur teneur durant cette phase (Wojtunik-Kulesza *et al.*, 2020). Les interactions entre les composés antioxydants et des constituants alimentaires, tels que les minéraux et les protéines, peuvent également conduire à des formations complexes, et par conséquent provoquer des changements dans la structure chimique des polyphénols, le poids moléculaire et la solubilité au cours de la digestion simulée, ce qui entraîne la diminution de leurs teneurs (Siluana *et al.*, 2017). Certains auteurs ont lié la baisse de la teneur des polyphénols (polyphénols totaux, flavonoides et tanins) au cours de la phase gastrique à l'interaction de ces composés avec la pepsine par le biais d'interactions non covalentes (Jakobek, 2015). Au cours de la

phase intestinale, l'augmentation de la teneur en polyphénols par rapport à la phase gastrique est attribuée à la bioconversion métabolique (méthylation, sulfatation et glucuronidation) des formes natives présentes dans les aliments liés à la matrice végétale et stables aux conditions de digestion gastriques (Alminger *et al.*, 2014 ; Jakobek et Matic, 2018) ce qui augmente leur teneur par rapport à la phase précédente (gastrique) mais elle reste toujours faible par rapport à la plante non digérée. Le métabolisme colique des composés phénoliques commence par l'apparition transitoire des aglycones et la formation subséquente de composés aromatiques hydroxylés et d'acides phénoliques. Les flavones, les flavanones, les flavanols et les acides phénoliques se partagent les métabolites de l'acide hydroxyphénylpropionique tandis que les flavonols (quercétine, myricétine) et les dimères d'acide férulique se partagent les métabolites de l'acide phénylacétique hydroxylé (Aura *et al.*, 2002). De plus, les flavanols produisent également des acides

hydroxyphényl valériques et des dérivés de valerolactone correspondants (Aura, 2008). Les anthocyanes produisent des acides benzoïques, des benzaldéhydes hydroxylés et des acétaldéhydes (Alminger *et al.*, 2014 ; Wojtunik-Kulesza *et al.*, 2020). La diminution de la teneur des tanins au cours de la phase intestinale est due à l'hydrolyse de ces composés. Des études ont montré que les polyphénols sont très sensibles aux conditions alcalines légères dans l'intestin grêle, où la plupart des polyphénols alimentaires sont dégradés ou transformés en d'autres composés (Wojtunik-Kulesza *et al.*, 2020).

Effet de la digestion gastro-intestinale *in vitro* sur l'activité antioxydante d'ail triquètre

Détermination d'IC50 : Pour évaluer l'effet de la digestion gastro-intestinale *in vitro* sur le potentiel antioxydant d'ail triquètre, deux méthodes ont été utilisées (DPPH, ABTS). Les valeurs obtenues d'IC50 pour (DPPH et ABTS) sont montrés dans le tableau 2

Tableau 2 : Valeurs d'IC50

	IC50 DPPH (mg/ml)	IC50 ABTS (mg/ml)
Extrait	0,182± 0,001 ^c	0,107±0,0003 ^a
Phase salivaire	0,111± 8,629 10 ^{-5b}	0,285±0,005 ^c
Phase gastrique	0,106±0,0001 ^a	0,108±0,0001 ^a
Phase intestinale	0,111± 7,244 10 ^{-5b}	0,134±0,004 ^b

*Les lettres a, b et c indiquent une différence significative entre les IC50 (mg/ml) d'ail triquètre non digéré et digéré au seuil de signification de 0,05

Les deux méthodes d'évaluation d'activité antioxydante DPPH, ABTS ont montré que l'ail triquètre présente une forte activité antioxydante. Pour la méthode DPPH, une différence significative ($p < 0.05$) a été notée entre l'extrait de la plante avant et après digestion gastro-intestinale. Une augmentation progressive de l'activité antioxydante progressive a été constatée après la phase salivaire et gastrique de digestion *in vitro*, suivie d'une diminution au cours de la phase intestinale. On remarque qu'il n'existe aucune différence significative ($p > 0.05$) entre la phase

salivaire et intestinale. Dans la phase gastrique, l'activité antioxydante est la plus élevée avec une valeur d'IC₅₀ la plus faible (0,106±0,0001mg/ml) suivie par celle de la phase salivaire et intestinale (0,111± 8,629 10⁻⁵ mg/ml et 0,111± 7,244 10⁻⁵ mg/ml, respectivement). Également, pour la méthode ABTS, une différence significative a été observée entre l'activité antioxydante d'ail triquètre non digéré et la phase salivaire et intestinale de digestion. Par contre, il n'existe aucune différence significative ($p > 0.05$) entre la plante non digérée et la phase gastrique. Les

extraits qui semblent présenter les meilleurs activités antioxydantes sont ceux de d'ail triquètre avant digestion et la phase gastrique ($0,107\pm 0,0003$ mg/ml et $0,108\pm 0,0001$ mg/ml),

DISCUSSION

L'ail triquètre présente une forte activité antioxydante qui a été rapportée par plusieurs auteurs (Himed, 2015 ; Menaceret *et al.*, 2017). Cette activité est peut être liée aux polyphénols et notamment aux flavonoïdes. De nombreuses études ont révélé le capacité élevée des polyphénols de piégeage des radicaux libres (Kumamoto *et al.*, 2001 ; Khokhar et Owusu Apenten, 2003). Pour la phase salivaire, une augmentation de l'activité antioxydante a été obtenue pour la méthode DPPH par contre, une diminution a été enregistrée pour la méthode ABTS. Cela est peut-être du à la nature du milieu réactionnel. Le test DPPH est réactionnel dans un milieu constitué de solvants organiques, tandis que le test ABTS est réalisé dans des conditions aqueuses. En outre, la solubilité des flavonoïdes dans les deux milieux doit être prise en compte. Certains composés bioactifs susceptibles de ne pas être solubles dans les milieux réactionnels ne peuvent pas effectuer des activités d'élimination des radicaux (Floegel *et al.*, 2011). Il a été constaté que, malgré la diminution des polyphénols, flavonoïdes et tanins on remarque une augmentation du pouvoir antioxydant durant la phase gastrique de digestion pour les deux méthodes. Cela est du à la nature chimique des composés engendrés par la digestion gastrique, il existe des composés phénoliques qui exercent une forte activité même en faibles quantités. Selon Hayes *et al.* (2011), l'activité antioxydante dépend la structure des polyphénols généralement du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. Parmi les composés phénoliques, les flavonoïdes sont des composés qui présentent une activité antioxydante élevée (Montoro *et al.*, 2006). La

en première position puis vient la phase intestinale ($0,134\pm 0,004$ mg/ml) et en dernière position la phase orale avec ($0,285\pm 0,005$ mg/ml).

plupart des composés phénoliques restent stables pendant la digestion gastrique. Gayoso *et al.* (2016) ont évalué la bioaccessibilité de certains composés phénoliques en milieu gastrique en utilisant d'étalons : la rutine et l'acide caféique et l'acide rosmarinique. Aucune différence notable n'a été observée entre la quantité initiale soumise à la digestion gastrique et les quantités récupérées, ce qui montre que la digestion gastrique n'a guère altéré la stabilité des trois composés phénoliques étudiés. Ce résultat est peut être aussi expliqué par l'effet de pH du milieu digestif. Plusieurs travaux ont montré qu'un pH acide peut augmenter l'activité antioxydante (Wojtunik-Kulesza *et al.*, 2020). Pour la phase intestinale, la diminution de l'activité antioxydante, par rapport à la phase gastrique pourrait être liée aux changements de pH pendant la digestion (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2016). Elle peut être attribuée aux pertes des composés phénoliques qui présentent une forte activité antioxydante pendant cette phase de digestion et qui est due à leur sensibilité au pH alcalin (Podsędek *et al.*, 2014). L'augmentation de l'activité antioxydante de la phase intestinale par rapport à la phase salivaire pour la méthode DPPH et l'égalité des IC50 observée de ces deux phases pour la méthode ABTS est peut être liée à la destruction de la liaison entre O et H en milieu alcalin, ce qui l'augmente de la capacité anti radicalaire par l'augmentation du potentiel de don des électrons (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2016 ; Siluana *et al.*, 2017). Les résultats obtenus dans notre étude est en concordance avec ceux obtenus par Bhat et Patel (2013) et Zudaire *et al.* (2017) qui ont obtenu aussi une augmentation de l'activité antioxydante après

la digestion gastro-intestinale des espèces *Allium sativum* et *Allium cepa*, respectivement.

CONCLUSION

L'ail triquètre possède une gamme de produits chimiques bioactifs y compris les composés phénoliques qui possèdent une forte activité antioxydante. Les études expérimentales sur des modèles animaux ou les essais cliniques chez l'homme demeurent les meilleures méthodes pour déterminer l'effet de la digestion sur les composants des aliments. Cependant, ces approches sont éthiquement et techniquement difficiles à mettre en place, très coûteuses et difficiles à tester sur un grand effectif. Il convient alors de recourir à des méthodes alternatives comme les systèmes de digestion *in vitro*. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude. Ce travail a pour but l'estimation de l'effet de la digestion *in vitro* sur la teneur en composés phénoliques et sur l'activité antioxydante des parties comestibles (feuilles et bulbes) d'ail triquètre (*Allium triquetrum*). Les résultats obtenus ont montré que la transition dans le milieu gastro-intestinal provoque une diminution de toutes les classes de polyphénols analysées (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins). Cependant, pour la méthode DPPH, une augmentation de l'activité antioxydante par

rapport à la plante non digérée a été constaté. Tandis que la méthode ABTS a montré des effets différents selon la phase de digestion ; le milieu salivaire a provoqué une diminution de l'activité suivie de son augmentation durant la phase gastrique pour qu'elle atteigne une valeur relativement proche de celle de la plante non digérée puis on note un abaissement de cette activité durant la phase intestinale. La phase gastrique a révélé la meilleure activité antioxydante pour les deux méthodes de détermination du pouvoir antioxydant. Ces résultats pourraient servir comme données préliminaires à des analyses futures concernant l'amélioration de la bioaccessibilité des ingrédients bioactifs dans le corps humains. De plus, la disponibilité facile de la matière première encourage en particulier les études futures et la recherche de nouvelles possibilités d'utilisation des extraits d'ail triquètre en médecine, ou comme complément alimentaire en particulier à une époque caractérisée par une recherche intensifiée de nouveaux produits pharmaceutiques et alimentaires naturels.

RÉFÉRENCES

- Alminger M, Aura AM, Bohn T, Dufour C, El SN, Gomes A, Karakaya S, Martinez-Cuesta MC, McDougall GJ, Requena T, et al. (2014). In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 13, 413–436
- Annunziata G, Maisto M, Schisano C, Ciampaglia R, Daliu P, Narciso V, Tenore G C, Novellino E (2018). Colon Bioaccessibility and Antioxidant Activity of White, Green and Black Tea Polyphenols Extract after In Vitro Simulated Gastrointestinal Digestion. *Nutrients*, 10, 1711
- Arenas EH, Trinidad TP (2017). Fate of polyphenols in pili (*Canarium ovatum* Engl.) pomace after in vitro simulated digestion. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(1), 53-58.
- Aura AM (2008). Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochem. Rev.*, 7, 407–429.
- Aura, AM, O'Leary KA, Williamson G, Ojala M, Bailey M, Puupponen-Pimia R, Nuutila

- AM, Oksman-Caldentey KM, Poutanen K. (2002). Quercetin derivatives are deconjugated and converted to hydroxyphenylacetic acids but not methylated by human fecal flora in vitro. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 725–730
- Benchennaf K, Babouche K (2018). Étude des paramètres d'extraction des composés phénoliques du poireau sauvage *Allium* sp et activité antioxydante. mémoire master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj
- Bhatt AV, Patel V. (2013). Antioxidant activity of garlic using conventional extraction and in vitro gastrointestinal digestion. *Free Radicals and Antioxidants*. 3, 30–34
- Blood K (2001). Environmental weeds: a field guide for SE Australia, Jerram CH and Associates Science Publishers, Mt. Waverly.
- Bouayed J, Deußner H, Hoffmann L, Bohn T (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following in vitro digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131(4), 1466–1472
- Chen GL, Chen SG, Zhao YY, Luo CX, Li J, Gao YQ (2014). Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after in vitro digestion. *Industrial Crops and Products*, 57, 150–157.
- Corea G, Fattorusso E, Lanzotti V (2003). Saponins and flavonoids of *Allium triquetrum*, *J. Nat. Prod*, 66, 1405–1411.
- Dehpour AA, Ebrahimzadeh MA, Fazel NS, Mohammad NS (2009). Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas y aceites*, 60, 405–412
- Elfalleh W, Hannachi H, Tlili N, Yahia Y, Nasri N, Ferchichi A (2011). Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 4724–4730
- Floegel A, Kim D, Chung SJ, Koo S, Chun O (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 1043–1048
- Gayoso L, Claerbout AS, Calvo MI, Cavero RY, Astiasarán I, Ansorena D (2016). Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the in vitro gastrointestinal digestion models. *J. Func. Foods*, 26, 428–438
- Green RJ, Murphy AS, Schulz B, Watkins BA, Ferruzzi, MG (2007). Common tea formulations modulate in vitro digestive recovery of green tea catechins. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51, 1152–1162
- Hayes JE, Stepanyan V, Allen P, O'Grady MN, Kerry JP (2011). Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. *LWT Food Sci Technol*, 44, 164–172.
- Hebi M, Eddouks M (2015). Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, 14.
- Himed H (2015). Étude des activités antioxydante et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune. Mémoire de magister, Université Constantine 1.
- Jakobek L (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556–567
- Jakobek, L, Matić P (2018). Non-covalent dietary fiber - Polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 10

- Kamiloglu S (2016). Bioavailability and bioactivity of black carrot polyphenols using in vitro digestion models combined with a co-culture model of intestinal and endothelial cell lines. PhD dissertation, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Belgium
- Kamiloglu S, Capanoglu E (2013). Investigating the in vitro bioaccessibility of polyphenols in fresh and sun-dried figs (*Ficus carica* L.). *International Journal of Food Science & Technology*. 48, 2621-2629
- Khokhar S, Owusu-Apenten R (2003). Antinutritional factors in food legumes and effects of processing. EOLSS, IV
- Kumamoto M, Sonda T, Nagayama K, Tabata M (2001). Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechines. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65(1), 126-132
- Liang L, Wu X, Zhao T, Zhao J, Li F, Zou Y, Mao G, Yang L. (2012). In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastro-intestinal digestion. *Food Research International*, 46, 76–82.
- Laib I, Kehal F, Haddad N E, Boudjemia T, Barkat M (2020). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on phenolic compounds and the antioxidant activity of *Aloe vera*. *Acta Scientifica Naturalis*, 7, 3, 11-25.
- Laib I, Kehal F, Arris M, Maameri MI, Lachlah H, Bensouici C, Mosbah R, Houasnia M, Barkat M (2021). Effet de la digestion gastro-intestinale in vitro sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante du thé vert *Camellia sinensis* L. issu de l'agriculture biologique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 35, 3, 212-221.
- Maccelli A, Cesa S, Cairone F, Secci, D, Menghini, L, Chiavarino B, Fornarini S, Crestoni M, Locatelli M (2020). Metabolic profiling of different wild and cultivated *Allium* species based on high resolution mass spectrometry, HPLC-PDA and color analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, 10, 1-12
- Menacer A, Boukhatem MN, Benhelal A, Saïdi F (2017). *In vitro* antioxidant activity of different extracts of Algerian *Allium* plant (*Allium triquetrum* L.). *Rev. des Bio Ressources*, 7, 80–91.
- Minekus M., Alminger M., Alvito P., Balance S., Bohn T., Bourlieu C., Carrière F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C, Egger L, Golding M, Karakaya S, Kirkhus B, Le Feunteun S, Lesmes U, Macierzanka A, Mackie A, Marze S, McClements DJ, Ménard O, Recio I, Santos CN, Singh RP, Vegarud GE, Wickham MS, Weitschies W, Brodkorb A. (2014). A standardized static in vitro digestion method suitable for food - An international consensus. *Food & Function*, 5, 1113–1124.
- Montoro P, Tuberoso C, Maldini M, Cabras P, Pizza C (2008). Qualitative profile and quantitative determination of flavonoids from *Crocus sativus* L. petals by LC-MS/MS. *Natural product communications*, 3, 12
- Nagar EE, Okun Z, Shpigelman A (2020). Digestive fate of polyphenols: updated view of the influence of chemical structure and the presence of cell wall material. *Current Opinion in Food Science*, 31, 38-46
- Parsons WT, Cuthbertson EG (2001). Noxious weeds of Australia, Csiro Publishing, Collingwood, 2nd edn.
- Podsędek A., Redzynia M., Klewicka E., Koziółkiewicz M. (2014). Matrix effects on the stability and antioxidant activity of red cabbage anthocyanins under simulated gastrointestinal

- digestion. *BioMedical Research International*, 1–14.
- Rabah S, Kouachi K, Ramos P, Gomes A, Almeida A, Haddadi-Guemghar H, Madani K, Silvestre A, Santos S (2020). Unveiling the bioactivity potential of *Allium triquetrum* L. lipophilic fraction: chemical characterization and in vitro antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Food & Function*. 11.
- Rawel HM, Meidtnr K, Kroll J (2005). Binding of selected compounds to protein. *JAgric. Food.chem.*, 53, 4228-4235
- Ray A, Aswatha S (2013). An analysis of the influence of growth periods on physical appearance, and acemannan and elemental distribution of *Aloe vera* L. gel. *Industrial Crops and Products*, 48, 36– 42.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice- Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med*, 26, 1231
- Rodríguez-González, V, Femenia, A, Minjares-Fuentes J, González-Laredo R (2012). Functional properties of pasteurized samples of *Aloe barbadensis* Miller: Optimization using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 47, 225-232.
- Sharififar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M, Khoshnoodi M (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss". *Food Cont.*, 18,800–805
- Silvana S., Vales A, Dagher H, Bergamo G, Azevedo M, Nehring P, Gonzaga L, Fett R, Costa A (2017). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds, minerals, and antioxidant capacity of *Mimosa scabrella* Benth honeydew honeys. *Food Research International*, 99
- Soriano-Sancho RA, Pavan V, Pastore GM (2015). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International*, 76, 74–78.
- Talens P, Mora L, Bramley PM, Fraser PD (2016). Antioxidant compounds and their bioaccessibility in tomato fruit and puree obtained from a DETIOLATED-1 (DET-1) down-regulated genetically modified genotype. *Food Chemistry*, 213,735-741
- Velderrain-Rodríguez G, Palafox H, Wall A, Ayala-Zavala JF, Chen O, Sánchez M, García H, Alvarez-Parrilla E, Aguilar G (2014). Phenolic compounds: their journey after intake. *Food Function*, 5(2), 189-197.
- Velderrain-Rodríguez G, Quirós-Sauceda A, Mercado-Mercado G, Ayala-Zavala J F, Astiazarán-García H, Robles-Sánchez RM, González-Aguilar GA (2016). Effect of dietary fiber on the bioaccessibility of phenolic compounds of mango, papaya and pineapple fruits by an in vitro digestion model. *Food Science and Technology, Campinas*, 36, 188–194
- Walsh, NG, Entwisle TJ (1994). *Flora of Victoria Volume 2: Ferns and Allied Plants, Conifers and Monocotyledons*. (Inkata Press, Melbourne).
- Waterhouse, A., (1999). Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine. *Food Anal.Chem.*, 299,152-78.
- Wojtunik-Kulesza K, Oniszczyk A, Oniszczyk T, Combrzyński M, Nowakowska D, Matwijczuk A(2020). Influence of In

- Vitro Digestion on Composition, Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Food Polyphenols—A Non-Systematic Review. *Nutrients*, 12, 1401
- Ydjedd S, Bourriche S, Nicolas RL, Frontela-Saseta C, Ros-Berruezo G, Rezgui Fet al. (2017). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on encapsulated and non encapsulated phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua l.*) pulp extracts and their antioxidant capacity. *Agricultural and Food Chemistry*, 65, 827-835
- Zudaire L, Vinas I, Abadias M, Simó, J, Echeverría G, Plaza L, Aguiló-Aguayo I (2017). Quality and bioaccessibility of total phenols and antioxidant activity of calçots (*Allium cepa* L.) stored under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 129,118-128