



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



**Université Amar Thelidji- Laghouat**

FACULTE : TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT : GÉNIE DES PROCÉDÉS

## **MEMOIRE DE MASTER**

Présenté par : Maamri Fatima Zahra

DOMAINE : Sciences et Technologies

FILIERE : Génie des procédés

OPTION : Génie de l'environnement

### **Thème**

**Evaluation de l'activité antioxydante de  
l'extrait phénolique *d'Atriplex halimus***

#### **Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
AMEUR Kheira	MAA	Présidente
MAHDJOUBI Hadj Aissa	MCB	Examineur
GUENANE Hadjira	Pr	Rapporteur
DJEKIDEL Elallia	Doctorante	Co-rapporteur

**Promotion : JUIN 2025**

# **Remerciements**

*En premier lieu, je remercie Allah tout puissant de m'avoir  
donné le courage et santé pour réaliser cette étude*

*Je tiens à remercier vivement*

*Mme. Professeur **Guenane Hadjira** pour m'avoir encadrée,  
pour ses précieuses remarques constructives et son suivi pour  
mener à terme cette étude.*

*Mes remerciements sont aussi pour Mme. le docteur*

***AMEUR Kheira**, qui m'a fait l'honneur de présider*

*ce jury de mémoire, à Mr. le docteur **MAHDJOURI Hadj***

***Aissa** pour avoir acceptés d'examiner*

*ce mémoire.*

*J'exprime ma reconnaissance à Mme. **Djekidel Elallia** pour son  
aide au niveau du laboratoire de département de génie des  
procédés.*

*En dernier lieu, mes remerciements sont aussi pour tous ceux  
qui*

*m'ont aidé de près ou de loin à élaborer cette modeste étude.*

# Dédicaces

A mes très chers parents

A ma très chère sœur

A mon très cher frère

A toute ma famille

A mes chers amis

A tous ceux qui me sont chers

A tous ceux qui aiment la science

Je dédie ce modeste mémoire

# Sommaire

Liste des Tableaux .....	
Liste des Figures .....	
<i>Introduction générale</i> .....	1
<i>Partie bibliographique</i> .....	3
<i>Chapitre I: Généralités sur Atriplex halimus</i> .....	4
I.1. Atriplex halimus .....	5
I.2. Description Botanique .....	5
I.4. Composition chimique .....	7
I.5. Localisation géographique .....	7
<i>Chapitre II</i> .....	9
<i>Les métabolites secondaires et activité antioxydante</i> .....	9
II.1. Les métabolites secondaires .....	10
II.1.1 Types et origine des métabolites secondaires .....	10
II.1.1.1 Les terpènes .....	10
II.1.1.2 Composés azotés ou alcaloïdes .....	10
II.1.1.3 Composés phénoliques .....	11
II.2. Activité antioxydante .....	13
II.2.1 Le stress oxydatif .....	14
II.2.2 Les antioxydants .....	14
a) Définition .....	14
II.2.2.1. Types des antioxydants .....	15
II. 2.2.2 Utilisation des Antioxydants .....	15
<i>Partie expérimentale</i> .....	17
<i>Chapitre III</i> .....	18
<i>Matériels et méthodes</i> .....	18
III.1. Méthodes de Travail .....	19
III.2. Produits chimiques et instruments .....	20
III.3 L'échantillonnage et Traitement .....	21
III.3.1 Matériel végétal : .....	21
III.3.1.1. Préparation des extraits bruts .....	22
III.4. Analyse quantitative .....	22
III.4.1. Dosage de polyphénols totaux .....	22
III.4.2. Dosage de flavonoïdes .....	23
III.5. Évaluation de l'activité antioxydante .....	23

III.5.1 Test de piégeage du radical libre DPPH .....	24
III.5.2. Test de Phosphomolybdate .....	25
III.5.3 Test de FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power).....	26
III .5.4 Test l'ABTS.....	28
<i>Chapitre IV</i> .....	30
<i>Résultats et discussions</i> .....	30
IV.1 Dosage des Polyphénols Totaux et Flavonoïdes Totaux .....	31
IV.1.1 Dosage de polyphénol totaux:.....	31
IV.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	31
IV.2 Evaluation de l'Activité Antioxydante .....	32
IV.2.1. Test de DPPH .....	32
IV.2.2. Test de Phosphomolybdate.....	34
IV.2.3. Test Pouvoir Réducteur: FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) .....	35
IV.2.4. Test ABTS.....	35
<i>Conclusion générale</i> .....	37
<i>Références</i> .....	39
<i>Annex</i> .....	44

# Liste des Tableaux

Tableau I-1: La classification d'Atriplexhalimus.....	6
Tableau II-2: Classification et structure des différents flavonoïdes. ....	13
Tableau III-3: Produits chimiques et instruments .....	20
Tableau IV-4 : Teneurs en phénols totaux.....	30
Tableau IV-5 : Teneurs en flavonoïdes.....	31
Tableau IV-6 : valeurs des IC50 pour le DPPH.....	32
Tableau IV-7: valeur VCEAC par le test du Phosphomolybdate.....	33
Tableau IV-8: valeur de VCEAC par le test de FRAP.....	34
Tableau IV-9 : valeurs des IC50 Pour le test de l'ABTS.....	34

# Liste des Figures

Figure I-1: Plantes d'Atriplex halimus .	6
Figure I-2 : Les wilaya tres repondue en Atriples halimus en algerie	8
Figure II-3 : Groupements phénoliques	11
Figure II-4: structure chimique du phénol	12
Figure II-5 :Le transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre	15
Figure III-6 : Organigramme expliquant les différentes étapes dans notre travail	19
Figure III-7 : Traitement préliminaires de la partie aérienne	20
Figure III-8- : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	22
Figure III-9: Courbe d'étalonnage de la rutine.....	23
Figure III-10 : Reaction intervenant lors du test DPPH•	24
Figure III-11 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	26
Figure III-12: Réaction d'un antioxydant avec le FRAP.	27

# Liste des abréviations

- **A<sub>0</sub>** : l'absorbance de la solution DPPH
- **Abs extrait** : L'absorbance de l'échantillon *ABTS*<sup>•+</sup> après ajout de l'extrait testé à une concentration initiale et un temps donné.
- **Abs témoin** : L'absorbance du radical *ABTS*<sup>•+</sup> + Ethanol.
- **Abs**: Absorbance
- **ABTS** :2,2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)
- **AH** : donneurs d'hydrogènes
- **AO**: les agent oxydants
- **As** : l'absorbance de l'extrait de l'échantillon lorsque la solution a été ajoutée.
- **BHA** : butylated hydroxy anisole
- **BHT** : butyl hydroxy toluene
- **C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>** : Acétate d'éthyle.
- **C<sub>6</sub>** : Phénols Simples.
- **C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>** : Acides Hydrox Benzoïques.
- **C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>** : Stilbènes.
- **C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>** : Acides Hydrox Cinnamiques.
- **C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>** : Flavonoïde .
- **C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>** : Acide Gallique.
- **DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
- **EAG** : Equivalent d'Acide Gallique
- **EAG/gMS** : Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière Sèche.
- **ER/g MS** : Equivalent de rétiné par gramme de Matière Sèche
- **ERO** : les espèces réactives de l'oxygène
- **Fe(III)-TPTZ** : Le complexe Tripyridyltriazine ferrique.
- **FRAP** : Ferric Reducing Antioxydant Power.
- **H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>** : Acidesulfurique
- **H<sub>8</sub> MN<sub>2</sub> O<sub>4</sub>** : Molybdate d'ammonium
- **IC<sub>50</sub>** : la concentration de l'extrait exprimée nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH .
- **Mo (V)** : molybdène (V)

- **Mo (VI):** molybdène (VI)
- **OH :** Le Radical Hydroxyle
- **PI% :** Pourcentage d'inhibition.
- **TROLOX:** 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
- **VCEAC:** capacité antioxydante équivalente à la vitamine c

***Introduction  
générale***

La nature est une source d'agents médicinaux depuis des milliers d'années. Les médicaments populaires de presque toutes les civilisations du monde regorgent de plantes médicinales. En dépit de plusieurs progrès dans le domaine des médicaments et des antibiotiques de chimie synthétique, les plantes continuent d'être l'une des principales matières premières pour les médicaments traitant divers maux de l'homme. **(Benhouda et al., 2014)**

La flore algérienne est riche de plusieurs milliers d'espèces médicinales, parmi ce vaste patrimoine naturel on trouve *l'Atriplexhalimus* connue localement par «Guettaf ». C'est une plante qui appartient à la famille des Chenopodiaceae, elle se retrouve dans les zones steppiques en Algérie. En médecine traditionnelle, elle est largement connue pour ces propriétés hypoglycémiantes et hypolipémiantes et pour le traitement des maladies cardiaques et le rhumatisme **(Walker et al., 2014 ;Nedjimi et al., 2013)**.

Elle est utilisée aussi pour soigner les inflammations des voies urinaires (cystites) **(Emam, 2011)**. A notre connaissance, peu d'études sont effectuées sur les activités biologiques de cette plante. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude de *l'Atriplexhalimus* pour évaluer leurs activités antioxydantes, antidiabétiques et antibactériennes. Ce présent travail de recherche s'articule sur deux grandes parties:

- Partie de synthèse bibliographique qui est consacrée à des généralités sur la plante *Atriplex halimus*, et sur les activités biologiques.
- Partie expérimentale qui contient le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail, les résultats obtenus et leur discussion. A la fin, une conclusion et perspective donnent une idée générale sur le présent travail.

*Partie*  
*bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Généralités sur Atriplex halimus*

## I.1. *Atriplex halimus*

*L'Atriplex halimus*, est une plante présente dans diverses régions algériennes, Cette dernière est réputée pour sa biodiversité abondante, et parmi les espèces végétales présentes, la plante est traditionnellement utilisée à des fins médicinales. Par exemple, elle est employée pour soigner les affections respiratoires comme la toux et l'asthme, ainsi que les problèmes digestifs tels que les douleurs d'estomac et la diarrhée. De plus, on lui attribue des propriétés cicatrisantes, et elle est appliquée localement sur les coupures et les plaies (**Belkhodja et al., 2012**). *L'Atriplex halimus* est une espèce qui présente une grande variabilité, avec de multiples formes et variétés adaptées aux diverses conditions environnementales. Il peut se présenter sous la forme d'un arbuste rampant et étalé, ou bien d'un petit arbre pouvant atteindre une hauteur de 6 mètres. Les feuilles, de petite taille, sont épaisses et charnues, souvent revêtues de minuscules cristaux de sel. Les fleurs sont modestes et regroupées en grappes denses le long des tiges (**Maas et Poss, 1989**).

## I.2. Description Botanique

*Atriplex halimus*(noms usuels : Guettaf, Arroche, Pourpier de mer) est un arbuste de 1 à 3 m de haut, très rameux, formant des touffes pouvant atteindre 1 à 3 m de diamètre (**AL-turkiset al., 2000**). Les feuilles sont alternes, brièvement mais nettement pétiolées, plus ou moins charnues, luisantes, couvertes de poils vésiculeux blanchâtres (trichomes), ovales, entièrement ou légèrement sinuées, de 0,5 à 1 cm de large sur 2 à 4 cm de long (**Talamaliet al., 2003**).

Les plantes d'*Atriplex halimus* sont monoïques et portent des inflorescences en panicules d'épis, terminales, avec des fleurs mâles au sommet et des fleurs femelles à la base. La floraison - fructification se déroule de mai à décembre (**Talamaliet al., 2003**), il existerait deux types d'architecture florale de base, l'une est constituée de fleurs mâles pentamères et l'autre de fleurs femelles munies d'un unique carpelle inséré entre deux bractées opposées (**Nedjmiet al., 2013**).



**Figure I-1:**Plantes d'*Atriplex halimus* .

### I.3. la classification de plante *Atriplex halimus*

**Tableau I-1:**La classification d'*Atriplex halimus*

Règne	Plante
Sous règne	Tracheophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Caryophyllidae
Ordre	Cariophyllales
Famille	Chenopodiaceae
Genre	<i>Atriplex</i>
Espece	<i>Atriplex halimus</i>

## I.4. Composition chimique

Atriplexhalimus est une plante qui fournit les vitamines A, C et D. Elle renferme des composés tels que les tanins, les flavonoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les acides gras, les stérols, les acides aminés et les sucres. Elle contient également des fibres, des sels minéraux (Hadjadj et al., 2015 ; Chikhi et al.,2014;Nedjimi et al.,2013; Abbad et al.,2004).

## I.5. Localisation géographique

Atriplexhalimus est originaire d'Afrique (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Égypte, Kenai, Tanzanie, Mozambique, Namibie, Afrique du Sud et Madagascar). Il a été acclimaté autour du bassin méditerranéen puis introduit avec succès sur le littoral atlantique. Il est actuellement réparti sur le littoral de la Méditerranée, de l'Atlantique, de la Manche. Il croît à proximité de la mer, sur les dunes fixées et les fourrés. Il est souvent planté pour former des haies et par foissubspontané .

En Algérie :

L'Atriplex est spontané dans les étages bioclimatiques semi-aride et arides, les plus grandes superficies correspondent aux zones dites steppiques (Batna, Biskra, Bousaada, Djelfa, Saida, Tebessa et Tiaret). (Pouget, 1980).



**Figure I-2 :** *Les wilaya tres repondue en Atriplex halimus*

# *Chapitre II*

*Les métabolites  
secondaires et  
activité  
antioxydante*

## II.1. Les métabolites secondaires

Une des particularités des végétaux est de synthétiser de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé. Ces substances appelés métabolites secondaires sont généralement doués d'activités biologiques diverses et sont appelés biomolécules végétales. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces végétales montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire). Ce sont des métabolites appelés « secondaires », qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui même, rôle de défense, rôle de résistance ( **Merghem . R.**  ).

### II.1.1 Types et origine des métabolites secondaires

On peut identifier trois types de métabolites secondaires (**Labrani ,2002**):

- les composés phénoliques ou les polyphénols, qui dérivent de la voie de l'acide shikimique et acétate/malonate).
- les alcaloïdes ou les composés azotés qui dérivent des acides aminés.
- les terpènes qui dérivent de l'IPP (isopentényl pyrophosphate), une molécule à 5C.

#### II.1.1.1 Les terpènes

Avec plus de 25000 composés, les terpènes sont la classe la plus importante de métabolites secondaires. Naturellement produit par les plantes, ils sont caractérisés par une nature volatile et une forte odeur. Ils donnent aux fleurs les parfums qui les caractérisent. De plus, ils ont beaucoup d'autres fonctions au niveau de la photosynthèse (constituant de la chlorophylle), de la photoprotection (caroténoïde) (**Labrani ,2002**).

#### II.1.1.2 Composés azotés ou alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés d'origine naturelle azotés basiques à forte activités biologiques, toxiques pour la plupart, qui sont extrait en majorité de plante à fleurs (8,7% de Phanérogames, Dicotylédones) (**Labrani ,2002**).

### II.1.1.3 Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils sont caractérisés par la présence de groupements phénoliques: 1 ou plusieurs cycles aromatique (benzéniques) porteurs de 1 ou plusieurs OH.

Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. Ils présentent près de 8000 molécules divisées en une dizaine de classes chimiques (Stalikas, 2007). Chaque classe est caractérisée par la présence d'un noyau benzoïque auquel un ou plusieurs groupes hydroxyles sont directement liés (Macheix et al., 2005).

Les polyphénols sont répartis en différents groupes, définis en fonction de la structure de leur squelette carboné. Les acides phénoliques ( $C_6-C_1$  et  $C_6-C_3$ ) et surtout les flavonoïdes ( $C_6-C_3-C_6$ ) sont les plus fréquemment retrouvés dans le règne végétal. Les lignanes ( $C_6-C_3-C_3-C_6$ ), moins répandus. Le dernier groupe est celui des stilbènes ( $C_6-C_2-C_6$ ); le plus connu est le resvératrol, présent dans la peau du raisin. Les flavonoïdes représentent le groupe le plus vaste des polyphénols et le plus largement distribué dans le règne végétal. Plus de 4000 flavonoïdes différents ont été identifiés. Plusieurs classes de flavonoïdes sont retrouvées dans notre alimentation. Elles diffèrent par le degré d'oxydation du noyau hétérocyclique oxygéné.

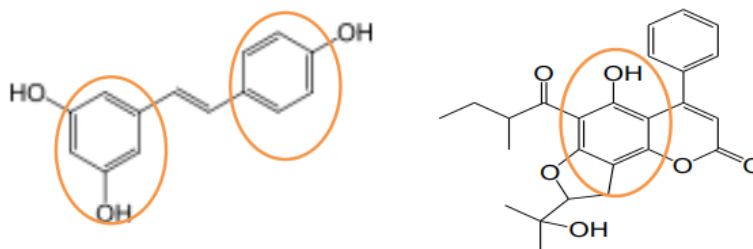


Figure 2-II : Groupements phénoliques

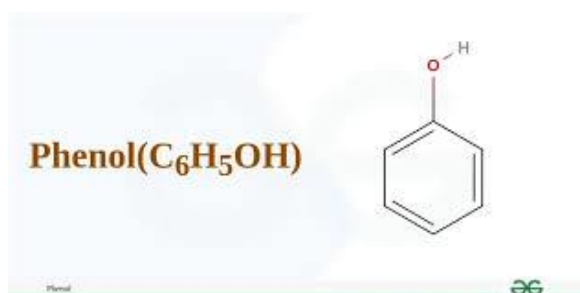
#### A. Les différentes classes des composés phénoliques

##### a. Les phénols

Les phénols simples ( $C_6$ ) sont rares dans la nature, exemple le catéchol, phloroglucinol...).

### b. La structure chimique du phénols

Le phénol, également connu sous le nom d'acide carbolique, a une structure chimique simple. Il est constitué d'un cycle benzénique auquel est attaché un groupe hydroxyle (-OH). La formule chimique du phénol est  $C_6H_5OH$ . Le cycle benzénique est un cycle hexagonal de six atomes de carbone avec des liaisons simples et doubles alternées entre eux. Le groupe hydroxyle est attaché à l'un des atomes de carbone du cycle benzénique.



**FigureII- 3:**structure chimique du phénol

### c. Les acides phénoliques

Ces substances organiques sont les formes les plus simples des composés phénoliques. Ils possèdent au moins une fonction hydroxyle et une fonction carboxyle. Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque ( $C_6-C_1$ ) ou de l'acide cinnamique ( $C_6-C_3$ ).

### d. Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal.

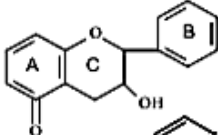
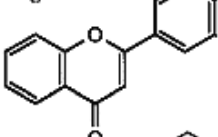
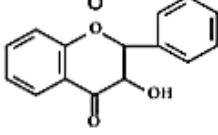
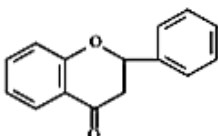
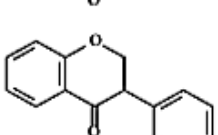
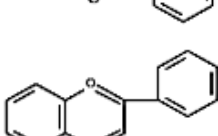
Les flavonoïdes sont des substances pigmentaires hydrosolubles végétales responsables de la couleur variée des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 4000 composés différents identifiés dans le règne végétal.

- **La structure chimique des flavonoides**

Les flavonoïdes ont été mis en évidence en 1936, dans le zeste de citron, par Albert Szent-Györgyi, un Hongrois qui reçut le prix Nobel de Médecine en 1937 pour avoir isolé la

vitamine C. Ces molécules possèdent toutes un squelette chimique commun (diphényle propanes constitués de deux noyaux aromatiques, liés par trois atomes carboniques). Les flavonoïdes sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes, les flavones et flavonols représentent 80% des flavonoïdes.

**Tableau II-2 :** Classification et structure des différents flavonoïdes.

Classe	Structure générale	Flavonoïde
Flavanol		(+)-catéchine (+)-épicatéchine épigallocatechine gallate
Flavone		chrysine apigénine rutine lutéoline lutéoline glucosides
Flavonol		kaempferol quercétine
Flavanone		myricétine tamarixétine naringine taxifoline hesperidine
Isoflavone		génistine génistéine
Anthocyanidine		apigénidine cyanidine

### e. Les tannins

Ce sont des polyphénols polaires d'origine végétale, existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines, leurs poids moléculaire s'étendent de 500 à 3000.

## II.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le 3-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes

hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie. à la capacité de ces composés à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O<sub>2</sub>) (**Rice-Evans et al ,1995 ; Bartosz,G .2003.**)

### **II.2.1 Le stress oxydatif**

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (AO). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels. Les ERO sont des espèces chimiques oxygénées telles que les radicaux libres, ions oxygénés, peroxydes, rendues chimiquement très réactives par la présence d'électrons de valence non appariés dans l'orbitale la plus externe. L'équilibre est rétabli soit par oxydation (perte de cet électron libre) ou par réduction (gain d'un autre électron). Le caractère radicalaire de la molécule ne disparaît pas, l'électron libre peut passer sur d'autres molécules, c'est le phénomène d'oxydation en chaîne.

#### **II.2.1.1 Radical libre**

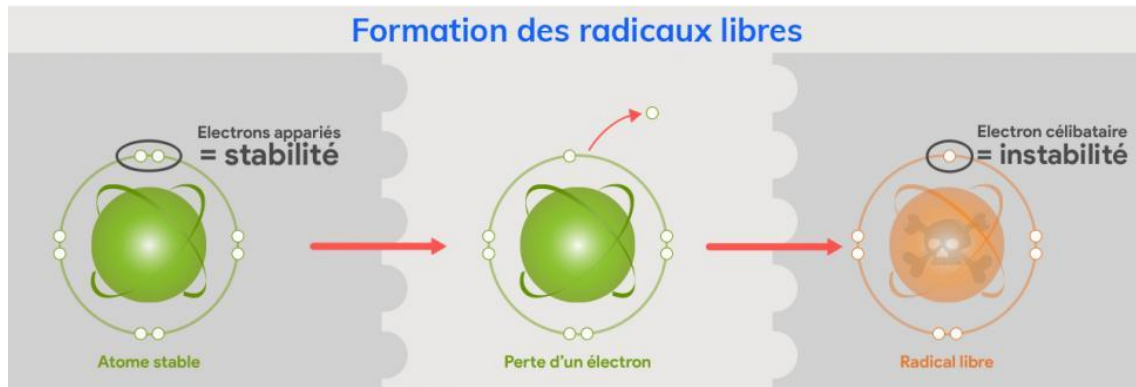
Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres .

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les formes activées de l'oxygène. La réactivité particulière de l'oxygène est due à la structure bi radicalaire de la molécule. Les radicaux libres sont issus du métabolisme physiologique mais ils peuvent aussi être, produits lors de « déviations » du métabolisme cellulaire.

### **II.2.2 Les antioxydants**

#### **a) Définition**

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Servais, 2004**).



**Figure II- 4 :**Le transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre

### II.2.2.1. Types des antioxydants

Les cellules disposent de systèmes de défenses antioxydants classés en antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques (Loïc, 2011 ; Gardèsset *al.*, 2003).

### II. 2.2.2 Utilisation des Antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui ralentit ou empêche totalement l'oxydation des cellules en combattant les radicaux libres. Mais que sont les radicaux libres?

ce sont deux mots simples pour expliquer un phénomène chimique assez complexe. Pour faire simple, les radicaux libres sont des atomes déséquilibrés inévitablement présents dans notre organisme. Pour s'accrocher, ces radicaux libres vont avoir besoin de se fixer sur d'autres cellules et ils les rendront libres à leur tour. Sans ça, ils s'attaqueront à toutes les cellules saines de votre corps et seront la cause du vieillissement prématuré de la peau dans le meilleur des cas, et du développement de cancers dans le pire des cas. Pour briser cette chaîne sans fin, il faut consommer des antioxydants.

Les antioxydants sont naturellement présents dans les aliments et empêchent les radicaux libres d'oxyder les cellules de notre organisme. Grâce à eux, il est possible de rompre la chaîne de création des radicaux libres et donc de limiter voire stopper la dégradation et le vieillissement prématuré des cellules.

Le corps est capable de produire naturellement ses propres antioxydants. En revanche, lorsque la quantité de radicaux libres est supérieure aux antioxydants, l'organisme ne peut pas se défendre seul. Il subit alors ce qu'on appelle le stress oxydatif. Comme de nombreuses études scientifiques le rappellent, celui-ci va engendrer des maladies dégénératives comme la maladie d'Alzheimer ou des maladies cardio-vasculaires. Les radicaux libres sont également

responsables du vieillissement prématuré de la peau et de certains cancers. Il est donc nécessaire d'apporter des antioxydants supplémentaires à l'organisme par l'alimentation pour se défendre efficacement contre les radicaux libres.

Selon plusieurs études scientifiques, les molécules d'antioxydants empêchent l'oxydation des graisses qui peuvent avoir des conséquences négatives sur la bonne santé des vaisseaux sanguins. Ce sont particulièrement les caroténoïdes qui permettent de diminuer le mauvais cholestérol (LDL-cholestérol) dans le sang limitant ainsi la formation de maladies cardiovasculaires. **(BACH, maxdegenie, 2020)**

*Partie*  
*expérimentale*

# *Chapitre III*

## *Matériels et méthodes*

### III.1. Méthodes de Travail

Notre travail de recherche est réalisé au niveau du laboratoire de génie des procédés de l'université Ammar Telidji de Laghouat, l'ensemble des méthodes expérimentales que nous avons mené dans ce travail se structure comme illustré l'organigramme suivant :

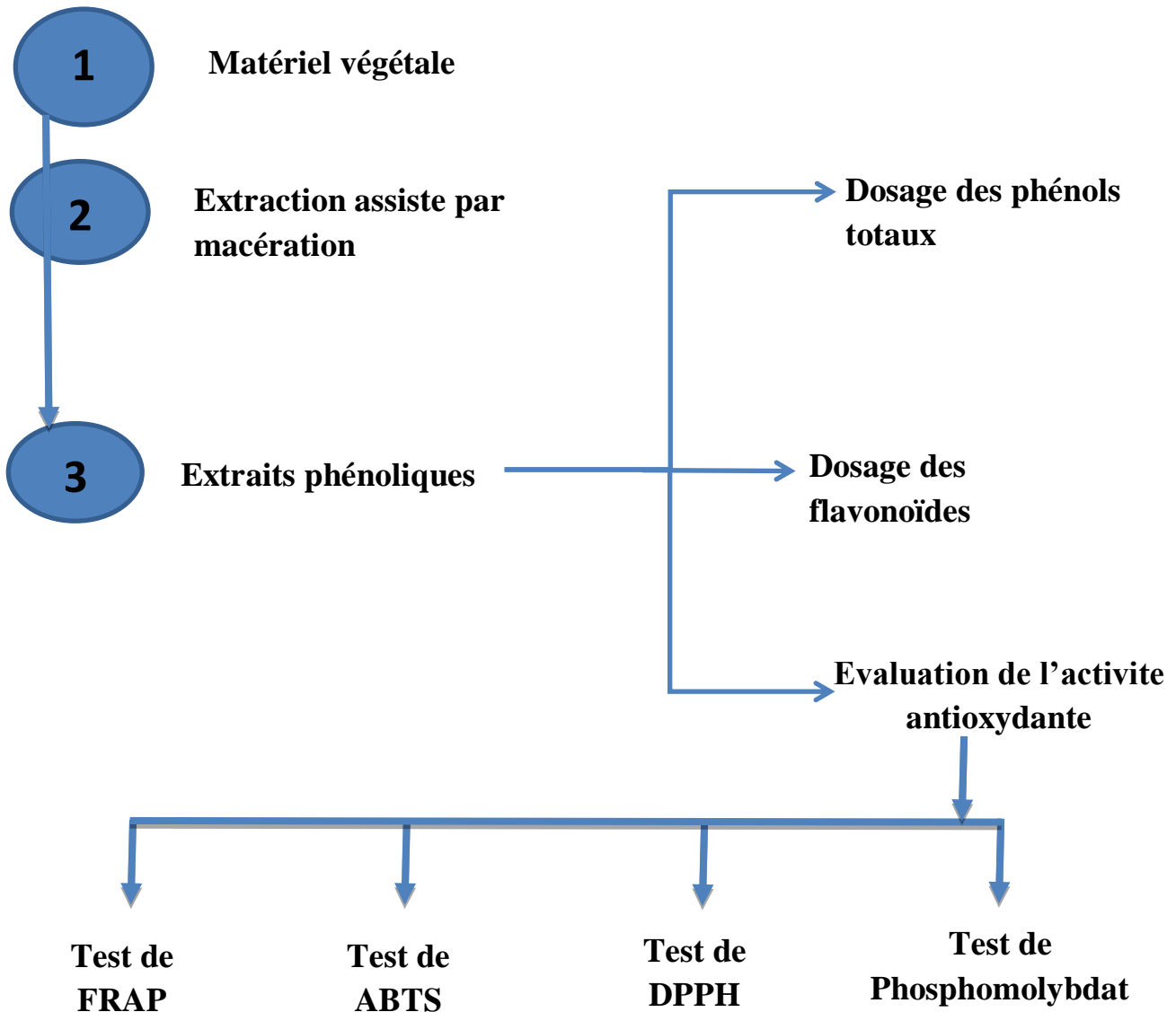


Figure III-6 : Organigramme expliquant les différentes étapes dans notre travail

### III.2. Produits chimiques et instruments

L'ensemble des Produits Chimiques Et Instruments utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans le tableau suivant :

**Tableau III-3:**Produits chimiques et instruments

Produit	Marque	Instruments	Marque
Methanol I (CH <sub>3</sub> -OH)	SIGMA-ALDRICH		
Ethanol( C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O)	SIGMA-ALDRICH	Spectrophotomètre UV-visible	Shimadzu
Folin – ciocalteu	SIGMA-ALDRICH	Etuve	Memmert
Carbonate de sodium ( Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	SIGMA-ALDRICH	Balance électrique	KERN ABS
Monomolybdate d'ammonium (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> MnO <sub>4</sub>	BIOCHEM	Moulin acafe	Moulinex
Acide ascorbique (vitamine C)	ANALAR NORMAPUR	Micropipette	EASY
Rutine	SIGMA-ALDRICH	Bain-marie	Memmert
Chlorure d'aluminium (AlCl <sub>3</sub> )	MERCK	Micropipette	Socorex
DPPH(C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> )	ALADRICH		
Acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	SIGMA-ALDRICH		
Hexacynoferrate de potassium (K <sub>3</sub> [Fe (CN) <sub>6</sub> ])	SIGMA-ALDRICH		
Acide gallique	SIGMA-ALDRICH		
Phosphate monopotassique (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	SIGMA-ALDRICH		
Phosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	SIGMA-ALDRICH		
Chlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> )	BIOCHEM		
Phosphate disodique (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	SIGMA-ALDRICH		
Acide trichloroacétique(C <sub>2</sub> HCl <sub>3</sub> O <sub>2</sub> )	SIGMA-ALDRICH		

### III.3 L'échantillonnage et Traitement

#### III.3.1 Matériel végétal :

Notre étude est portée sur la plante d'*Atriplex halimus* L, récoltée durant le mois de Janvier 2025, dans la wilaya de Laghouat . Les parties aériennes d'*Atriplex halimus* L ont été utilisées lors de la présente étude.

La plante a été séchée à température ambiante avant d'être broyée à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisés avec un tamis de 0,75  $\mu\text{m}$ .



**Figure III -7** : Traitement préliminaires de la partie aérienne

### III.3.1.1. Préparation des extraits bruts

Une quantité de 5 g de poudres de la partie aérienne d'*AtriplexHalimus* a été mise en contact avec un système de solvant eau/éthanol aux proportions (20/30) (v/v). Le mélange est laissé macérer pendant 72 heures, à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Le mélange a été filtré sur un papier filtre. L'extrait obtenu est conservé dans un flacon ombré en verre dans un réfrigérateur à -4 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

## III.4. Analyse quantitative

### III.4.1. Dosage de polyphénols totaux

La concentration en polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1974). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constituée d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

On met 100 µl d'extrait ou de l'acide gallique sont mélangés avec 200 µl du réactif Folin-Ciocalteu à 10 % et 2 ml d'eau distillé, après 2 min on ajoute 1ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV-visible. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E). En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme référence.

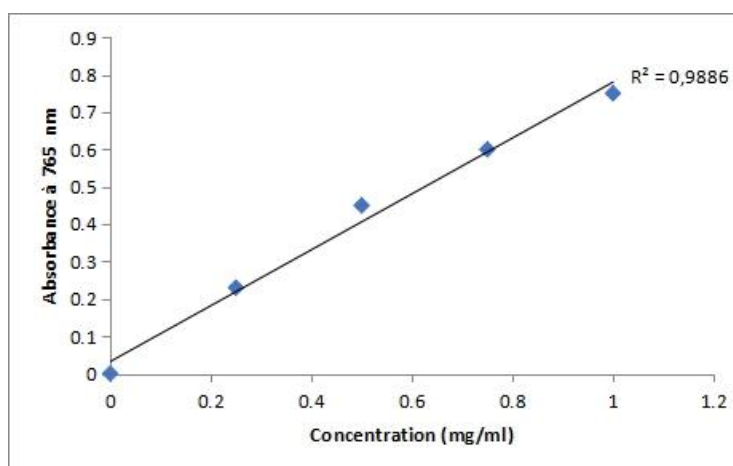


Figure III -8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### III.4.2. Dosage de flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes contenus dans les extraits de feuilles de *thymus capitatus* a été effectué par une méthode basée sur la formation de complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (méthode colorimétrique) (Bahorunet *al.*, 1996). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 430 nm.

Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la rutine. On met 1,5 ml d'extrait ou de rutine, avec 1,5 ml d' $AlCl_3$  à 3,6%, puis le mélange est vigoureusement agité, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard rutine (0- 0,05 mg/ml), et sont exprimées en milligramme de rutine par gramme d'extrait (mg ER/g E).

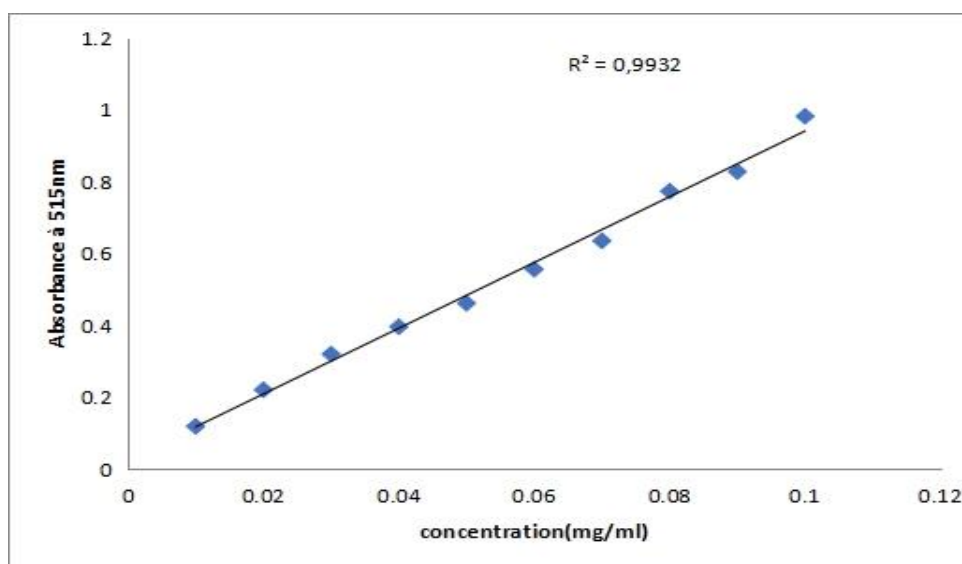


Figure III -9: Courbe d'étalonnage de la rutine

### III.5. Évaluation de l'activité antioxydante

Les méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un produit pur ou d'un mélange (l'extrait phénolique) sont nombreuses. Parmi lesquelles on a adopté les méthodes : la méthode de DPPH (2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle), et la méthode de phosphomolybdate et la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

### III.5.1 Test de piégeage du radical libre DPPH

#### a. Principe

Le DPPH (2,2 diphényl-1- picrylhydrazyle) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 517 nm. Le protocole expérimental suivi pour étudier l'activité du piégeage du radical libre DPPH est celui décrit par McCune et Johns (2002), légèrement modifié par Dosseh et al. (2014).

Le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pale (forme d'hydrazine) .

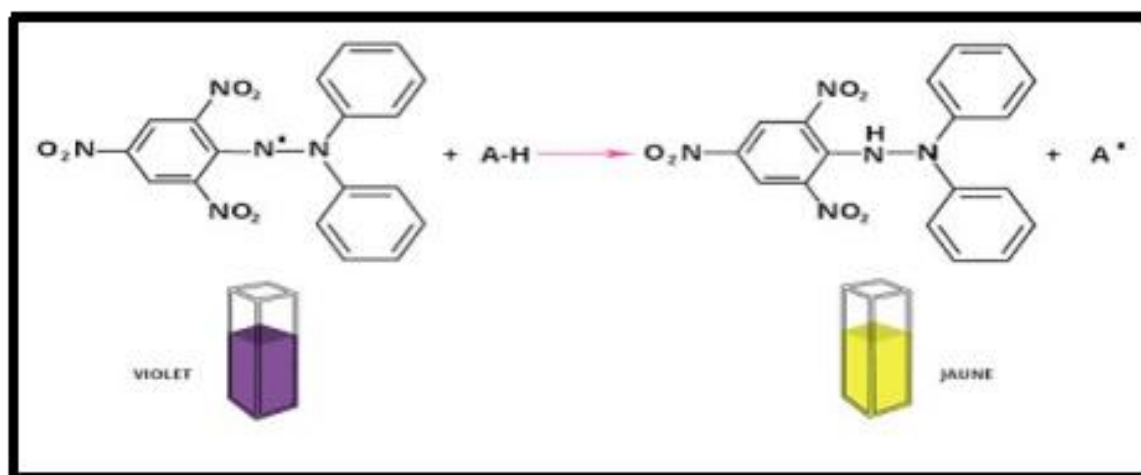


Figure III -10 :Réaction intervenant lors du test DPPH•

#### b. Mode opératoire

- Nous avons préparé une solution de DPPH (0,024 mg/ml) par solubilisation de 2.4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol (La valeur d'absorbance doit être comprise entre 0,7 et 0,8. Si la valeur d'absorbance est supérieure à 0,8 la solution est diluée avec du méthanol).
- Les tubes de dosages contiennent 200µl de différentes concentrations de l'extrait ou de l'acide ascorbique et 1,800 ml de solution de DPPH.
- Le mélange est laissé à l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes et mesurée à 517 nm.

### c. Expression des résultats

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$PI\% = \left[ \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \right] \times 100 \quad (1.III)_1$$

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits, permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition ( $IC_{50}$ ), une faible valeur de la  $IC_{50}$  correspondant à une grande efficacité de l'extrait.

Le calcul des  $IC_{50}$  a été réalisé graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. La valeur de la  $IC_{50}$  est exprimée en mg/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

Où :

$A_0$  : Est l'absorbance de la solution DPPH

$A_s$  : Est l'absorbance de l'extrait de l'échantillon lorsque la solution a été ajoutée.

L'activité antioxydant est exprimé ensuite par la valeur de  $IC_{50}$  en mg/ml, les valeurs de l' $IC_{50}$  ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire l'inhibition en fonction de la concentration .

Sachant que l' $IC_{50}$  est la concentration efficace d'antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% d'une mole du radical DPPH

## III.5.2. Test de Phosphomolybdate

### a. Principe

La méthode de (Prieto et al.1999) a été employée pour évaluer la capacité réductrice des extraits phénoliques. Cette méthode est basée sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à l'étage d'oxydation (V) en présence de l'antioxydant. Cette réduction, se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre à un pH acide détectable dans le visible à 695 nm.

### b. Mode opératoire

0,2 ml de chaque extrait dilué est ajouté à 2 ml de la solution de réactif phosphomolybdique contenant le Molybdate d'ammonium (1.483%), phosphate de sodium (0.766%) et l'acide sulfurique (10%) préparé dans l'eau distillée. Le mélange a été placé dans un bain marie à une température 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement à une température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 695 nm. Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant différentes concentrations de la vitamine C ; les résultats sont exprimés comme (mmole de vitamine C) par g et la capacité réductrice exprimés en tant qu'équivalent de la vitamine C.

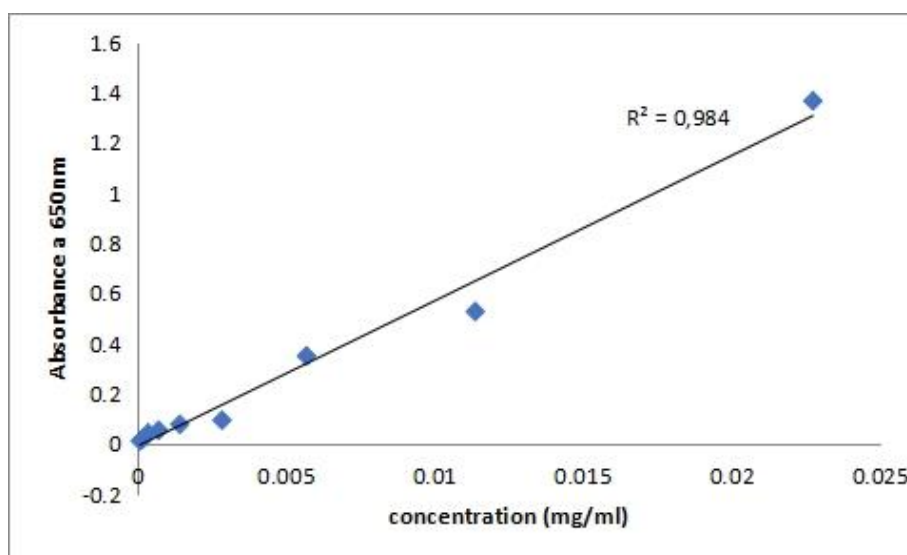


Figure III-11 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

### III.5.3 Test de FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power)

#### a. Principe

Les métaux sont en général les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de pro-oxydants.

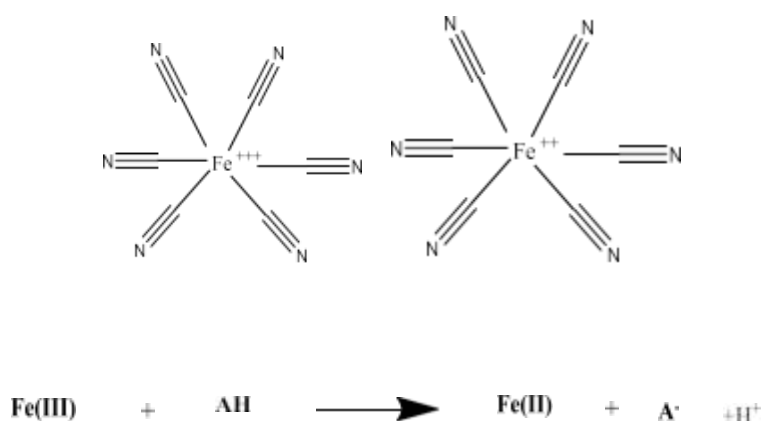
Parmi ces métaux, le cation ferrique  $Fe^{3+}$  est le plus actif et on le retrouve souvent dans les aliments d'origine végétale ou animale.

Le pouvoir réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydant.

L'activité antioxydant, non enzymatique, d'inhibition de radicaux libres et de la peroxydation lipidique, est généralement contrôlée par des réactions d'oxydo- réduction.

La méthode de FRAP peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique. La capacité totale en antioxydant de chaque extrait de plante est déterminée par la méthode adaptée par (Hinneburg,1998).

Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)- TPTZ)] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleu-vert, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (Figure) . La variation de la coloration est mesurée 700 nm (Bassene. 2012)



**Figure III-12:** Réaction d'un antioxydant avec le FRAP.

### b. Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé par la méthode de FRAP (Bassène, 2012). Ainsi, 0,1 ml d'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 2 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH=6,6) et 2 ml d'hexacyanoferrate de potassium  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$  à 1%. Après une incubation du mélange à 50 °C pendant 20 minutes, 0,2 ml d'acide trichloracétique 10 % y était ajouté, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tours/mn pendant 10 minutes. Ensuite, 2 ml du surnageant de chaque tube est mélangé avec 0,2 ml eau distillé et 0,4 ml d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 0,1% et mesurer les absorbances à 700 nm, Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant différentes concentrations de la vitamine C ; les

résultats sont exprimés comme (mmole de vitamine C) par g et la capacité réductrice exprimés en tant qu'équivalent de la vitamine C.

### III .5.4 Test l'ABTS

#### a. Principe

Le test de piégeage des radicaux ABTS est défini comme une méthode basée sur le transfert d'électrons utilisée pour mesurer la capacité antioxydante totale des composés en réduisant le cation radical ABTS<sup>•+</sup> bleu foncé en ABTS incolore, qui peut être quantifié par spectrophotométrie



Cette réaction est suivie par spectrophotométrie par la variation de spectre d'absorption

#### b. Mode opératoire

La solution ABTS<sup>•+</sup> était préparée en mélangeant 7 mM de sel ABTS avec 2.45 mM de persulfate de potassium dans 25 mL d'eau distillée, à la température ambiante dans l'obscurité et conservée pendant 16 h avant l'utilisation. La solution ABTS<sup>•+</sup> a été diluée avec de l'éthanol à 95% (environ 600 µL ABTS<sup>•+</sup> à 40 mL d'éthanol à 95%), afin d'obtenir une absorbance de 0,7 à 0,8 à 734 nm. 50 µl d'extrait est ajouté à 1.450 mL de la solution radicalaire d'ABTS<sup>•+</sup>. Le mélange est incubé à 37°C à l'abri de la lumière pendant 30 min. Un contrôle constitué de 50 µL de MeOH et de 1.450 mL de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> est lu avec chaque série d'extrait à 734 nm. L'éthanol à 95% utilisé comme un blanc. Tous les tests sont reproduits au moins trois fois (**Dorman et Hiltunen, 2004**).

La capacité de piégeage des radicaux libres a été exprimée par la concentration effective IC<sub>50</sub> de l'antioxydant (mg/mL) qui représente la concentration nécessaire pour récupérer 50% de radicaux d'ABTS<sup>•+</sup>

L'acide ascorbique (0.5mg/ml) est utilisé comme antioxydant standard

- Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$PI = \left[ \frac{(Abs_{\text{temoin}} - Abs_{\text{extrait}})}{Abs_{\text{temoin}}} \right] \times 100 \quad (2.III) 2$$

- **PI** : Pourcentage d'inhibition
- **Abs témoin** : L'absorbance du radical  $ABTS^{\bullet+}$  + Ethanol.
- **Abs extrait** : L'absorbance de l'échantillon  $ABTS^{\bullet+}$  après ajout de l'extrait testé à une concentration initiale et un temps donné.

# *Chapitre IV*

## *Résultats et discussions*

## IV.1 Dosage des Polyphénols Totaux et Flavonoïdes Totaux

### IV.1.1 Dosage de polyphénol totaux:

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g de matière sèche)

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau IV-4.

**Tableau IV -4 :** Teneurs en phénols totaux

Extrait	Teneurs en phénols totaux (mg EAG/g MS )
Extrait hydroéthanolique d' <i>Atriplex halimus L</i>	8,001± 0,092

Les résultats du tableau IV-4 révèlent que la teneur en polyphénols de l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne d'*A.Halimus* est de 8,001± 0,092 mg EAG/g MS.

**Bouaziz et al. (2021)** ont trouvé des valeurs supérieures de l'ordre de  $37.93 \pm 0.002 \mu\text{g}$  d'acide gallique/g d'extrait. Paradoxalement nos résultats sont supérieurs à ceux de **Bounour et al. (2022)** qui sont de  $1.092 \pm 0,08$  mg EAG/g d'extrait.

Toutefois, une étude comparative des extraits méthanolique et aqueux des parties aériennes d'*Atriplexhalimus* établis par **Boukhalfa et Bouraya (2019)**, a présenté des résultats nettement supérieurs aux nôtres. L'extrait aqueux a relevé la présence d'une teneur en polyphénols totaux de  $374.43 \pm 2.62$  mg EAG /g MS.

Cette variabilité en teneurs est probablement due à la nature, le volume de solvant utilisé, type d'extraction, la période de récolte, aux facteurs génotypiques (**El Waziry, 2007**), les conditions biotiques (Espèce, organe et l'étape physiologique), les facteurs abiotiques (facteurs édaphiques) (**Ksouri et al.,2008**), la situation géographique ; la nature du sol et le type du microclimat et aux conditions de stockage (**Atmani et al., 2009 ; Allaoui et al. 2016**) et également aux étages bioclimatiques où poussent ces espèces.

### IV.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits phénoliques ont été estimées par la méthode de  $\text{AlCl}_3$ . La spectrophotométrie UV/Vis a permis de quantifier le taux des flavonoïde

présent dans les extraits préparés *d'Atriplex halimus*. Les résultats du dosage des flavonoïdes sont présentés dans le Tableau IV-5 , ils sont exprimés en mg ER/g MS

**Tableau IV -5** : Teneurs en flavonoïdes

Extrait	Teneurs en flavonoïdes totaux (mg EAG/g MS )
Extrait hydroéthanolique <i>d'Atriplexhalimus L</i>	6,969± 1,661

Il en ressort des résultats du **tableau IV-5** que l'extrait hydroéthanolique *d'Atriplex halimus L* renferme une teneur en flavonoïdes de 6,969± 1,661 mg.ER/g MS .Notre résultat est en désaccord avec les résultats publiés par **Zeghib et Boutlelis (2021)** qui ont trouvé une valeur de 4.024±0.00013 mg EQ/g d'extrait.

Par contre, la teneur rapportée par **Bounour et al. (2022)** est de 0,848 ±0,01 mg EQ/g d'extrait, faible par rapport à notre résultat.

Ces résultats ne sont pas corroborés avec ceux obtenus par **Bouaziz et al. (2021)** sur la même espèce végétale, les teneurs en flavonoïdes sont de 18.86 ± 0.01µg EQ/ mg d'extrait.

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

## IV.2 Evaluation de l'Activité Antioxydante

### IV.2.1. Test de DPPH

Test DPPH requis étudié l'activité antioxydant de l'extrait *d'Atriplexhalimus* étudiée afin de préjuger et localiser la fraction la plus active. Les résultats sont exprimés en IC<sub>50</sub> qui est définit comme étant la concentration de l'extrait exprimée nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH et calculée à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I % en fonction de la concentration de chaque extrait ,De même, L'efficacité est estimée à partir de l'activité de l'acide ascorbique , BHT et BHA comme référence standards.

Il faut rappeler que plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est petite plus l'activité antioxydant des extraits est grande. Les résultats obtenus de ce test sont regroupés dans le Tableau IV-6

Tableau IV-6 : valeurs des IC<sub>50</sub> pour le DPPH

Les extraits	IC <sub>50</sub> (mg /ml)
Extrait hydroéthanolique d' <i>Atriplexhalimus</i>	0,154±0,018
Acide ascorbique	0.0011±0.005
BHT	0.001269±0.002
BHA	0.00785±0.0004

Selon les valeurs du tableau présenté, nous constatons que l'ordre de la puissance antioxydante du plus fort au plus faible est l'acide ascorbique, suivi du BHT, puis du BHA, puis de l'extrait d'*Atriplex halimus*.

De là, nous concluons que l'extrait de la plante *Atriplex halimus*, qui a une valeur de 0,154±0,018 mg /ml a montré une activité antioxydante, mais elle est très faible par rapport aux références BHT, BHA et acide ascorbique. Cependant, sa valeur n'est pas complètement faible, ce qui indique que la plante contient des composés actifs qui peuvent être utiles comme antioxydants naturels, mais ils sont moins efficaces que les composés standards.

Nos résultats de l'activité anti-radicalaire sont relativement inférieure à ceux de **Bouaziz et al. (2018)** qui ont trouvé une valeur d'IC<sub>50</sub> égale 0.02 mg/ml pour l'extrait aqueux de la même espèce végétal.

Dans une autre étude, **Khaldi et al. (2015)** a révélé une valeur d'IC<sub>50</sub> faible pour l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* de la région de Mascara et était de l'ordre de 5.8 mg/ml.

Néanmoins, ces résultats sont en désaccord avec les résultats obtenus par **Benhammou et al. (2009)** et **Gattouche et al. (2020)** qui montrent que le pouvoir antioxydant contre le radical DPPH des extraits méthanoliques et éthyle-acétate est très faible avec des valeurs élevées des IC<sub>50</sub> obtenues (31.83 et 11.75mg/ml, respectivement).

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols (**Rjeibi et al. 2016**).

### IV.2.2. Test de Phosphomolybdate

La capacité antioxydante s'exprime par la réduction de l'ion Mo (VI) en Mo (V) , La complexation de ce dernier avec le phosphate abouti à une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de l'extrait **Prasad et al. (2009)**. L'activité antioxydante est mesurée selon un nouveau terme appelé VCEAC (vitamine C Equivalent Antioxidant Capacité). On définit le VCEAC comme la concentration molaire de la solution de vitamine C qui possède un pouvoir réducteur équivalent à solution de concentration 1 M de composé étudié. L'évolution de l'activité antioxydante de nos extraits de tiges de rétama Reatam est comparée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) et cela en traçant une courbe d'étalonnage de ce dernier

Le paramètre VCEAC, plus la valeur de VCEAC est importante, plus le pouvoir antioxydant des extraits est important. Les différentes valeurs de VCEAC calculés pour chaque extrait sont regroupées dans le Tableau IV-7 .

**Tableau IV-7** : valeur VCEAC par le test du Phosphomolybdate

Extrait	VCEAC (M)
Extrait hydroéthanolique <i>d'Atriplex halimus L</i>	0,0067±0,00038

La valeur obtenue pour la capacité antioxydante équivalente à la vitamine c (VCEAC) de l'extrait *d'Atriplex halimus* est de 0,0067±0,00038 M .telle qu'évaluée par le test du phosphomolybdate , cette valeur indique une activité antioxydante plus faible .

D'après Belhadj et al., 2015. Les valeurs de la capacité antioxydant totale de la fraction acétate d'éthyle de l'atriplex halimus présentent la meilleure activité (de l'ordre de 0,241 mgAA/gMs), ensuite vient la fraction butanolique (de l'ordre de 0,112 mg AA/gMS) et finalement 0,110 mgAA/gMS pour la fraction dichlorométhane de la même plante.

### IV.2.3. Test Pouvoir Réducteur: FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

C'est une méthode de mesure de la capacité des substances de notre extrait à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . C'est une technique rapide, facile et reproductible (Karagozler et al., 2008).

**Tableau IV - 8:** valeur de VCEAC de l'extrait d'*Atriplex halimus* par le test de FRAP

Extrait	VCEAC (M)
Extrait hydroéthanolique d' <i>Atriplex halimus L</i>	0,039±0,005

Les résultats de VCEAC présenté dans le tableau montrent que l'extrait hydroéthanolique d'*Atriplex halimus L* possède une activité antioxydante faible et égale à 0,039±0,005 M

Les résultats de **Benhamouet al. (2009)**, qui sont trouvés que la fraction acétate d'éthyle possède la meilleure capacité réductrice avec une valeur d' $CE_{50}$  1,5 mg/mL, suivie par la fraction butanoïque ( $CE_{50} = 1,76$  mg/mL), et l'extrait méthanolique ( $CE_{50} = 4,55$  mg/mL).

les résultats trouvé par (**Benhamou et al., 2009**) montrent que les extraits des feuilles et des racines d'*Atriplex halimus.L* ont un pouvoir réducteur faible.

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols (Ferreira et al., 2007). Si nous comparons avec nos résultats, nous pouvons dire que l'extrait d'*Atriplex halimus.L* présente une faible présence des molécules responsable au pouvoir réducteur.

### IV.2.4. Test ABTS

La capacité du produit à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber, aussi bien les phases d'initiation que de propagation, implique la création de radicaux. Dans le test l'ABTS, l'activité antioxydant totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical  $ABTS^{\bullet+}$ , obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)).

**Tableau IV -9:** valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées pour le test de l'ABTS

Extraits	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Extrait hydroéthanolique d' <i>Atriplex halimus</i> L	0,059±0,003
TROLOX	0,004 ± 0.0002

Le test ABTS a révélé une IC<sub>50</sub> = 0,059 ± 0,003 mg/ml pour l'extrait d'*Atriplex halimus*, en comparaison avec le TROLOX ( IC<sub>50</sub> = 0,004 ± 0,0002 mg/ml). C'est une meilleure activité, confirme les propriétés antioxydantes de l'extrait et sa capacité à neutraliser les radicaux cationiques ABTS<sup>•+</sup>.

La différence avec le TROLOX (référence synthétique) reste attendue, étant donné la nature brute et complexe de l'extrait végétal.

D'une part **Belhadj et al., 2015**. Les concentrations les plus faibles sont signalées dans l'extrait de la fraction butanolique avec une valeur d'IC<sub>50</sub> d'ordre de 0.202 mg/ml de la plante *Atriplex halimus*; l'extrait de la fraction dichlorométhane de la même plante présente aussi une valeur d'IC<sub>50</sub> très forte d'ordre de 0,283 mg/ml.

D'autre part **Kamel et al., 2015**. L'extrait méthanoïque de la plante *Atriplex laciniata* présentait une valeur plus élevée d'ABTS avec IC<sub>50</sub>=70 µg/ml.

*Conclusion*  
*générale*

L'étude des extraits hydroéthanoliques d'*Atriplex halimus*, récoltée dans la région aride de Laghouat, a permis de révéler une richesse modérée en composés phénoliques totaux ( $8,001 \pm 0,092$  mg EAG/g) et flavonoïdes ( $6,969 \pm 1,661$  mg ER/g), connus pour leur capacité à lutter contre le stress oxydatif.

Les tests antioxydants réalisés ont mis en évidence une activité notable mais modérée de l'extrait. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenues avec les tests DPPH ( $0,154 \pm 0,018$  mg/ml) et ABTS ( $0,059 \pm 0,003$  mg/ml) indiquent que l'extrait est capable de neutraliser efficacement les radicaux libres, bien que son activité soit inférieure à celle des antioxydants standards comme l'acide ascorbique, le BHT, BHT ou le TROLOX.

En complément, les résultats des tests phosphomolybdate (VCEAC =  $0,0067 \pm 0,00038$  M) et FRAP (VCEAC =  $0,039 \pm 0,005$  M) montrent que l'extrait possède également un potentiel réducteur global mesurable. Ces résultats confirment que *Atriplex halimus* contient des molécules capables de transférer des électrons et de réduire des agents oxydants, ce qui constitue une autre forme importante d'activité antioxydante.

L'ensemble de ces données suggère que *Atriplex halimus* est une plante d'intérêt biologique, particulièrement bien adaptée aux conditions climatiques extrêmes, et pouvant être valorisée comme source naturelle d'antioxydants. Elle pourrait trouver des applications potentielles dans les domaines pharmaceutique, nutraceutique ou cosmétique.

Pour aller plus loin, il serait pertinent de :

- caractériser les molécules spécifiques responsables de cette activité antioxydante,
- évaluer leur stabilité, leur biodisponibilité, ainsi que leur efficacité in vivo, et étudier l'impact des conditions environnementales sur leur biosynthèse.

En conclusion, *Atriplex halimus* représente une ressource végétale locale prometteuse, dont la valorisation pourrait contribuer à la fois à la recherche scientifique et au développement durable des zones arides comme celle de Laghouat.

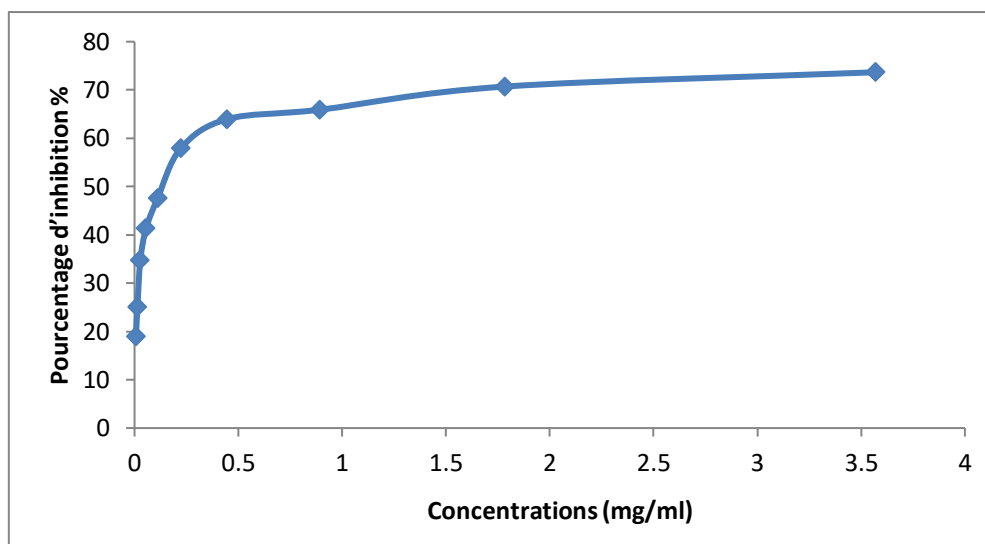
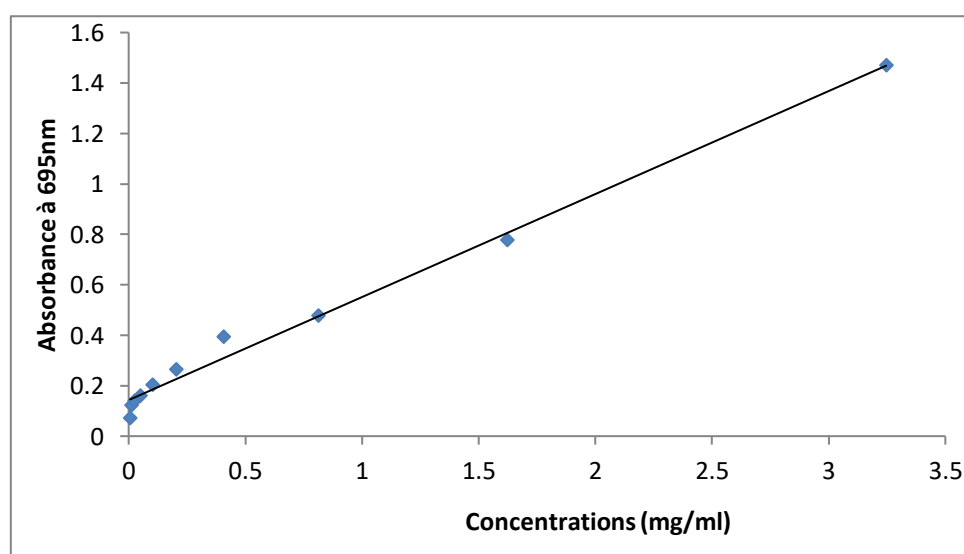
# *Références*

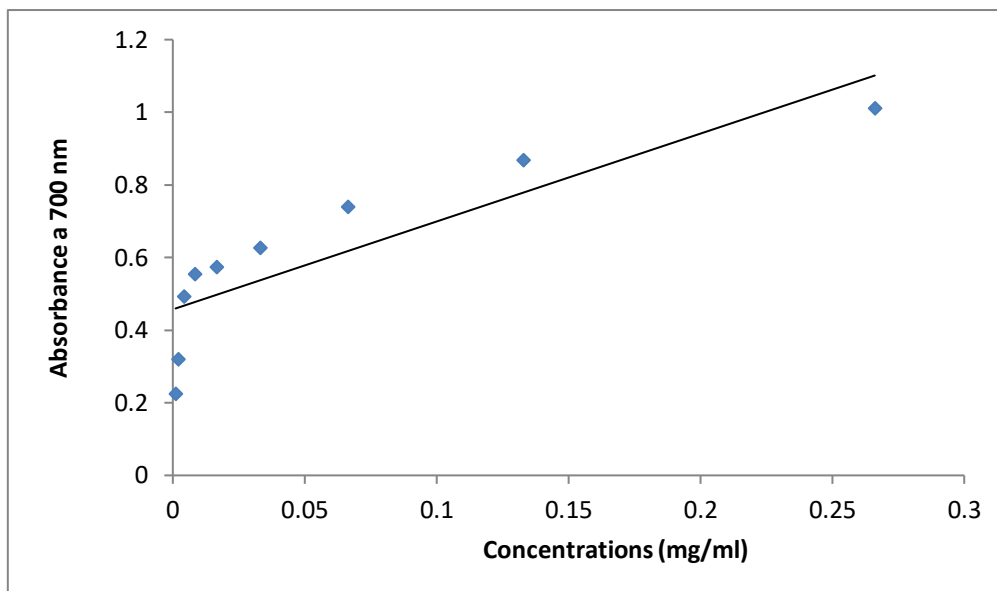
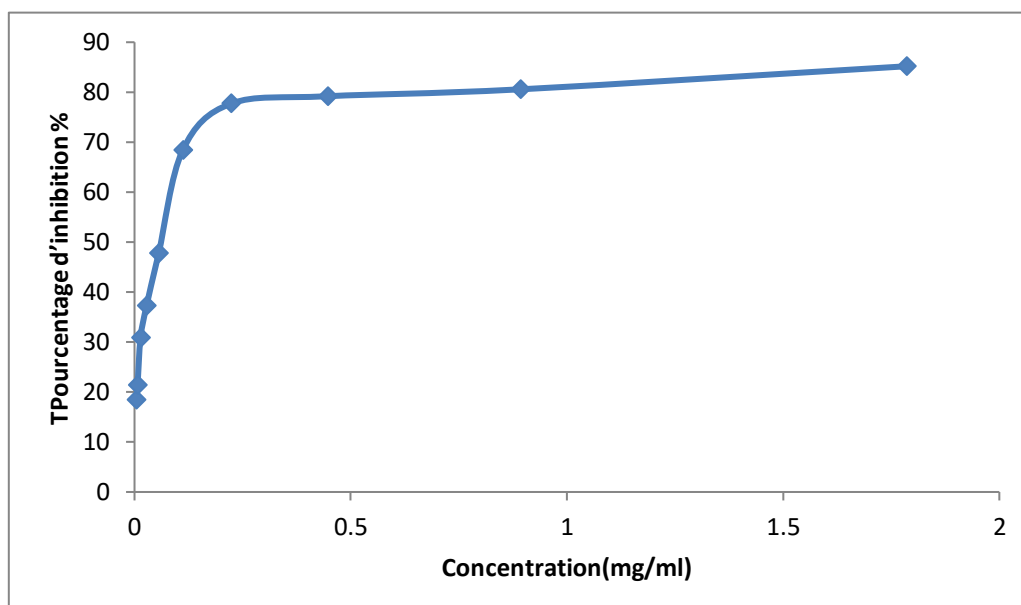
- 1 AZI, S., BARKAT, M., MIHOUBI, S., MOUSSAOUI, A. (2021). Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne de la plante *Atriplex halimus* L. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA.
- 2 ADOUAN, S. (2015). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des aures. Université Mohamed Khider, Biskra.
- 3 Amitava, D., Kimberly, K. (2018). *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*. Elsevier.
- 4 Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Iyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, Vol. (46); 1086-1089.
- 5 Bassene, E. (2012). *Initiation à la recherche sur les substances naturelles : Extraction-Analyse-Essais Biologiques*. Presses Universitaires de Dakar.
- 6 BELHADJ TAHAR, S., HADJ-MAHAMMED, M., YOUSFI, M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional. Univ Ouargla, Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière, Lab. de Biogéochimie des milieux désertiques, Ouargla 30000, Algérie. Université Amar Tlji Laghouat, Faculté des sciences et des sciences de la matière, Département de Chimie, Laghouat 03000, Algérie.
- 7 Belhadj-Tahar, S., Hadj-Mahammed, M., Yousefi, M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional. *Annales des Science et Technologie*, 7, 35-42.
- 8 BELHADJ TAHAR, Y., BOUHAFS, Y., MAADADI, A. (2018). Etude de l'activité antioxydante des extraits de la plante médicinale *Atriplex halimus* ssp. *schweinfurthii*. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
- 9 BENSAKHRIA. (2018). Livre; *Toxicologie Générale – chapitre IX Le Stress Oxydatif*.
- 10 Benhamou, N., Atik, F., Kadifkova, T. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Compt. Rendus Chim.* 12, 1259–1266. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2009.02.004>.
- 11 Benhamou, N., Atik-Bekkara, F., Kadifkova-Panovska, T. (2009). Antioxydant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Compte Rendus Chimie*, 12, 1259-1266.

- 12 Boizot, N., Charpentier, P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra, pp: 79-82.
- 13 BOUCHOUCHA, M., OUAZETA, R. (2018). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant de l'extrait méthanolique d'Atriplexhalimus. Université des Frères Mentouri Constantine-1.
- 14 Bouaziz, S., Amri, M., Taibi, N., Zeghir, R., Benkhaled, B.A., Mezioug, D., Touil-Boukoffa, C. (2021). Protoscolicidal activity of Atriplex halimus leaves extract against Echinococcus granulosusprotoscoleces. ExperimentalParasitology229: 108155.
- 15 Bouhamdi, A. (2012). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des feuilles de Pergulariatomentosa L. de la région d'Adrar. Mémoire de Master en Biochimie appliqué. Université Abou-BekrBelkaid. Tlemcen, pp: 57-42.
- 16 Bounour, E., MISSOUN, F., AMARI, N.O., et al. (2022). Antidiabetic effect of Atriplex halimus L (Sp. Pl. 2: 1052 (1753)) long and short term treatment against Streptozotocin induced diabetes in rat. In: Anales de Biología. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia, p. 21-30.
- 17 Charef, N., Rezgui, I. (2019). Evaluation de l'activité antioxydant, antidiabetique et antibacterienne des extraits de la plante Atripleshalimus. Universite Mohamed Khider. Biskra.
- 18 DIEYE, P.I., FAYE, E.O., WANE, T.M., DIAO, S.N., GUEYE, R., DIOP, A., NDIAYE, B., DIOP, Y.M., SARR, S.O. Evaluation de l'activité antioxydante et quantification des polyphénols totaux d'extraits de feuilles et de racines de Jatropha chevalieri (Euphorbiaceae).
- 19 El-Waziry, A.M. (2007). Nutritive value assessment of ensiling or mixing Acacia and Atriplex using in vitro gas production technique. Research journal of agriculture and biological sciences 3.6: 605-614.
- 20 EVENAMEDE, K.S., KPEGBA, K., SIMALOU, O., BOYODE, P., AGBONON, A., GBEASSOR, M. (2017). Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de Cassia sieberiana. Université de Lomé; 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo, 11(6): 2924-2935.
- 21 Fettah, A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante TeucriumPolium L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat en Chimie. Universite Mohamed Khider Biskra, 87p.

- 22 Gattouche, S., et al. (2020). Phytochemical Screening, Anti-Bacterial and Anti-oxidant Activities of some Aerial parts extracts in *Atriplex halimus* L., from Ouargla (Algeria). *Asian Journal of Research in Chemistry* 13.5: 365-372.
- 23 GUETTOCHE, S. (2021). Etude phytochimique d'*Atriplexhalimus* et la détermination de son activité biologique (Région Ouargla Algérie). Université KasdiMerbah Ouargla.
- 24 Hinneburg, A., Keim, D.A. (1998). An efficient approach to clustering in large multimedia data bases with noise (Vol. 98, pp. 58-65). *Bibliothek der Universität Konstanz*.
- 25 Kamal, Z., Ullah, F., Ayaz, M., Sadiq, A., Ahmad, S., Zeb, A., Imran, M. (2015). Anticholinesterse and antioxidant investigations of crude extracts, subsequent fractions, saponins and flavonoids of *atriplex laciniata* L.: potential effectiveness in Alzheimer's and other neurological disorders. *Biological research*, 48(1), 1-11.
- 26 Karagözler, A., Erdag, C.S., ÇalmazEmek, Y. (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111: 400-407.
- 27 LABBANI, P. (2021-2022). Le métabolisme secondaire, L3-BPV-FSNV/UFMC Biochimie végétale/Chp3: Métabolisme secondaire.
- 28 MERGHEM, R. Valorisation des substances végétales bioactives. LE METABOLISME SECONDAIRE. Université Frères Mentouri - Constantine 1.
- 29 Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
- 30 Rjeibi, I., Ben Saad, A., Hfaiedh, N. (2016). Dommages oxydatifs et hepatotoxicité associés à la deltaméthrine chez le rat: les effets protecteurs d'extrait de graines d'*Amaranthusspinosus*. *Biomédecine et pharmacothérapie*, 84, 853–860.
- 31 SAYAD, S. (2022). Evaluation de l'activité antioxydante de la plante d'*Atriplexhalimus*. Université Mohamed Khider de Biskra.
- 32 Singleton, A., Vernon, L., Rudol, O., Rosa, M., Lamuel, R. (1974). Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidants by means of folinciocalteau. *Methodesenzymologie*, 299; 152-178.
- 33 Zeghib, K., Djahra, A.B. (2021). Dommages induits par l'additif alimentaire (benzoate de sodium) sur la fonction rénale et les cellules glomérulaires chez le rat; effet modulateur de l'extrait aqueux d'*Atriplexhalimus* L. *Journal iranien de la recherche pharmaceutique: IJPR* 20.1: 296.

# *Annex*

**Annexe 1 : Test de DPPH****➤ Extrait éthanolique d'Atriplex halimus****Annexe 2 : Test de Phosphomolybdate****➤ Extrait éthanolique d'Atriplex halimus**

**Annexe3 :Test de FRAP (Ferric Reducing antioxydant Power)****➤ Extrait éthanolique d'Atriplex halimus****Annexe 4 : Test de ABTS****➤ Extrait éthanolique d'Atriplex halimus**

عنوان المذكرة: تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية لنبات القطف

المؤطر: قنان هاجيرة

الإسم: فاطمة الزهراء

معمري

اللقب:

ملخص:

تهدف دراستنا إلى تقدير كمية المركبات الفينولية ودراسة النشاط المضاد للأكسدة في مستخلص نبات *Atriplex halimus* L. أظهر التحليل الكيميائي النباتي لمستخلص نبات *Atriplex halimus* وجود البوليفينول ( $0.092 \pm 8.001$  ملغ EAG / ملغ DM) والفلافونويدات ( $1.661 \pm 6.969$  ملغ ER / ملغ DM). تظهر الاختبارات التي أجريت (DPPH، ABTS، Phosphomolybdate و FRAP) نشاطا مضادا للأكسدة ملحوظ ولكنه أقل من نشاط مضادات الأكسدة القياسية. هذا النبات، الذي يتكيف بشكل جيد مع الظروف القاسية، يقدم أهمية بيولوجية كبيرة وإمكانات للاستغلال في المجالات الصيدلانية والتغذية ومستحضرات التجميل. وللمضي قدماً، سيكون من المناسب تحديد خصائص الجزيئات النشطة، وتقييم استقرارها وفعاليتها في الجسم الحي، ودراسة تأثير البيئة على تخليقها الحيوي.

كلمات مفتاحية: القطف . مركبات الفينولية . الفلافونويدية . النشاط المضاد للأكسدة . الجزيئات النشطة .

Memory title : Evaluation of the antioxidant activity of phenolic extract of *Atriplex halimus*

Name: Fatima Zahra

First name: Maamri

Directed by: Guenane Hadjira

Abstract:

Our study aims to estimate the quantity of phenolic compounds and to study the antioxidant activity of the extract of the plant *Atriplex halimus* L. The phytochemical analysis of the extract of *Atriplex halimus* revealed the presence of polyphenols ( $8.001 \pm 0.092$  mg EAG/mg DM) and flavonoids ( $6.969 \pm 1.661$  mg ER/mg DM). The tests carried out (DPPH, ABTS, Phosphomolybdate and FRAP) show a notable antioxidant activity but lower than that of standard antioxidants. This plant, well adapted to extreme conditions, thus presents an important biological interest and a potential for exploitation in the pharmaceutical, nutraceutical and cosmetic fields. To go further, it would be relevant to characterize the active molecules, to evaluate their stability and efficacy in vivo, and to study the impact of the environment on their biosynthesis.

Key words: *Atriplex halimus* .phenolic . flavonoid. . antioxidant activity. active molecules

Titre du mémoire : Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait phénolique d'*Atriplex halimus*

Nom : Fatima Zahra

Prénom : Maamri

Encadreur : Guenane Hadjira

Résumé

Notre étude a pour objectif d'estimer la quantité des composés phénoliques et d'étudier l'activité antioxydante de l'extrait de la plante *Atriplex halimus* L. L'analyse phytochimique de l'extrait d'*Atriplex halimus* a révélé la présence de polyphénols ( $8,001 \pm 0,092$  mg EAG/mg MS) et de flavonoïdes ( $6,969 \pm 1,661$  mg ER/mgMS) . Les tests réalisés (DPPH, ABTS, Phosphomolybdate et FRAP) montrent une activité antioxydante notable mais inférieure à celle des antioxydants standards. Cette plante, bien adaptée aux conditions extrêmes, présente ainsi un intérêt biologique important et un potentiel d'exploitation dans les domaines pharmaceutique, nutraceutique et cosmétique. Pour approfondir, il serait pertinent de caractériser les molécules actives, d'évaluer leur stabilité et efficacité in vivo, et d'étudier l'impact de l'environnement sur leur biosynthèse.

Mots clés: *Atriplex halimus* . phénoliques . flavonoïde . activite antioxydante . molécules actives