



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة عمّار ثليجي بالأغواط

Université Amar Telidji Laghouat

كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم علوم المادة

Département des Sciences de la Matière

Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie organique appliquée

Par :

BOUCHRIA Djamila et GRINAT Fatima

THEME

**Etude de la capacité antioxydante des extraits
de la plante *Hammada elegans* Botsch de Sidi
Makhlouf-Laghouat**

Soutenu publiquement le 30/09/2020 devant le jury composé de :

M ^r . Mohamed BENALIA	MCB	Président
M ^{me} . Zineb HADBAOUI	MCB	Examinatrice
M ^{elle} . Reguia MAHFOUDI	MCA	Rapporteur
M ^r . Amar DJERIDANE	Professeur	Co-rapporteur

Année Universitaire 2019/2020

Dédicace

Au Nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux

Louange et Gloire à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

*À mon très cher père **BOUAMARE***

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis, jour et nuit pour mon éducation et mon bien être

*À ma très chère mère **KHAEIRA***

Affables, honorables, aimables, Vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple de dévouement.

Vous n'avez pas cessé de m'encourager et de prier pour moi

À mes très chers frères et soeurs

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Mes anges gardiens et mes fidèles compagnons dans les moments les plus difficiles. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité

A mon cher binôme Grinat Fatima qui m'a partagé la difficulté de ce travail

A tous mes amis Aicha, Nour Elhouda, Fatima, Rania, Asma, Ritadje, Yousra, Zahra, Aya.

A tous mes collègues de la 2ème année master chimie organique appliquée,

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je vous dis merci.

DJAMILA BOUCHRJA

Dédicace

A mes chères parents : Mohammed et Fatma

Vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vos prières et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer mon respect, mon amour éternel et que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorde santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher frère : Ahmed et sa femme Fatima , Yahia ,Ali

A mes très chères sœurs: Faiza, Wafa , Ikram

A toute ma famille, grande et petite

A mes meilleurs amis : Habiba, Amina, Khadra

, Hafsa, Soumia, Kadidja, Fatma, Hadjer et mon binôme, Djamilia .B

Sans oublier tout les professeurs que Ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Fatima Grinat

Remerciement

Avant tout nous remercions « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur YOUSFI Mohamed, Directeur du laboratoire des sciences fondamentales à l'université Amar Telidji de Laghouat pour nous avoir accueillie durant la réalisation de ce travail et nous a permis de le mener dans de bonnes conditions.

Un grand merci à notre promotrice et encadrante Melle Mahfoudi Reguia, on la remercie pour sa gentillesse sa disponibilité, sa patience pendant des intenses et rationnelles discussions qui nous permis de réaliser ce travail dans de bonnes conditions. Pour tout cela et aussi pour son aide, sa confiance et son soutien moral, on la remercie vivement

Mes remerciements aussi au co-encadrant Monsieur le Professeur Amar DJERIDANE, qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce modeste travail.

Nous remercions les membres du jury : M d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.

A toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin.



Liste des abréviations

- Abs_{éch}** : Absorbance en présence d'antioxydant.
- Abs_t** : Absorbance en absence d'antioxydant.
- ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).
- BHA** : Butylhydroxyanisole.
- BHT** : Butylhydroxytoluène.
- EC₅₀** : Concentration efficace médiane.
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde.
- EAG** : Equivalent en acide gallique.
- ECAT** : Equivalent en catéchine.
- EQ** : Equivalent en quercétine.
- MS** : Matière sèche.
- PAR** : Pouvoir antiradicalaire.
- Vit C** : Vitamine C.
- TBHQ** : Tertiobutylhydroquinone.
- UV-Vis** : Ultraviolet-Visible.
- Vit E** : Vitamine E.

Liste des Figures

Figure 1	: Photo de la plante <i>Hammada elegans</i> région de Sidi Makhoulouf (wilaya de Laghouat).	3
Figure 2	: Processus d'extraction par Soxhlet.	5
Figure 3	: Méthode d'évaporation dans un Rotavapor.	5
Figure 4	: L'équation de la réaction entre le radical ABTS ^{•+} et un antioxydant.	8
Figure 5	: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	12
Figure 6	: Courbe d'étalonnage de la quercétine.	12
Figure 7	: Courbe d'étalonnage de la catéchine.	12
Figure 8	: Courbes représentant l'activité antioxydante des standards mesurée par le test d'ABTS.	15
Figure 9	: Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits mesurée par le test d'ABTS.	15
Figure 10	: Corrélation entre les valeurs d'EC ₅₀ mesuré par le test d'ABTS et le rendement d'extraction des extraits polaires étudiés.	17

Liste des Tableaux

Tableau 1	: Réactifs et appareillage utilisés dans ce travail.	4
Tableau 2	: Aspect, couleur et rendement d'extraction des quatre extraits étudiés.	9
Tableau 3	: Travaux antérieurs sur la plante <i>Hammada elegans</i> botsh.	11
Tableau 4	: Teneur en phénol totaux, en flavonoïdes et en tannins de différents extraits de <i>Hammada elegans</i> botsh	13
Tableau 5	: Valeurs d'EC ₅₀ des extraits et standards mesurés par le test d'ABTS ⁺⁺ .	16
Tableau 6	: Les valeurs de coefficient de corrélation de de Pearson (r) entre l'activité antioxydante et teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tannins.	18

Sommaire

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

I. Introduction générale	1
II. Matériels et méthodes	3
II.1. Matériel végétal	3
II.1.1. Description botanique	3
II.1.2. réactifs chimiques et appareillage	4
II.2. Méthodes	4
II.2.1. Préparation des extraits organiques	4
II.2.2. Préparation l' extrait aqueux	5
II.2.3 Quantification des composés phénoliques	5
II.2.3.1. Dosage des phénols totaux	5
II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes	6
II.2.3.3. Dosage des tannins	6
II.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> par le test d'ABTS	7
III. Résultats et discussion	9
III.1. Détermination du rendement d'extraction	9
III.2. Dosages des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins	12
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test d'ABTS	14
IV. Conclusion générale	20
V. Références Bibliographiques	22

I. Introduction générale

Au travers des temps, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faites de façon empirique (**Bensabeur, 2009**).

Plusieurs investigations portées sur la phytochimie et les activités biologiques telles que les pouvoirs antimicrobiens, antioxydants et antidiabétiques, ont été fait sur les plantes médicinales afin d'apporter des réponses thérapeutiques adéquates contre certaines maladies dites de civilisation (**Mohamed et al., 2013 ; Djeridane et al., 2015**). Cette matière végétale a aussi des intérêts multiples dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie (**Bahorun et al., 1996; Rispaïl et al., 2005 ; Thomas, 2011**).

Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydants, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales folklorique. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font et reste l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (**Salem J., 2009**).

La recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs *via* le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines. Cette recherche doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux actifs d'où la nécessité et l'importance de ce travail de recherche (**Bahorun., 1997**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Hammada elegans* Bostch, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques. Dans cette optique d'évaluation scientifique du potentiel médicinal des plantes, nous avons choisi d'étudier une plante de la région de Laghouat de la

famille des Chenopodiaceae : *Hammada elegans* Bostch. Le choix de cette plante a été dicté par un facteur important : l'étude de cette plante est encore rare et fragmentaire et elle n'a jamais été étudiée auparavant du point de vue phytochimique. De ce fait, notre travail de mémoire s'attèle à l'étude de l'activité antioxydante des extraits la plante *Hammada elegans* Bostch poussant à l'état spontané dans la région de Laghouat. Le programme de recherche s'articule autour de deux axes principaux. Le premier axe porte sur l'extraction et les dosages des composés phénoliques. Tandis que, le second axe sera focalisé sur l'examen de l'activité antioxydante de ces extraits par la mesure *in vitro* de leur pouvoir piégeage du radical ABTS^{·+}.

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal

La plante a été récoltée dans la région de Sidi Makhlouf, environ 40 km du Nord-est de la willaya de Laghouat, au mois de septembre 2018. La plante investiguée est séchée à l'abri de la lumière pendant 1 mois à température ambiante. Après le séchage, le matériel végétal est finement broyé et conservé dans des sacs en papier jusqu'à leur extraction.

II.1.1. Description botanique

Hammada elegans Botsch (**Figure 1**) est un arbrisseau de hauteur de 20 à 40 cm, à rameaux dressés, vert dans la jeunesse, devenant blanchâtre avec, articulé, cylindrique, à article minces et fragiles de 10-12 Ø 2mm. Feuilles opposées soudées en cupule très courte à marges ciliolées, réduites à 2 pointes cuspidée, à aisselle brièvement ciliées-laineuses. Feuilles solitaires ♀♂ à aisselle de fleurs supérieures pourvues de 2 bractéoles courtes de 1-1,2 mm ≤ fleur, scarieuses, noyées dans le tomerntum. Périanthe globuleux à 5 sépales membraneux de 1,5-2 mm, étamines 5+5 staminodes obtus laineux sur le dos de 0,5 mm ; ovaire pailleux, style à 2 stigmates.

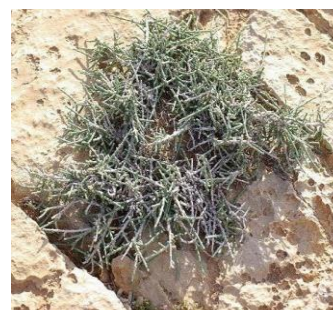


Figure 1 : Photo de la plante *Hammada elegans* Bosch région de Sidi Makhlouf (Willaya de Laghouat).

II.1.2. Réactifs chimiques et appareillage

Le tableaux suivant (**Tableau 1**) regroupe tous les produits chimiques et appareillage utilisés dans ce travail.

Tableau 1 : Réactifs utilisés dans ce travail.

Produits	Firme
Potassium phosphate monobasique (KH_2PO_4); potassium phosphate dibasique (K_2HPO_4); 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4$; BHT (Buthylhydroxtoluène) 2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-méthylphénol; TBHQ (Tertiobutylhydroquinone); Vitamine C '(Acide ascorbique) ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$); Dimethylsulfoxyde ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$) (DMSO), BHA(Butylhydroxyanisole); vanilline ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$); Acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$); catéchine ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$); quercétine hydrate ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$); Folin-Ciocalteu; chlorure d'aluminium (AlCl_3); Acide chlorhydrique (HCl) (37%),	Sigma Aldrich
Na_2CO_3 (Carbonate de sodium)	Pearce
Hexane (C_6H_{14}), méthanol(CH_4O)	Biochem
Acétone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)	Chemlabs
Hydrogène peroxyde (H_2O_2)	Sialchim
Appareillage et d'autres équipements	
Balance analytique (KERN, ABS 220-4), Dispositif à ultrasons (Shimadzu), Spectrophotomètre UV/Visible (Shimadzu 1800), Micropipette 20-200 μl (ISOLAB), Micropipette 100-1000 μl (SOCOREX), Micropipette 10-100 μl (Accumax), Cuvette UV/visible à usage unique en plastique. Etuve (Memmert), Bain marie (Memmert).	

II.2.Méthodes

II.2.1. Préparation des extraits organiques

Après avoir broyé finement la partie aérienne de la plante une masse d'environ 20g est mise en contact avec 300ml de solvant d'extraction, a été extraite par Soxhlet en utilisant 3 systèmes de solvants de polarité croissante : Hexane ; Acétone ; Méthanol jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (**Figure 3**). Après chaque extraction, le solvant utilisé est évaporé sous vide à l'aide d'un rotavapeur. (**Figure 4**) Ensuite, le résidu récupéré est pesé puis solubilisé dans 10 ml de DMSO. Les extraits ainsi obtenus sont conservés à 4°C et à l'abri de la lumière pour être utilisés pour les différentes analyses.

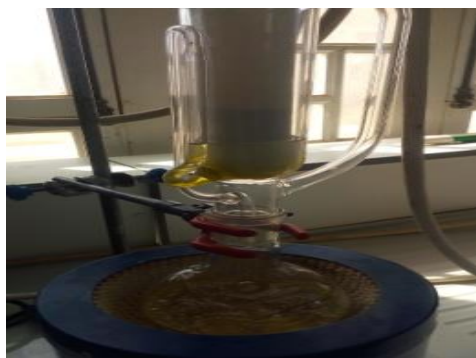


Figure 2: Processus d'extraction par Soxhlet.

Figure 3: Méthode d'évaporation dans un Rotavapor.

II.2.2. Préparation l'extrait aqueux

10g de poudre de la matière sèche a été ajouté à 100ml d'eau distillée, le mélange a été met dans le dispositif à ultrasons à 50°C pendant 60 min. Après filtration, le filtra récupéré est conservé à 4°C et à labri de la lumière pour être utilisés pour les différentes analyses.

II.2.3. Quantification des composés phénoliques

Les composés phénoliques comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité antioxydante des plantes (**Li et al., 2007**). Ces composés possèdent aussi diverses activités biologiques telles que les activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, antiallergiques, antithrombotiques et vasodilatatrice qui peuvent être reliées à leur activité anti-oxydante (**Gulcin et al., 2010**). C'est la raison pour laquelle, les dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins de *Hammada elegans* Bostch ont été effectués dans cette étude.

II.2.3.1. Dosage polyphénole totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al 1999**). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et al 2006**).

100 µl de chaque extrait ont été introduits dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué). Après incubation pendant 2 minutes, 2 ml de carbonates de sodium Na₂CO₃ à 2% ont été ajoutées, puis les solutions ont été secouées

immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800). Les tests ont été effectués trois fois afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats. Le contenu phénolique total a été exprimé en mg d'équivalent d'acide gallique par milligramme de MS (mg EAG/100g de MS).

II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement carbonyle CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) capte deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon et al., 1972**). La teneur en flavonoïdes des extraits obtenus est déterminée par la méthode de **Lamaison et Carnet (1990)**. Le dosage des flavonoïdes nécessite aussi l'établissement d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard (la quercétine). Pour la préparation de la gamme d'étalon, une série de dilution allant de 0,003 à 0,3 g/l de la quercétine (préparée dans le méthanol). Par la suite, dans un tube à essai on met un volume de 0,5 ml de la quercétine et 0,5 ml de la solution de chlorure d'aluminium (2%). On laisse incuber pendant 20 min à température ambiante. La lecture est effectuée à 430 nm par un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800), et les valeurs des absorbances trouvées pour chaque solution sont utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage. Les échantillons sont traités de la même manière que la quercétine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine par 100 matières sèches (mg EC/100g de MS).

II.2.3.3. Dosage des tannins

Le test de tanins était basé sur une version modifiée de (**Price, et al., 1978**). Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide (**Julkunen-Titto., 1985**). Les tanins sont des polymères caractérisés par la présence d'un nombre suffisant de groupe hydroxyphénoliques permettant des combinaisons plus stables avec les protéines et alcaloïdes. Ces composés sont généralement amorphes, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (**Quettier-Deleu et al., 2000**). D'abord on prépare le réactif de vanilline (8 % d'HCl à 37% et 1 % de vanilline préparés dans le méthanol) sont maintenus à 30°C avant le dosage. Ensuite 200 µl de chaque extrait sont ajoutés à 1 ml du réactif de vanilline, et maintenus à 30°C pendant 20 min. l'absorbance est

mésurée à 500 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800). La catéchine est utilisée comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en catéchine par 100 matières sèches (mg ECat/100g de MS).

II.3.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* par le test d'ABTS^{•+}

L'activité antioxydante est définie comme étant la capacité d'un système à piéger des radicaux libres ou à réguler le système redox, défendant ainsi l'organisme contre la dégradation oxydative. Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé un test chimique *in vitro* à savoir le test d'ABTS^{•+}. Les mesures de densités optiques en présence de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis d'exprimer le pouvoir antioxydant par le paramètre EC₅₀ qui représente la concentration de l'antioxydant nécessaire pour balayer 50% de radicaux libre totaux de radical cationique d'ABTS^{•+}. Les valeurs des EC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes représentant la variation des pourcentages d'activité antioxydante en fonction de différentes concentrations des extraits testés. Nous avons également testé, la vitamine C, la vitamine E, le TBHQ, le BHA et le BHT comme antioxydants de référence.

L'obtention du radical cation (ABTS^{•+}) résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine) (Miller et RiceEvans., 1997) ou horseradish peroxidase (Arnao *et al.*, 2001) en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant dioxyde de manganèse (Benavente-Garcia., 2000 ; Miller *et al.*, 1996) ou persulfate de potassium (Re *et al.*, 1999). Le radical ABTS^{•+}, en contact avec un donneur de H[•] conduit à l'ABTS⁺ (Figure 4) et à la décoloration à 734 nm de la solution (Lien *et al.*, 1999).

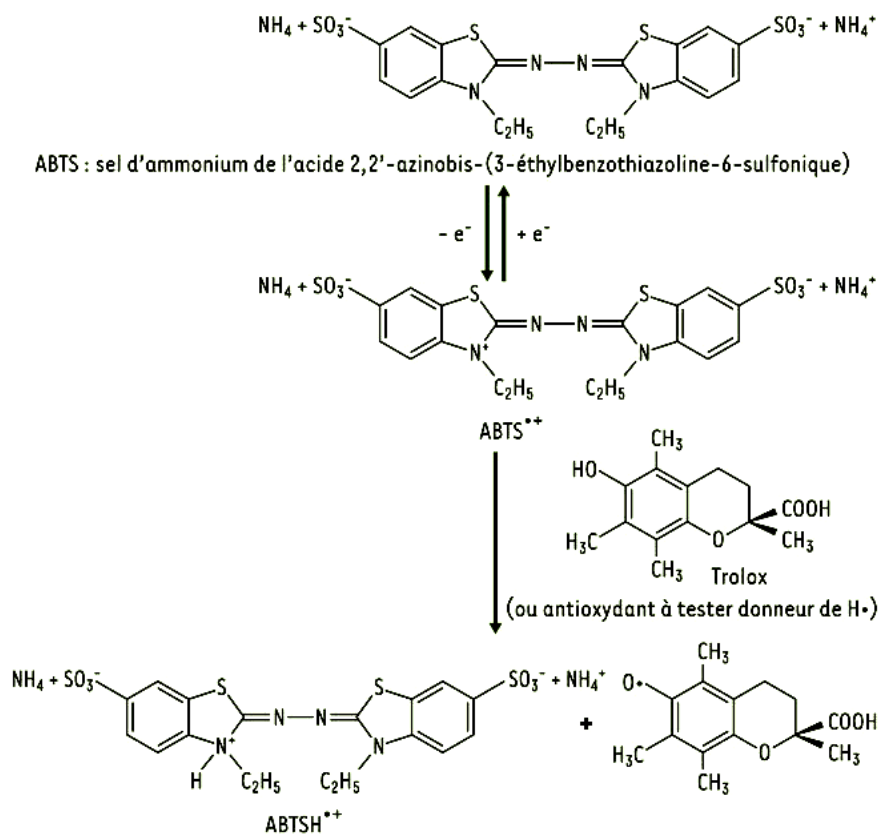


Figure 4: L'équation de la réaction entre le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ et un antioxydant (Prouillac 2006).

Dans le but de générer le radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$, nous avons préparé un mélange constitué de : 1 ml d'une solution aqueuse d'ABTS (20 mM), de 150 μl d'une solution aqueuse de H_2O_2 (1mM) et de 1 ml d'une solution de la peroxydase (préparée dans un tampon phosphate pH=6,9) de concentration massique (0,2 mg/mL), ce mélange est complété à 100 ml avec de l'eau distillée. Le mélange des trois solutions présente une coloration bleu-vert correspondant à la formation du radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Une quantité de 100 μL de chaque dilution de l'extrait est ajoutée à 1 mL de la solution verdâtre d' $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Après incubation pendant 5 min à l'obscurité, la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été effectuée à l'aide du spectrophotomètre (Shimadzu 1800) à 734 nm contre un blanc. Le pourcentage de pouvoir antiradicalaire (% PAR) de l' $\text{ABTS}^{\bullet+}$ pour chaque extrait a été calculé selon l'équation ci-dessous :

$$\text{PAR} = [(\text{Abs}_t - \text{Abs}_{\text{éch}}) / \text{Abs}_t] \times 100\%$$

Où ;

Abs_t représente l'absorbance en absence d'antioxydant (contrôle négatif).

$\text{Abs}_{\text{éch}}$ indique l'absorbance en présence d'antioxydant (extrait ou standard).

III. Résultats et discussion

III.1. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il est dépendu de la composition de l'échantillon.

La préparation des extraits de la plantes étudiée est réalisée par l'utilisation d'une série de solvants à polarité croissante : hexane, acétone, méthanol et eau permettant ainsi la séparation des composés selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction. Ces procédés d'extraction ont permis d'obtenir quatre extraits : l'extrait hexanique, l'extrait acétoniques, l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux.

Après les extractions, et la récupération des extraits, leurs rendement est été déterminé par rapport à 20g pour les trois solvants (hexane, acétone et méthanol) et 10g pour l'eau de matière végétale sèche exprimé en pourcentage. Les rendements d'extraction (R%) ont été déterminés par la formule suivant :

$$R\% = \frac{\text{masse de résidus d'extrait}}{\text{masse de la poudre végétale}} \times 100$$

La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait sont représentés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Aspect, couleur et rendement d'extraction.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
Extrait hexanique	Poudre	Vert	2,05
Extrait acétonique	Poudre	Vert foncé	1,63
Extrait méthanolique	Visqueux	Vert	15,52
Extrait aqueux	Poudre	Vert foncé	20,36

On constate que les extraits hexanique, acétonique et aqueux ayant un aspect de poudre par contre l'extrait méthanolique a un aspect visqueux. Ainsi, nous constatons que les rendements de l'extraction varient considérablement. Le rendement le plus élevé a été enregistré chez l'extrait aqueux avec une valeur de 20,36%, suivi par l'extrait méthanolique avec un rendement de 15,52%, alors que la valeur la plus faible est de 1,63% pour l'extrait

acétonique. Ceci pourrait être expliqué par la capacité importante de l'eau et du méthanol d'extraire des composés polaires vis-à-vis celle de l'acétone et l'hexane. Les résultats obtenus montrent que l'eau est le solvant qui donne le meilleur rendement. La forte capacité d'extraction de l'eau pourrait justifier le rendement observé et le choix accordé à l'eau comme solvant de préparation des remèdes en médecine traditionnelle. Par ailleurs, la présence d'eau dans les organes végétaux augmenterait la perméabilité des tissus végétaux et favoriserait le phénomène de diffusion de masse dans l'étape d'extraction. D'ailleurs, Le rendement d'extraction est tributaire de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la taille des particules, la nature du solvant, la température, et le temps d'extraction.

Des travaux antérieurs (**Tableau 3**) ont montré que les rendements des extraits hexanique et acétonique de *Hammada elegans* Botsch sont plus faible (**Bensafieddine et al, 2019 ; Labiodh et al, 2019**). Ces travaux ont montré également que l'extrait hydroacétonique (70% /30%) et l'extrait hydrométhanolique (80% / 20%) de *Hammada elegans* Botsch (par la méthode de macération pour une durée de 48 heures et à température ambiante) sont très faible. En outre, les extraits acétoniques des fleurs et les extraits diéthylique de la partie aérienne restante qui ont donné des rendements également les plus faibles en résidu sec comparativement à l'extrait aqueux. Ces études antérieures ont montré également que l'extrait aqueux acidifié (H_2SO_4 à 10%) de *Hammada elegans* Bostch donne le meilleur rendement (21,60%) par rapport à d'autres solvants dont acétone-eau et eau distillée (**Labiodh et al., 2019**). D'ailleurs, **Djeridane et al., (2015)** ont montré que le méthanol, l'acétone et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés antioxydants.

Tableau 3: Travaux antérieurs sur la plante *Hammada elegans* Botsch..

Echantillon	Période de la récolte	Méthode d'extraction	Rendement (%)	Référence
Extrait hexanique des fleurs	Septembre 2015	Soxhlet	4,87	Labiodh et al., 2019
Extrait diéthylique des fleurs	Septembre 2015	Soxhlet	1,10	Labiodh et al., 2019
Extrait chloroformique des fleurs	Septembre 2015	Soxhlet	2,22	Labiodh et al., 2019
Extrait acétonique des fleurs	Septembre 2015	Soxhlet	0,75	Labiodh et al., 2019
Extrait méthanolique des fleurs	Septembre 2015	Soxhlet	7,20	Labiodh et al., 2019
Extrait aqueux des fleurs	Septembre 2015	Soxhlet	11,45	Labiodh et al., 2019
Extrait aqueux acidifié des fleurs	Septembre 2015	Soxhlet	11,96	Labiodh et al., 2019
Extrait hexanique de la partie aérienne restante	Septembre 2015	Soxhlet	2,42	Labiodh et al., 2019
Extrait diéthylique de la partie aérienne restante	Septembre 2015	Soxhlet	0,67	Labiodh et al., 2019
Extrait chloroformique de la partie aérienne restante	Septembre 2015	Soxhlet	2,65	Labiodh et al., 2019
Extrait acétonique de la partie aérienne restante	Septembre 2015	Soxhlet	0,97	Labiodh et al., 2019
Extrait méthanolique de la partie aérienne restante	Septembre 2015	Soxhlet	7,37	Labiodh et al., 2019
Extrait aqueux de la partie aérienne restante	Septembre 2015	Soxhlet	9,62	Labiodh et al., 2019
aqueux acidifié de la partie aérienne restante	Septembre 2015	Soxhlet	21,60	Labiodh et al., 2019
Extrait acétonique	Octobre 2016	Macération	0,024	Bensafiddine et al., 2019
Extrait hydroacétonique	Octobre 2016	Macération	0,218	Bensafiddine et al., 2019
Extrait méthanolique	Octobre 2016	Macération	0,168	Bensafiddine et al., 2019
Extrait hydrométhanolique	Octobre 2016	Macération	0,330	Bensafiddine et al., 2019

III.2. Dosages des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins

Les analyses quantitatives des phénols totaux, des tannins et des flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage de l'acide gallique, de la quercétine et de la catéchine respectivement (Figures 5, 6 et 7).

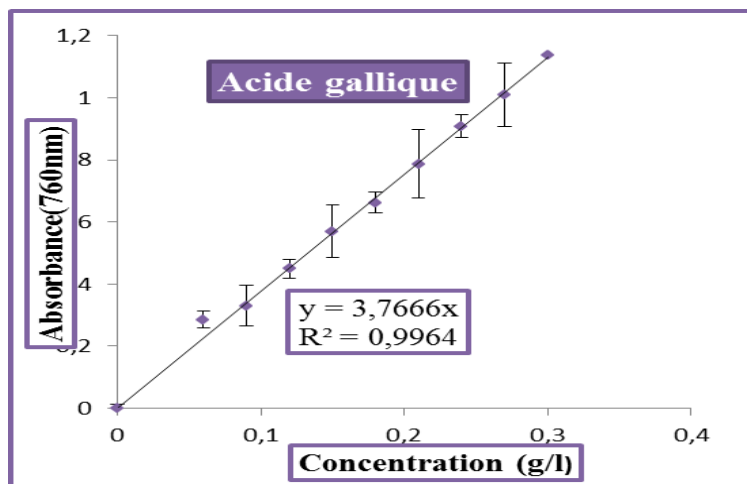


Figure 5: Courbe d'étalonnage de l'Acide gallique.

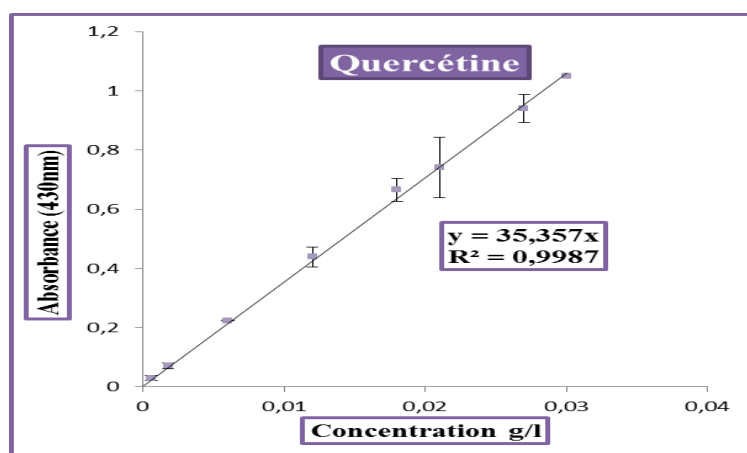


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

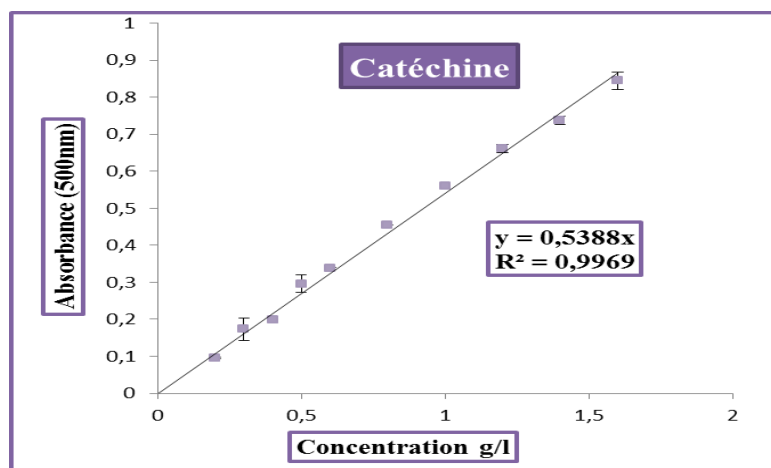


Figure 7: Courbe d'étalonnage de la catéchine

Le **Tableau 4** résume les résultats obtenus des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tannins des extraits bruts.

Tableau 4: Teneurs en phénol, en flavonoïdes et en tannins de différents extraits de *Hammada elegans* Botsch

Solvant d'extraction	Teneur en phénols (mg EAG /100g)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ /100g)	Teneur en Tannins (mg ECat /100g)
Hexane	6,0866±0,0659	7,2800±0,1540	522,0282±18,2113
Acétone	30,7046±0,8431	11,2000±0,2419	812,2641±5,6035
Méthanol	102,5933±0,5185	15,00335±0,1209	656,3659±8,6617
Eau	256,0799±0,8296	27,5178±0,1979	834,74380±12,8349

Le dosage des polyphénols totaux est fait par la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est considérée comme la meilleure méthode de détermination du taux des polyphénols totaux des extraits de plantes (**Djeridane et al, 2010 ; Singleton et al, 1999**), car elle est standardisée, simple, reproductible et les interférences avec la matrice de l'échantillon qui est souvent coloré sont minimisés à la grande longueur d'onde d'absorption (760 nm) utilisée (**Huang et al., 2005**). Selon les résultats mentionnés dans le **Tableau 5**, les teneurs en phénols totaux varient largement dans les extraits (de 256,0799±0,8296 à 6,0866±0,0659 mg EAG/g MS). L'extrait aqueux montre une forte teneur en phénols totaux (256,0799±0,8296 mg EAG/g MS) suivi par l'extrait méthanolique (102,5933±0,5185 mg EAG/g MS). Par contre, les teneurs des extraits hexanique et acétonique sont de 6,0866±0,0659 et 30, 21±0,8343 mg EAG/g MS respectivement. Nous constatons d'après ses résultats, que le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques est l'eau, tandis que l'hexane représente le mauvais solvant d'extraction des composés phénoliques. Cependant, ces résultats sont nettement supérieurs au résultat trouvé par **Bensafieddine et al, (2019)** et **Labiodh et al., (2019)**. Ainsi, **Bensafieddine et al, (2019)** ont trouvé une teneur de 1,058 mg EAG/ g MS de l'extrait méthanolique et 0,512 mg EAG/ g MS de l'extrait acétonique. Toutefois, les résultats obtenus par **Labiodh et al, (2019)** sur la même espèce végétale, ont montré une teneur élevée de 2,341 mg EAG/g MS pour l'extrait méthanolique comparativement aux autres extraits (aqueux, acétonique et hexanique).

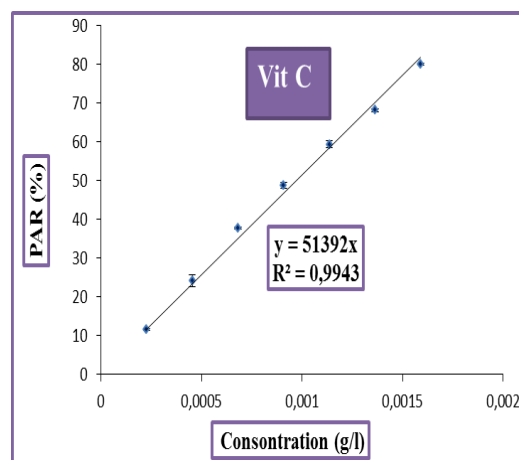
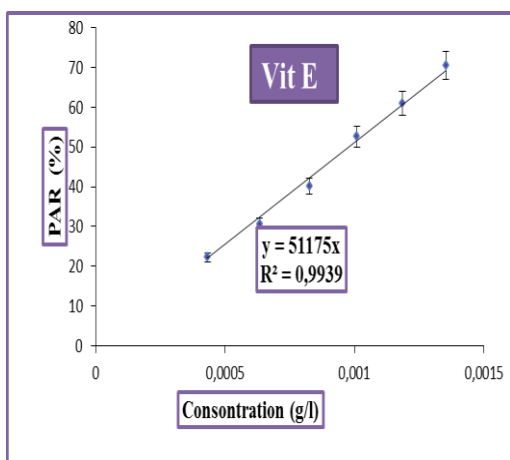
Pour le dosage des flavonoïdes, une couleur jaunâtre est formée dans tous les extraits de *Hammada elegans* Botsch après l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium (AlCl₃),

cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés. On remarque d'après les résultats du tableau ci-dessus que la quantité des flavonoïdes varie entre 7,28 et 27,51 mg EQ/g MS. Le taux des flavonoïdes le plus élevé a été détecté dans l'extrait aqueux (27,5178±0,1979 mg EQ/g MS), suivi par l'extrait méthanolique (15,0033±0,1209 mg EQ/g MV). Par la suite viennent les extraits d'Acétone et d'hexane avec les teneurs suivantes (10,7734 ±0,2327 et 7,28±0,1540 mg EQ/g MV) successivement.

Le dosage des tanins révèle que la fraction aqueuse renferme une importante teneur en tanins condensés, avec une valeur de 834,7438±12,8349 mg EC/g MS. En revanche, les fractions acétoniques, méthanolique et hexanique ont enregistré les teneurs 812,264±5,60351 et 656,3659±0,82965 et 522,02825±18,2113 mg EC/g MS respectivement. Cette variation peut s'expliquer par le fait que l'extraction des tanins condensés, dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires.

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant ne peut être mesuré qu'indirectement à partir de ses effets. La plupart des méthodes de mesure de l'activité antioxydante sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. De ce fait, l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits et standards a été évaluée par le test d'ABTS. Les résultats obtenus de ce test nous ont permis de tracer tout d'abord les graphes figurant la variation du pourcentage du pouvoir antiradicalaire (PAR) en fonction de la concentration de l'extrait ou standards «PAR (%) = f (C)» (**Figures 8-9**).



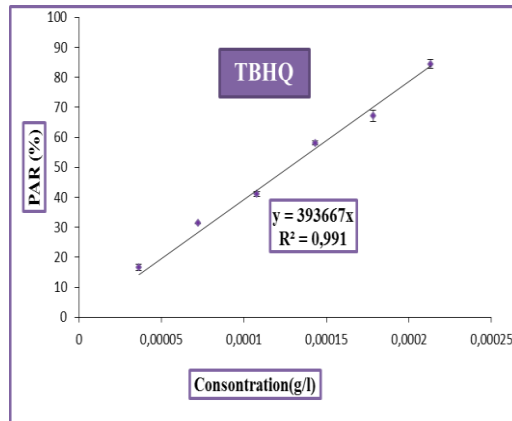
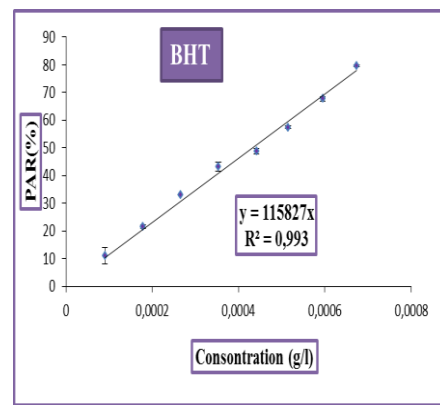
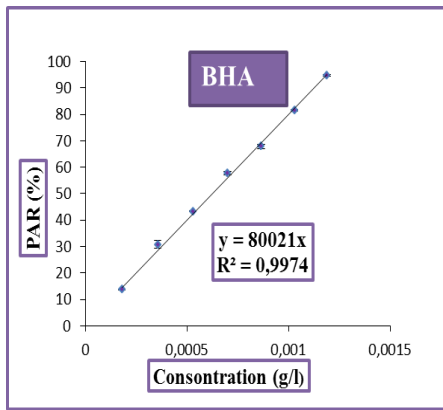


Figure 8 : Courbes représentant l'activité antioxydante des standards mesuée par le test d'ABTS.

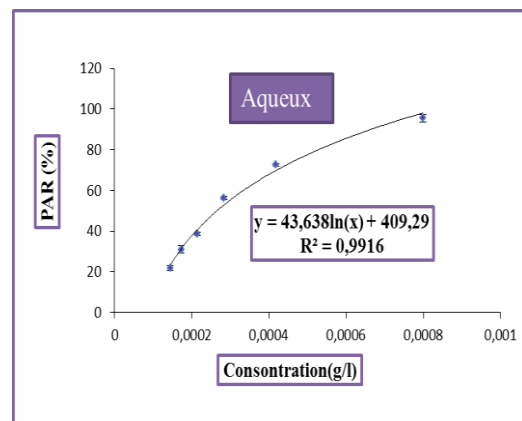
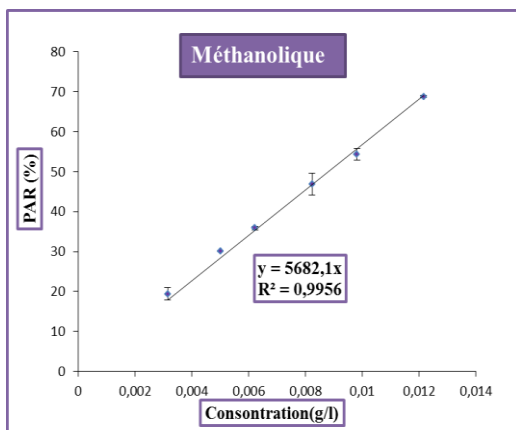
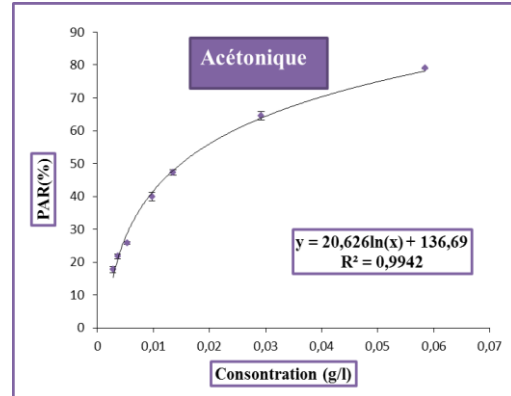
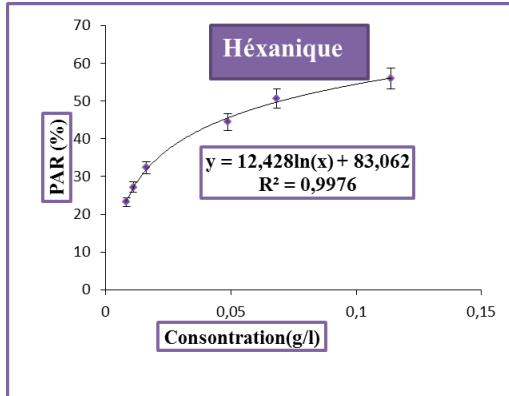


Figure 9 : Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits mesuée par le test d'ABTS.

Les résultats des EC₅₀ de l'activité antiradicalaire déterminée à l'aide du test ABTS^{•+} sont résumés dans le **Tableau 5**.

Tableau 5 : Valeurs d'EC₅₀ des extraits et standards mesurés par le test d'ABTS^{•+}.

Extraits et standards	EC ₅₀ (mg/ml)
Extrait hexanique	0,0690± 0,0017
Extrait acétonique	0,0150±0,0001
Extrait méthanolique	0,0080± 0,0001
Extrait aqueux	0,0002± 0,0000
Vitamine C	0,0001± 0,0000
Vitamine E	0,0001± 0,0000
BHTQ	0,0001± 0,0000
BHA	0,0004± 0,0000
BHT	0,0006± 0,0000

Le paramètre EC₅₀ a été présenté récemment pour l'interprétation des résultats de l'activité antioxydante. Ceci est défini comme la concentration de substrat qui cause la perte de 50% de l'activité. L'inconvénient de ce paramètre est que plus l'activité antioxydante n'est élevée, plus la valeur d'EC₅₀ est inférieure. Les valeurs des EC₅₀ obtenus à travers ce screening antioxydant représentent la moyenne de trois essais réalisés en parallèle ± l'écart-type. Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence.

A partir de l'ensemble des résultats obtenus dans le **Tableau 5** les valeurs d'EC₅₀ varient entre 0,0002± 0,0000 et 0,0690± 0,0017 mg/mL, inversement proportionnel à l'activité antioxydante. L'extrait aqueux s'est avéré le plus actif avec une valeur d'EC₅₀ de 0.0002± 0,0000 mg/mL, tandis que le plus faible pouvoir antioxydant est observée pour l'extrait hexanique avec une valeur égale à 0.0690± 0,0017 mg/mL. Concernant l'extrait méthanolique a montré une activité antioxydante plus élevée que l'extrait acétonique avec des valeurs des EC₅₀ de l'ordre de 0,008±0.0001 mg/mL, 0,015±0,0000 mg/mL respectivement. Cependant, nous avons observé que les activités antiradicalaires des références (Vitamine C, Vitamine E,

TBHQ, BHA et BHT), ont exhibé des activités antioxydantes supérieures aux extraits méthanolique, acétonique et hexanique avec des EC₅₀ de l'ordre 0,0001±0,0000 mg/mL, 0,0001±0,0000 mg/mL, 0,0001±0,0000mg/mL, 0,0004 ±0,0000 mg/mL et 0,0006±0.0000 mg/mL respectivement. Par ailleurs, l'extrait aqueux a présenté une activité antioxydante supérieure à celle des antioxydants de référence ; le BHA et le BHT. D'autre coté, les résultats obtenus dans le présent travail indiquent l'existence d'une bonne régression linéaire (R² = 0,9108) entre les capacités antiradicalaires des extraits polaires (acétone, méthanol et eau). et leurs rendements d'extraction (**Figure 10**). Cela signifie que 91,08 % des résidus secs des extraits obtenus agissent comme des agents antiradicalaires.

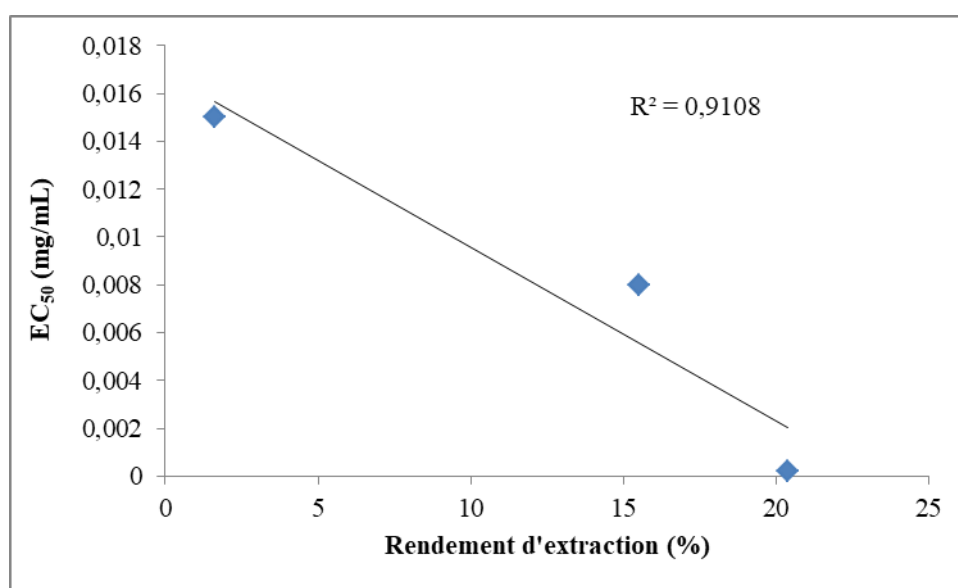


Figure 10 : Corrélation entre les valeurs d'EC₅₀ mesuré par le test d'ABTS⁺⁺ et le rendement d'extraction des trois extraits polaires (acétone, méthanol et eau).

Des travaux récents réalisés sur cette plante (**Bensafieddine et al., 2019 ; Labiodh et al., 2019**), où l'activité antioxydante *in vitro* de plusieurs extraits a été évaluée par cinq différentes méthodes complémentaires à savoir ; le test de l'effet scavenger du radical nitroxyde (NO[•]), le test de l'effet scavenger du radical DPPH[•], la méthode de réduction de cuivre (CUPRAC), la technique de chélation de fer ferreux et le test de la peroxydation lipidique. Tous les extraits ont révélé des réponses inhibitrices à différents niveaux à piéger les radicaux NO[•], à réduire le cuivre, à chélater le fer et à inhiber la peroxydation lipidique. L'extrait méthanolique de *Hammada elegans* Botsch a donné un fort pouvoir piégeur des radicaux NO[•], il s'est avéré plus active que les antioxydants de référence (Vitamine C, TBHQ, BHA et BHT). Ainsi, que ce soit par la méthode de CUPRAC, de chélation ferreux ou peroxydation lipidique, l'extrait acétonique a présenté l'extrait la plus forte capacité antioxydante. Par

contre, l'extrait méthanolique de cette plante a montré le plus fort pouvoir réducteur antiradicalaire vis-à-vis le NO[•]. En comparaison avec nos résultats, notre étude montre que nos extraits de *Hammada elegans* Botsch semblent d'être plus actifs. En revanche, la majorité de tous les autres extraits testés montrent des activités antiradicalaires plus actives. La présente étude a montré que les quatre extraits étudiés, ont chacune montré des activités antioxydantes intéressantes par la méthode d'ABTS⁺, l'extrait aqueux de *Hammada elegans* Botsch a présenté l'extrait le plus actif. Par contre, l'extrait hexanique de cette plante a montré l'extrait le plus faible. Cela suggère que les activités antioxydantes des extraits étudiés sont liées à leur rendement d'extraction. En outre, ces résultats montrent que nos extraits fournissent des activités antioxydantes assez importantes qui peuvent être liées à la présence de certaines molécules bioactives. Alors, la future recherche sera consacrée pour déterminer la teneur de différents phénols et de leur partie relative dans le potentiel antioxydant. Ainsi, le pouvoir antioxydant des extraits pourra être encore soutenue par la teneur en composés phénoliques et de leurs types de molécules individuellement actives. Nous pouvons conclure que cette espèce végétale étudiée peut être considérée donc comme une source potentielle d'antioxydants naturels, dont elle peut être utilisée en thérapeutique ou dans les différents domaines d'agroalimentaires comme additifs.

Afin d'évaluer la présence de relations entre les composés phénolique et les activités antioxydantes, nous avons utilisé le coefficient de corrélation de Pearson (r). Ainsi, la réalisation d'une matrice des corrélations permet une analyse deux à deux des corrélations entre variables explicatives. Pour cela, le coefficient de corrélation de Pearson entre toutes les variables étudiées a été calculé. L'analyse a été effectuée en utilisant les valeurs moyennes de chaque variable. Il est d'usage de considérer que l'obtention de coefficients de corrélations supérieurs à 0,5 est révélatrice d'un problème de multi colinéarité entre les variables concernées. Les coefficients de corrélation sont établis par le test de Pearson à matrice non carrée avec la probabilité $P < 0,001$. Les résultats sont regroupés dans le **Tableau 6**.

Tableau 6: Les valeurs de coefficient de corrélation de de Pearson (r) entre l'activité antioxydante et teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tannins.

Variables	Phénols totaux	Flavonoïdes	Tannins	ABTS
Phénols totaux	1			
Flavonoïdes	0.995	1		
Tannins	1.000	0.995	1	
ABTS	-0.698	-0.743	-0.701	1

Tout d'abord, une forte relation linéaire positive est constatée entre les variables flavonoïdes et Phénols, Tannins et Phénols, Tannins et flavonoïdes. Pour ces paires, les coefficients de corrélation de composé phénolique sont les suivants : FIOH et Phénols ($r = 0.995$); Tannins et flavonoïdes ($r = 1$) et Tannins et FIOH ($r = 0.995$). Ces valeurs indiquent que les extraits riches en phénols sont également riches en flavonoïdes et tannins. De plus, il ressort clairement de cette étude que le test d'activité antioxydante par le test d'ABTS est fortement corrélée avec les phénols totaux ($r = -0.698$), les flavonoïdes ($r = -0.743$) et les tannins ($r = -0.701$); cela indique un rôle important des composés phénoliques du mécanisme antioxydant et/ou piègeur de radicaux dans l'activité antioxydante. Toutefois, ces résultats trouvés concordent qualitativement avec ceux trouvés par d'autres études (**Gu et al., 2019 ; Healthy et al., 2019 ; Teixeira et al., 2017 ; Augusto et al., 2014**).

IV. Conclusion générale

Ce travail s'inscrit dans le cadre des travaux de recherches du laboratoire des sciences fondamentales de l'Université de Laghouat dont l'objectif principal est d'étudier le dosage des composés phénoliques et l'activité antioxydante de quatre extraits issus d'une plante Saharo-Algérienne ; *Hammada elegans* Botsch.

Les extractions par Soxhlet des différents composés de cette plante par succession de quatre systèmes des solvants de polarité croissante, nous a permis de déterminer le rendement d'extraction de chaque extrait. Le résultat obtenu montre que l'extrait aqueux a présenté le rendement le plus élevé (20,36%), suivi de l'extrait méthanolique tandis que l'extrait hexanique et acétonique ont montré les rendements les plus faibles.

L'évaluation du contenu des phénols totaux révèle la présence des quantités intéressantes en polyphénols. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait aqueux ($256,07995 \pm 0,8296$ mg EAG/100g MS). La quantification des flavonoïdes montre que l'extrait aqueux possède la meilleur teneur ($27,5178 \pm 0,1979$ mg EQ/100g MS). De même, le dosage des tannins nous a mené à conclure que cette plante est riche en tannins.

Par ailleurs, l'activité antioxydante mesurée par test au radical ABTS^{•+}, nous a permis de constater que tous les extraits de la plante étudiée ont une activité antioxydante importante. L'extrait aqueux présente une activité très intéressante ($EC_{50} = 0,0002 \pm 0,0000$ mg/ml) par rapport aux autres extraits. Ce dernier montre une activité antioxydante supérieure à celui du contrôle positif (BHA et BHT). En revanche, les extraits (hexanique, acétonique et méthanolique) ont montré une activité antioxydante remarquable, mais cette activité est faible à celles de la vitamine C, la vitamine E et le TBHQ.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons conclure que les extraits de *Hammada elegans* Botsch ont une bonne activité antioxydante en particulier l'extrait aqueux qui s'est avéré le plus actif. Son effet antioxydant semble être lié à sa richesse en composés phénoliques. Néanmoins, Plusieurs études ont montré que ces familles de substances naturelles sont responsables de leurs pouvoirs antioxydants. Cette analyse trouve une importante application dans l'industrie pharmaceutique, comme elle peut trouver aussi une application dans l'industrie alimentaire. Toutefois, d'autres études plus poussées, plus larges, plus approfondies et plus accomplies seront nécessaires pour préciser la nature chimique et le mécanisme d'action du principe actif présent dans l'extrait aqueux de la plante.

Malheureusement, nous n'avons pas terminé nos travaux de laboratoire en raison du coronavirus et merci à Dieu.

V. Références bibliographiques

Akrouf A., Chemli R., Chreif I., Hammami M. (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. Flavour and Fragrance Journal, 16 ,337-339.

Arnao M., Cano A., Acosta M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry, 73, 239-44.

Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C and Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittel-Forschung, 46(11) ,1086-1089.

Bahorun T.(1997).Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council, 83-93.

Benavente-García O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A., Del Río J.A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* leaves. Food Chemistry, 68, 457-462.

Bensabeur k. (2009). Contribution a l'etude chimique des huiles essentielles des feuilles et des tiges d'arbutus unedo l (doctoral dissertation, 12/01/2016).

Bensafiddine F. (2019). Etude de l'effet antioxydant et antiinflammatoire des extraits de plantes locales. Thèse de doctorat en sciences, Université d' Amar Telidji Laghouat.

Blanchet G., Legendre P., Borcard D. (2008). Forward selection of explanatory variables. Ecology, 89, p 2623-2632.

Boizot N., Charpentier J. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. Tech. INRA. 1. 79-82.

De Pascual J.T., Gonzalez M.S., Muriel M.R, Bellid I.S. (1984). Phenolic derivatives from *Artemisia campestris Subsp Glutinosa*. Phytochemistry, 23 (8), 1819-1821.

Djeridane A., Yousfi M., Brunel J.M., Stocker P.(2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. Food and Chemical Toxicology, 48, 2599-2606.

George S., Brat P., Alter P., Amiot M.J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. *Jornal Agricultural Food Chemistry*, 53, 1370-1373.

Gu C., Kate H., Frank R.D., Hafiz A.R.S. (2019). LC-ESI-QTOF/MS Characterisation of Phenolic Acids and Flavonoids in Polyphenol-Rich Fruits and Vegetables and Their Potential Antioxidant Activities. *Antioxidants*, 8, 405.

Gulcin I., Huyut Z., Elmastas M., Aboul-Enein H.Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 43-53.

Healthy K., Sri F., Mardi S., Pamella M. P., Taslim E. (2019). The relationship of free radical scavenging and total phenolic and flavonoid contents of *Garcinia lasoar* pam. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53 (12).

Huang D., Ou B., Prior R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

Joa O.M., Vasconcelos., Artur M.S.S., Jose A.S.C. (1998). Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry*, 49 (5), 1421-1424.

Julkunen-Titto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Jornal Agricultural Food Chemistry*, 33, 213-217.

Labiodh S. (2019). Caractérisation phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes d'une plante saharo-algérienne : *Hammada elegans* Botsch, Thèse de doctorat en sciences, Université d' Amar Telidji Laghouat.

Lamaison J.L.C., Carnet., A. (1990). Teneurs en Principaux Flavonoides des fleurs de *Crataegus Monogyna* Jacq et de *Crataegus Laevigata* (Poiret D. C) en Fonction de la Vegetation. *Pharmaceutica Acta Helvetia*, 65, 315-320

Lien E.J., Ren S., Bui H.H., Wang R. (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medecine*, 26, 285-94.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102, 771-776.

Miller N.J., Sampson J., Candeias L.P. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 384, 240-2.

Miller N.J., Rice-Evans C.A. (1997). The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60, 331-7.

Mohamed A.M., Abdalla M.S., Rizk M.Z., Mahdy M.E., Farrag A.H., El-Sharabasy F.S., Aly H.F., Mohamed M.R. (2013). Alleviation of dimethylnitrosamine-induced liver injury and fibrosis by supplementation of *Anabasis articulata* Extract in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29(4), 418-429.

Price M.L., Van Scoyoc S., Butler L.G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 26, 1214-1218.

P. African Plant Database. (2019). Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève and South African National Biodiversity. <http://www.villege.ch/MUSINFO/BD/CJB/AFRICA/>. 16-Nov-2019.

Quettier-Deleu C., Gressier B., Vasseur J., Dine T., Brunet C., Luyckx M., Cazin M., Cazin J.C., Bailleul F., Trotin F. (2000). Phenolic compound and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 35-42.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying a improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.

Rauter A.P., Branco I., Tostao Z., Pais M.S., Gonzalez A.G., Bermejo J.B. (1989). Flavonoids from *Artemisia campestris* Subsp. *Maritima*.

Reboreau-Gayon p. (1968). *Notion générale sur les composés phénoliques*. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, 1-40.

Salem J.H. (2009). Extraction, Identification, Caractérisation des Activités Biologiques de flavonoïdes, l'institut National polytechnique de Lorraine, Thèse de doctorat, 125-130.

Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants, Pt A*, 299, 152-178. Retrieved from <Go to ISI>://

WOS:000079431900014. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).

Thomas M. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de doctorat en chimie analytique - phytochimie. Université d'Orléans.

Thalita R.A., Erick S.S.S., Severino M .A., Marisa A.B.R.d., Adriano C.de Camargo., Thais M.F. de Souza Vieira .(2014) Phenolic compounds and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts of wild and cultivated murtila (*Ugni molinae Turcz.*) .*Food Science Technology Campinas*, 34(4): 667-673, Oct.-Dec.

Teixeira, T. S., Vale, R. C., Almeida, R. R., Ferreira T. P. S., Guimares L. G. L. (2017).Antioxidant Potential and its Correlation with the Contents of Phenolic Compounds and Flavonoids of Methanolic Extracts from Different Medicinal Plants. *Revista Virtual de Quimica*, 9 (4), 1546-1559.

Résumé

Notre étude a pour objectif d'estimer la quantité des composés phénoliques et d'étudier l'activité antioxydante de quatre extraits de la plante *Hamada elegans* Botsch. Le résultat obtenu montre que l'extrait aqueux a présenté le rendement le plus élevé (20,36%). L'évaluation du contenu des phénols totaux révèle la présence des quantités intéressantes en polyphénols. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait aqueux ($256,07995 \pm 0,8296$ mg EAG/ 100 g MS). La quantification des flavonoïdes montre que l'extrait aqueux possède la meilleur teneur ($27,5178 \pm 0,1979$ mg EQ/100g MS). De même, le dosage des tannins nous a mené à conclure que cette plante est riche en tannins. Par ailleurs, l'activité antioxydante mesurée par le test au radical ABTS⁺, Nous a permis de constater que tous les extraits de la plante étudiée ont une activité antioxydante importante. L'extrait aqueux a présenté une activité très intéressante ($EC_{50} = 0,0002 \pm 0,0000$ mg/mL) par rapport aux autres extraits. Ce dernier montre une activité antioxydante supérieure à celui du contrôle positif (BHA et BHT). Son effet antioxydant semble être lié à sa richesse en composés phénoliques.

Mots clés: *Hammada elegans* Botsch, composés phénoliques, flavonoïdes, tannins, activité antioxydante, ABTS⁺.

ملخص

تهدف دراستنا إلى تقدير كمية المركبات الفينولية ودراسة النشاط المضاد للأوكسدة لأربعة مستخلصات من نبات حمادة ايليجانس بوتش (*Hammada elegans* Botsch). أظهرت النتائج المتحصل عليها أن المستخلص المائي أظهر أعلى إنتاجية (20.36%). يكشف تقييم إجمالي محتوى الفينول عن وجود كميات مثيرة للاهتمام من مادة البوليفينول. يوجد أعلى محتوى في المستخلص المائي (256.07995 ± 0.8296 مجم EAG / 100 مجم مادة جافة). يوضح القياس الكمي للفلافونويدات أن المستخلص المائي يحتوي على أفضل محتوى (27.5178 ± 0.1979 مجم EQ / 100 مجم مادة جافة). أيضًا ، أدى تقدير كمية العفص إلى استنتاج أن هذا النبات غني بالعفص. بالإضافة إلى ذلك ، سمح لنا النشاط المضاد للأوكسدة الذي تم قياسه بواسطة اختبار ABTS⁺ الجذري بملاحظة أن جميع مستخلصات النبات المدروسة لها نشاط مضاد للأوكسدة مهم. أظهر المستخلص المائي نشاطًا مثيّرًا للاهتمام ($EC_{50} = 0.0002 \pm 0.0000$ mg / mL) مقارنة بالمستخلصات الأخرى. يُظهر الأخير نشاطًا مضادًا للأوكسدة أكبر من عنصر التحكم الإيجابي (BHT و BHA). يبدو أن تأثيره المضاد للأوكسدة مرتبط بثرائه بالمركبات الفينولية.

الكلمات المفتاحية : (العجرم) *Hammada elegans* Botsch، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، العفص، النشاط المضاد للأوكسدة، ABTS⁺.

Abstract

Our study aims to estimate the amount of phenolic compounds and to study the antioxidant activity of four extracts from the plant *Hamada elegans* Botsch. The obtained result shows that the aqueous extract exhibited the highest yield (20.36%). The evaluation of the total phenolic content reveals the presence of interesting amounts of polyphenols. The highest content is found in the aqueous extract (256.07995 ± 0.8296 mg EAG / 100 g DM). The quantification of flavonoids shows that the aqueous extract has the best content (27.5178 ± 0.1979 mg EQ / 100g DM). Also, the quantification of tannins led us to conclude that this plant is rich in tannins. In addition, the antioxidant activity measured by the ABTS⁺ radical test allowed us to observe that all the extracts of the plant studied have significant antioxidant activity. The aqueous extract exhibited a very interesting activity ($EC_{50} = 0.0002 \pm 0.0000$ mg / mL) compared to the other extracts. The latter shows an antioxidant activity greater than that of the positive control (BHA and BHT). Its antioxidant effect seems to be linked to its richness in phenolic compounds.

Keywords: *Hammada elegans* Botsch, phenolic compounds, flavonoids, tannins, Antioxidant activity, ABTS⁺.