



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière: Science biologiques
Spécialité: Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Selma SAYAD

Le :
29/06/2022

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante de la plante
d'*Atriplex halimus***

Jury :

MEDOUR A	MAA	Université de Biskra	Promoteur
TITAOUIN M	MCB	Université de Biskra	Examineur
BELKHARCHOU H	MCB	Université de Biskra	Président

Année universitaire : 2021_2022

Remerciement

*Tout d'abord je tiens à remercier **DIEU** le tout puissant de m'avoir donné le courage et la Volonté de terminer ce travail. En tout premier lieu je tiens à remercier ma promotrice **Mme Asma Meddour** de m'avoir proposée ce sujet, de m'avoir guidée, soutenue et encouragée, pour ces précieux conseils et soutien tout au long de mon travail.*

*J'exprime mon très grande considération, et mon profond respect à tous **les enseignants de la promotion master2, 2021-2022** qu'ils trouvent ici le témoignage de notre sincère reconnaissance, pour leurs apports très constructifs.*

*J'adresse mes plus sincères remerciements à tous les **membres de département SNV** pour leurs conseils et leurs orientations.*

À toute personne qui a participé de près ou de loin (Khaled), directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à

Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade. Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions

Je dédie ce travail :

*Ma très chère mère « **Souad** » tu représentes 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. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*A mon cher père « **Saleh** » rien ne peut exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mon très belle famille « **Sayed** » que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour sa patience illimitée leur encouragement continu, son aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour sa grand sacrifice.*

A mes chers sœurs **Fayrouz, **Ahlem** et ma petite sœur **Zeyneb** et A mes chers frères **Walid** et (sa femme **Latifa**), **Mokhtar** et **Nouh**.**

A toutes mes amis, Surtout mes meilleurs amis et sœurs en Dieu : **Safa**, **Wiam**, **Loubna**, **Khawla**, **Hadjer**, **Maria**, **Hiba** et **Oumaima**.

Liste des Tableaux

1. Tableau 1. La classification d' <i>Atriplex halimus</i>	3
2. Tableau2. Le matériel végétal utilisé.....	10
3. Tableau 3. Les rendements de l'extraction de plant d' <i>A.halimus</i>	19
4. Tableau 4. La quantification des métabolites secondaires.....	20
5. Tableau 5. Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical FRAP.....	23
6. Tableau 6. Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH.....	25
7. Tableau 7. la Capacité antioxydant totale des extraits.	28
8. Tableau 8. Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical ABTS.....	29

Liste des Figures

Figure 1. Plantes d' <i>Atriplex halimus</i> : sous-espèce <i>schweinfurthii</i> et <i>halimus</i>	2
Figure2. <i>Atriplex halimus</i>	3
Figure 3. Principaux acides hydroxy-cinnamiques.....	7
Figure 4. Structure chimique de quelques flavonoïdes.....	7
Figure5. Structure chimique des tannins	8
Figure 6. Les différents types d'antioxydants.....	10

Liste des abréviations

(mgEC)/g PS : milligrammes équivalents de catéchine par gramme du poids de la matière sèche.

(MgEQ)/g PS : milligrammes équivalents de quercétine par gramme du poids de la matière sèche.

·OH : Le radical hydroxyle

¹O₂ : l'oxygène singulet

A : absorbance

A : Atriplex.

AC : absorbance du contrôle.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium

At : absorbance du test effectué.

BHA : hydroxyanisole butylé.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

ERO: espèce réactive de l'oxygène.

FAE: fraction acétate d'éthyle.

FB: fraction butanolique.

FD : fraction dichlorométhane

FM : Fraction méthanolique

FM-A: Fraction méthano-acétonique

FRAP: Ferric reducing- antioxydant power)

H[•]: Le radical hydrogène

H₂O₂: le peroxyde d'hydrogène

HOO[•]: Le radical hydroperoxyde

IC₅₀: Concentration d'inhibition correspondant à 50 % de la concentration.

K₃ (Fe(CN)₆): solution ferricyanure de potassium

mg AA/g MS : milligramme d'acide ascorbique par gramme de matière sèche.

Mg EAG/g d'extrait sec : mg Equivalent Acide Gallique / g d'extrait sec.

Mg EQ/g d'extrait sec : mg équivalent quercétine / g d'extrait sec.

NO[•]: L'oxyde nitrique

O₂^{•-}: L'anion superoxyde

ONOO[•]: l'anion peroxydinitrite

P : poids.

R : Radicaux libres

R% : Rendement en %.

R-O[•]: Le radical alcoxyde

Rpm : rotation par minute.

TAC : Capacité Antioxydant totale (molybdate)

Table des matières

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralités sur les plantes étudiées

1. Généralités sur <i>Atriplex halimus</i>	2
1.1. Description Botanique	2
1.2. Taxonomie	3
1.3. Répartition géographique	3
1.3.1. Répartition géographique dans le monde.....	3
1.3.2. Répartition en Afrique.....	4
1.3.3. Répartition en Algérie	4
1.4. Composition chimique, activité biologique et utilisation	4
1.4.1. Composition chimique	4
1.4.2. Activité biologique.....	4
1.4.3. Utilisation.....	4
2. Les métabolites secondaires et le stress oxydatif.....	6
2.1. Les métabolites secondaires	6

2.1.1. Définition des métabolites secondaires.....	6
2.1.2. Classifications et fonctions des métabolites secondaires.....	6
2.1.2.1. Les composés phénoliques.....	6
2.1.2.2. Les alcaloïdes.....	8
2.1.2.3. Les terpénoïdes.....	8
2.2. Le stress oxydatif.....	8
2.2.1. Définition	8
2.2.2. Les espèces réactives de l'oxygène	9
2.2.3. Les antioxydants	9

Partie expérimentale

Chapitre 3 : matériel et méthodes

3.1 Matériel végétale.....	10
3.2. Méthodes.....	11
3.2.1. Préparation des extraits.....	11
3.2.2 Dosage de poly phénols.....	12
3.2.3. Dosage des flavonoïdes	13
3.2.4 Dosage des tannins condensés.....	14
3.2.5 Activité antioxydant	14
3.2.5.1 Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxydant power)	14
3.2.5.2 Test DPPH.....	15
3.2.5.3 Activité antioxydant totale (TAC)	17
3.2.5.4. Evaluation de l'activité anti radicalaire par ABTS.....	18

Chapitre 3 Résultats et discussions

4. Résultats et discussions.....	19
4.1 .Les rendements.....	19
4.2. Résultats de Dosage	20
4.3. Résultats d'activité antioxydant.....	23
4.3.1 Résultats Test de FRAP.....	23
4.3.2. Résultats Test DPPH.....	25
4.3.3 Résultats Test de TAC.	28
4.3.4 Test ABTS.....	29

Introduction

Introduction :

La médecine traditionnelle est largement pratiquée dans tous les pays, et L'Algérie n'est pas exclue de cette discipline. Aujourd'hui, environ 90% de la population africaine n'utilisent que des plantes médicinales comme source thérapeutique et drogue végétale (Benhamou *et al.*, 2009).

Les plantes médicinales contiennent un grand nombre de molécules actives qui ont des effets thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces molécules ont été étudiées et reproduites chimiquement pour être incorporés dans de nombreux médicaments aujourd'hui (Chaouche *et al.*, 2021).

Ces dernières années, les études des activités antioxydants des plantes augmentent de façon remarquable en raison de l'intérêt accru pour leur potentiel d'utilisation comme source riches et naturels d'antioxydants. *L'Atriplex halimus* est l'un de ces plantes qui est utilisée à des fins thérapeutiques, elle appartient à la famille des Chenopodiaceae qui forment une vaste famille de 1400 espèces présentes dans le monde entier. *L'Atriplex* est le plus grand genre de cette famille, il comprend plus de 400 espèces répartis dans les régions tempérées et subtropicales. *Atriplex halimus* a reçu l'attention comme une source riche d'une variété de composés tels que les fibres (cellulose), les protéines, Les vitamines (B,C) et des sels minéraux (sodium, calcium, potassium, magnésium, phosphore) et pour ses activités biologiques utilisées en médecine traditionnelle. Il a été signalé pour ses nombreux bioactifs effets, y compris antioxydants (Chaouche *et al.*, 2021).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels par une étude analytique des articles évaluant les propriétés antioxydants des différents extraits de plante médicinale *Atriplex halimus*. Il est formé par deux parties :

- Première partie : c'est la partie bibliographique, qui comprend un chapitre sur *Atriplex halimus* L., et un chapitre sur le stress oxydatif
- Deuxième partie : c'est la partie expérimentale, qui comprend un chapitre sur le matériel et les méthodes utilisés, et un autre chapitre représente les résultats obtenus et leurs discussions. En fin une conclusion générale.

**Partie
bibliographique**

Chapitre1

Généralité sur la plante

1. Généralités sur *Atriplex halimus*

1.1. 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-turkis *et 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 (Talamali *et 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 (Talamali *et 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 1. Plantes d'*Atriplex halimus*: sous-espèce *schweinfurthii* (à gauche) et *halimus*(à droite)(Walker *et al.*, 2014).



Figure 02. *Atriplex halimus* (Baba sidi-kaci, 2010).

1.2. Taxonomie

Selon Benmansour(2014), la classification de plante *Atriplex halimus* est la suivante :

Tableau 01. La classification d' *Atriplex halimus* (Benmansour, 2014)

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Caryophyllidae
Ordre	Cariophyllales
Famille	Chénopodiaceae
Genre	<i>Atriplex</i>
Espèce	<i>Atriplex halimus</i>

1.3. Répartition géographique

1.3.1. Répartition géographique dans le monde

Les plantes du genre *Atriplex* sont présentes dans la plupart des régions du globe (Mâalem, 2011).

1.3.2. Répartition en Afrique

En Afrique du nord le genre *Atriplex* comprend 15 espèces spontanées, deux espèces naturalisées et deux espèces introduites. Ces espèces se répartissent en neuf espèces vivaces, une espèce biannuelle et neuf espèces annuelles (Mâalem, 2011).

1.3.3. Répartition en Algérie

L'*Atriplex* est spontané dans les étages bioclimatiques semi-arides et arides des plus grandes superficies correspondent aux zones dites steppiques (Batna, Biskra, Boussaâda, Djelfa, Saïda, M'sila, Tébessa, Tiaret) (Berri, 2008).

1.4. Composition chimique, activité biologique et utilisation

1.4.1. Composition chimique

L'étude chromatographique de l'extrait des feuilles d'*A. Halimus* a montré la présence de flavonoïdes. Ces composés ont des fonctions biologiques importantes chez la plante ; ils participent à la coloration des fleurs attirant ainsi les insectes pollinisateurs, possèdent des propriétés fongicides et protègent la plante contre l'attaque des parasites (Benhamou *et al.*, 2009).

1.4.2. Activité biologique

L'importance de l'*A. halimus* dans le fonctionnement des écosystèmes se reflète dans sa promotion du biote du sol, tout en agissant comme plante alimentaire pour les mammifères et les arthropodes. Son système racinaire profond diminue l'érosion du sol dans les zones arides, en raison de la stabilisation du sol. Les pousses riches en protéines d'*A. halimus* en font une espèce fourragère importante pour le bétail, en particulier les ovins et les caprins. Ces applications, ainsi que son utilisation continue dans les systèmes d'agriculture à faible intensité, devraient garantir que *A. halimus* reste une espèce végétale vitale dans les régions à faible pluviométrie (Walker *et al.*, 2013).

Les flavonoïdes sont des composés ont des fonctions biologiques importantes chez la plante ; ils participent à la coloration des fleurs attirant ainsi les

insectes pollinisateurs, possèdent des propriétés fongicides et protègent la plante Contre l'attaque des parasites (Benhamou *et al.*, 2009).

1.4.3. Utilisation

L'importance de l'*A. halimus* dans le fonctionnement des écosystèmes se reflète dans sa promotion du biote du sol, tout en agissant comme plante alimentaire pour les mammifères et les arthropodes. Son système racinaire profond diminue l'érosion du sol dans les zones arides, en raison de la stabilisation du sol. Les pousses riches en protéines d'*A. halimus* en font une espèce fourragère importante pour le bétail, en particulier les ovins et les caprins. Ces applications, ainsi que son utilisation continue dans les systèmes d'agriculture à faible intensité, devraient garantir que alimus reste une espèce végétale vitale dans les régions à faible pluviométrie (Walker *et al.*, 2013.)

De nombreux auteurs ont signalé les utilisations médicinales des halophtyles tout en décrivant l'importance économique de les plantes (Nedjimi *et al.*, 2012).

Les phytothérapeutes d'Arabe indigène utilisent les feuilles pour traiter les maladies cardiaques, le diabète (décoction) et le rhumatisme (Walker *et al.*,2014).

Chapitre2

**Les métabolites secondaires
et le stress oxydatif**

2. Les métabolites secondaires et le stress oxydatif

2.1. Les métabolites secondaires

2.1.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes (Lutge *et al.*, 2002) Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représentent également une source importante de produits pharmaceutiques (Bourgaud *et al.*, 2001). Ils appartiennent à des groupes chimiques variés: alcaloïdes, terpènes et composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

2.1.2. Classifications et fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être classés en trois groupes : les composés phénoliques, les composés azotés (les alcaloïdes) et les terpènes. (Bruneton, 2009)

2.1.2.1. Les composés phénoliques

Les poly phénols se caractérisent par la présence au moins d'un cycle aromatique à 6 carbones dans leur structure, lui-même porteur d'un nombre variable de fonction hydroxyles OH (Hennebelle *et al.*, 2004) .

Les principales classes des poly phénols sont :

A. Les acides phénoliques simples exemples :

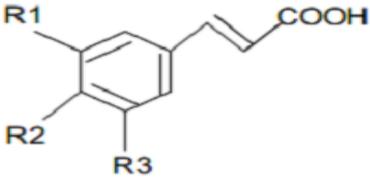
	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Figure 3. Principaux acides hydroxy-cinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

B. Les flavonoïdes : la structure de base des flavonoïdes est le noyau du flavone (2-phényl-benzo- γ pyrane) mais de point de vue classification, le groupe des flavonoïdes peut être divisé en plusieurs catégories. Exemples :

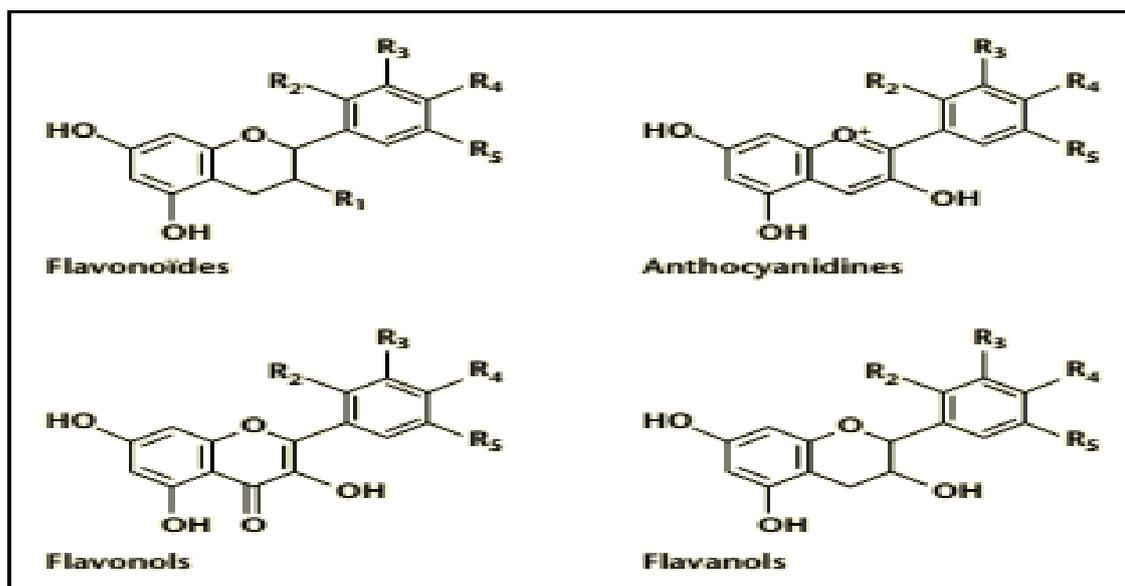


Figure 4. Structure chimique de quelques flavonoïde(Luis *et al.*,2016)

C. Les tannins : selon la structure, on a deux types de tannins :les tannins hydrolysables et les tannins condensés, dits aussi : proanthocyanidines. (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

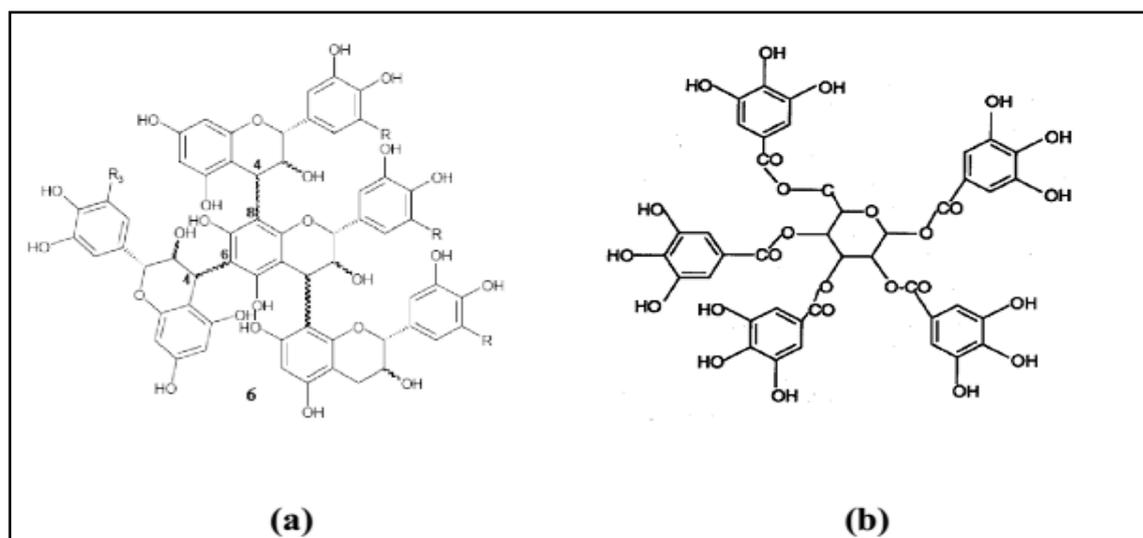


Figure 5. Structure chimique des tannins : (a) condensés et (b) hydrolysables (Cowam, 1999)

2.1.2.2. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Bruneton, 1999)

2.1.2.3. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone ils sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou non. Ils sont appelés aussi isoprénoïdes car leur dégradation thermique libère le gaz isoprène, Ils sont responsables de la couleur et l'odeur des plantes et des épices (François Nsemi .2010)

2.2. Le stress oxydatif

2.2.1. Définition :

Le stress oxydatif est un phénomène causé par un déséquilibre entre la production et l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les cellules et les tissus et la capacité des systèmes biologiques à détoxifier ces produits réactifs (Gabriele Pizzino *et al.*, 2017).

2.2.2. Les espèces réactives de l'oxygène

On appelle radical libre oxygéné toute molécule, neutre ou chargée, qui possède un électron célibataire, parfois plusieurs. Cela lui confère une grande réactivité chimique. On le représente par le symbole R. Les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont :

- L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$
- Le radical hydroxyle $\cdot OH$
- Le radical hydroperoxyde $HOO\cdot$
- Le radical alcoyle $R-O\cdot$
- L'oxyde nitrique $NO\cdot$
- Le radical hydrogène $H\cdot$

Il y a aussi des composés réactifs qui ne sont pas des radicaux libres: l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (eau oxygénée), l'anion peroxynitrite $ONOO\cdot$ (Dacosta, 2003).

2.2.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont les substances qui, à faible concentration par rapport au substrat oxydable (tous les types de molécules trouvées *in vivo*), retardent considérablement ou empêchent l'oxydation de ce substrat (Akhilesh *et al.*, 2014).

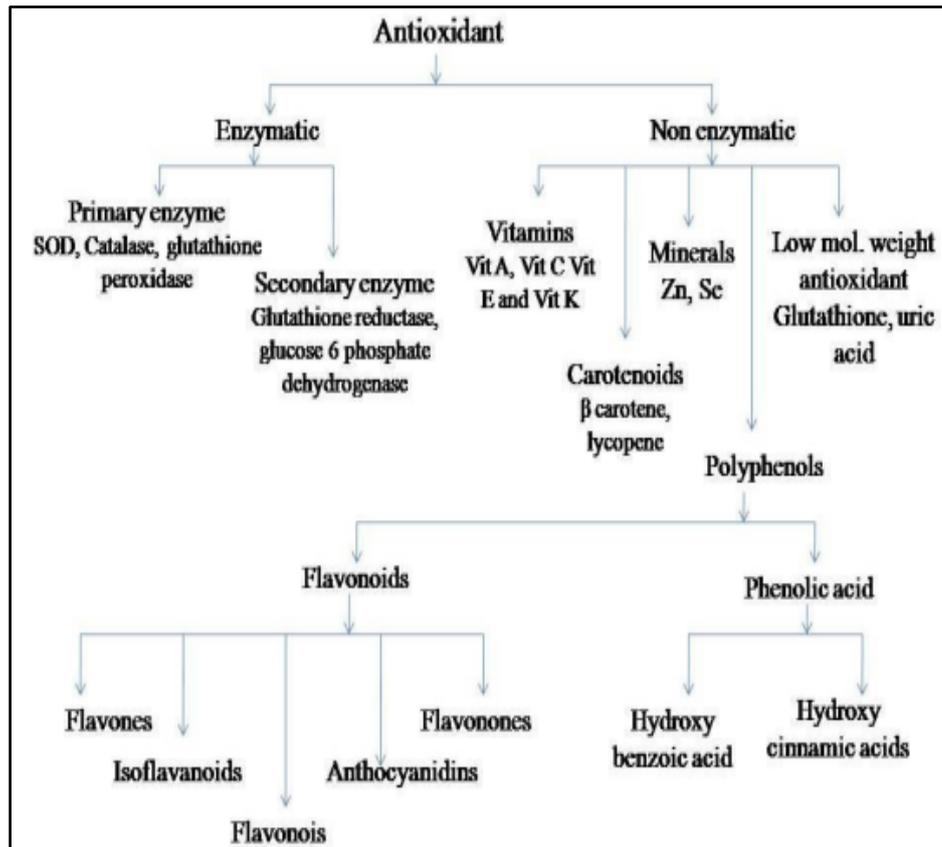


Figure 7. Les différents types d'antioxydants (Nand Kumar Keshari *et al.*, 2015).

**PARTIE
EXPERIMENTALE**

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3. Matériel et méthodes

Ce travail est une étude analytique de trois articles scientifiques qui se concentrent sur l'étude analytique de l'activité antioxydante d'*Atriplex halimus*, selon différentes méthodes. Ces articles sont les suivants :

- ❖ **Article 1:** 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.
- ❖ **Article 2 :** 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(1).
- ❖ **Article 3:** Chaouche T . Haddouchi F. Abbou F. Aissaoui M. Boudjemai O . Ghellai I. Senhadji S. 2021. Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of *Atriplex halimus* from two regions Algeria (El Oued and Tlemcen). *Genetics and Biodiversity Journal*, 59-67

3.1 Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette analyse est résumé dans le tableau suivant :

Tableau2. Le matériel végétal utilisé dans les trois articles.

Article	Matériel végétale
Article 1	La partie aérienne (feuilles, tiges) d' <i>A. halimusa</i> été récolté en mars 2008 à Bechar, en Algérie puis séchés et conservés pour une utilisation ultérieure (Benhamou <i>et al</i> , 2009).
Article 2	<i>Atriplex halimus</i> a été récolté durant les mois de novembre et mars, dans deux régions de Laghouat (Kasr El Hiran). Le matériel végétal a été identifié, lavé au laboratoire et séché à l'obscurité dans un endroit bien aéré, à température ambiante (Belhadj-Tahar <i>etal</i> , 2015).
Article 3	<i>A. halimus</i> a été récoltée dans deux régions différentes d'Algérie : EL-Oued et Nedroma-Tlemcen. Les feuilles ont été séchées dans un endroit bien ventilé à température ambiante (Chaouche <i>et al</i> , 2021).

3.2. Méthodes

3.2.1. Préparation des extraits

Article 1 :

A.Extrait méthanologique

D'après le protocole d'article de Benhamou avec son équipe de recherche en 2009 :

- ✓ 1 g de poudre des feuilles et des tiges d'*A.halimus*(1g) a été extrait, pendant 24h, avec 20 ml de méthanol 96,6 à température ambiante puis filtré à travers le papier filtre Whatman No 0,45mm. Les solutions résultantes ont été évaporées sous vide à 60° C par un évaporateur rotatif de type Bouchi R-200 à sec.
- ✓ Les résidus ont ensuite été dissous dans 3ml de méthanol. (Benhamou et *al* ,2009).

B.Fractionnement de l'extrait méthanologique

- ✓ L'extrait méthanologique sec des feuilles et des tiges a été traité avec 10ml d'eau bouillante pour dissoudre les flavonoïdes puis filtré par le papier filtre No 0,45 mm,c'était la solution aqueuse qui a été tout d'abord extrait avec 10ml d'acétate d'éthyle, puis avec10ml de butanol-1.
- ✓ Les deux extraits ont été évaporés et pesé puis dissous dans 3ml de méthanol.

Article 2 :

Extraction des composés phénoliques

Le protocole d'article de Belhadj et son équipe de recherche en Mai 2015 est :

- ✓ Le matériel végétal séché à l'air a été extrait en utilisant le système de solvant méthanol-eau (8/2).
- ✓ L'extrait brut a été collecté puis concentré à l'évaporateur rotatif à 40 °C et fractionné successivement avec l'éther de pétrole, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le butanol afin de fractionner les composés dans les matières brutes en fonction de leur polarité.

Article3 :**Extraction méthano-acétonique**

D'après le protocole d'article de Chaouch et son équipe de recherche en 2021, les préparations des extraits ont été effectuées par reflux pendant 3 heures de 10g de poudre végétale dans 200ml de méthanol-acétone (60-40) selon la méthode de Kelvin de (Albuquerque Mendes *et al.*, 2019).

- ✓ Les extraits ont été évaporés à 45°C sous pression réduite.
- ✓ Le rendement des plantes en extrait sec a été déterminé par le calcul de la relation

suivant :

$$R \text{ en } \% = [P1 - P2 / P3] \times 100$$

Sachant que : **P1** : poids du ballon après évaporation.

P2 : poids du ballon vide.

P3 : poids de départ.

3.2.2 Dosage de polyphénols

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par spectrométrie, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de poids sec (mg EAG/g PS) :

Pour l'article 1

- ✓ Dans un tube à essai, un volume de 200ml de l'extrait a été mélangé avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml d'une solution de carbonate de sodium à 7,5%.
- ✓ Après agitation et incubation de 30 min, l'absorbance a été mesurée à 765nm par spectrophotomètre UV-vis Jenway 6405.
- ✓ L'acide gallique a été utilisé comme standard pour tracer la courbe d'étalonnage.

Pour l'article 3

- ✓ Un volume de 100µL de chaque extrait à une concentration de 1mg/ml a été mélangé avec 2ml de solution de carbonate de sodium (2%) fraîchement préparée puis agité avec un vortex.
- ✓ Après 5min,100µL du réactif folin-Ciocalteu dilué (1/20) ont été ajoutés et le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 30min à température ambiante.
- ✓ L'absorbance a été lue à 700nm.
- ✓ Différentes concentrations d'acide gallique ont été utilisées pour préparer une courbe d'étalonnage.

3.2.3. Dosage des flavonoïdes

Article 2

La quantification des flavonoïdes a été effectuée comme suit :

- ✓ Une quantité de 500 µl de solution méthanolique de quercétine à différentes concentrations ou de l'extrait méthanolique dilué est ajoutée à 500 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2 %. Chaque test est répété trois fois.
- ✓ Après incubation de 15 min à la température ambiante, l'absorbance de la solution de couleur rosâtre a été mesurée à 430 nm.
- ✓ La teneur en flavonoïdes totaux des extraits des plantes est exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme du poids de la matière sèche (mg EQ)/g PS).

Article 3

D'après le protocole de cet article :

- ✓ 250µl de chaque extrait à une concentration de 1mg/ml a été mélangé avec 75µl de nitrite de sodium (5%) puis incubé pendant 6min à température ambiante.
- ✓ 150µl de chlorure d'aluminium à 10% a été ajouté.
- ✓ Après 5 min,500µl de solution d'hydroxyde de sodium (1M) a été ajouté à chaque extrait et le volume a été ajusté à 2,5 ml avec de l'eau distillée et bien mélangé.
- ✓ L'absorbance du mélange a été déterminé à 510nm. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine/g de poids sec (mg EQ/g PS).

3.2.4 Dosage des tannins condensés.

Article 2

La quantification des tannins condensés est estimée par utilisation de la méthode à vanilline en milieu acide (Belhadj *et al.*, 2005)

- ✓ Un volume de 500 µl de l'extrait brut a été ajouté à 2500 µl de la solution de vanilline (1%) et l'acide chlorhydrique (8%) puis mélangé à l'aide d'un vortex et laissé réagir à 30 °C dans un bain marie pendant 20 min.
- ✓ L'absorbance à 500 nm a été mesurée. La concentration des tannins est estimée en milligrammes équivalents de catéchine par gramme du poids de la matière sèche (mgEC)/g PS).

Article 3

D'après le protocole d'article de Chaouch et son équipe de recherche en 2021 (Chaouche *et al.*, 2021)

- ✓ Un volume de 500µL d'extrait a été ajoutée à 3 ml de solution de vanilline (4%) et à 1,5 ml d'acide sulfurique concentré respectivement
- ✓ Ce mélange a été incubé pendant 15min à la température 25°C
- ✓ L'absorbance a été mesurée à 500nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de catéchine par gramme du poids de la matière sèche (mg EC/g PS).

3.2.5 Activité antioxydant

3.2.5.1 Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing- antioxydant power)

L'analyse du pouvoir réducteur, d'un antioxydant, est basée sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe³⁺), en fer ferreux (Fe²⁺), en présence des antioxydants réducteurs (Bijoyet *et al.*, 2008)

Article 1 et 3

La détermination de la puissance réductrice des extraits des 2 articles est réalisée selon la méthode d'oyaizu. (Oyaizu, 1986).

- ✓ les divers concentration des extraits (mg/ml) ont été mélangé dans l'eau distillée avec du tampon phosphaté (2,5 ml;0,2M;pH 6,6) et aussi 1% de ferricyanure de potassium solution (2,5ml ; K₃(Fe(CN)₆).
- ✓ Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20min
- ✓ De l'acide trichloracétique (2,5ml ; solution aqueuse à 10%) a été ajouté au mélange qui a été ensuite centrifugé à 3000 rpm pour 10min
- ✓ Le surnageant (2,5ml) a été mélangé avec de l'eau distillée (2,5ml) et solution de FeCl₃ fraîchement préparé (0,5ml ; 0,1%).
- ✓ L'absorbance a été mesurée à 700nm, L'acide ascorbique a été utilisé comme témoins positif dans cette méthode, l'absorbance est élevée si la molécule avait une puissance réductrice.

3.2.5.2 Test DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits obtenus à partir la plante *A.halimus* est évaluée en mesurant leur capacité de piéger le radical DPPH. La réduction du radical DPPH, ayant une couleur violet foncé, par les groupements hydroxyles des antioxydants présents dans les extraits, conduisant à la formation d'un composé stable d'une couleur jaune. La couleur violet foncé, mesurable à 515 et 517 nm, est inversement proportionnelle à l'activité anti radicalaire de l'extrait (Locatelli et *al.*, 2010).

Le pourcentage de piégeage du radical DPPH est calculé selon l'équation :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}) / A \text{ contrôle}] \times 100$$

Sachant que : **A contrôle** : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A extrait : absorbance en présence d'extrait.

Article 1

- ✓ 50µl de différentes concentrations des extraits de méthanol ont été ajoutés à 1950ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,025 g/l)
- ✓ Incubation pendant 30min à température ambiante
- ✓ L'absorbance a été lue à 515nm.

- ✓ Le pourcentage de piégeage du radical DPPH est calculé selon l'équation précédente.
- ✓ La concentration de l'extrait fournissant une inhibition de 50% (CE50) a été calculée sur la base du graphique.
- ✓ La solution méthanolique d'acide ascorbique a été utilisée comme contrôle positif.

Article 2

Selon la méthode décrit par (Williams *et al.*, 1995)

- ✓ 1 ml de solution méthanolique de DPPH 250 μM a été ajouté à 1 ml de l'extrait en solution dans du méthanol à différentes concentrations.
- ✓ Après agitation, les tubes ont été placés à l'obscurité, à température ambiante pendant 30 minutes. Le test a été répété 3 fois pour chaque concentration.
- ✓ La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.
- ✓ Le contrôle négatif est composé de 1 ml de la solution DPPH (250 μM) et de 1 ml de méthanol.
- ✓ Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique, α -tocophérol et 3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test.
- ✓ Les résultats ont été exprimés en activité antioxydant et les valeurs de l'EC50 ont été déterminées graphiquement.

Article 3

Selon la méthode qui est utilisée par (Chaouche *et al.*, 2014).

- ✓ 50 μl de chaque extrait ont été ajoutés à 1950 μl d'une solution méthanolique de DPPH à $6,34 \times 10^{-5} \text{M}$. Pour chaque concentration.
- ✓ 50 μL de méthanol a été mélangé avec 1950 μL solution méthanolique de DPPH.
- ✓ Les tubes ont été incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.
- ✓ La réduction de DPPH est accompagnée par le changement de la couleur de la solution de pourpre au jaune
- ✓ L'absorbance a été mesurée à 515nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

- ✓ Le témoin positif utilisé est l'hydroxyanisolebutyle (BHA).
- ✓ Le pourcentage de piégeage du radical DPPH est calculé selon l'équation précédente.
- ✓ L'activité des radicaux a été exprimée en IC50 ($\mu\text{g/ml}$), soit la concentration extraite nécessaire pour réduire de 50 %. Une valeur IC50 inférieure correspond à l'efficacité de l'extrait.

3.2.5.3 Activité antioxydant totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo(V) à pH acide (Prieto *et al.*, 1999)

Article 2

Selon la méthode décrit par (Prieto *et al.*, 1999)

- ✓ Un volume de 0.2 ml de chaque extrait méthanolique a été mélangé avec 2 ml de solution du réactif (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium).
- ✓ Les tubes ont été vissés et incubés à 95 °C pendant 90 min.
- ✓ Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 2 ml de la solution du réactif et 0.2 ml du méthanol.
- ✓ La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les expériences ont été répétées 3 fois.

Article 3

Selon la méthode décrit par (Prieto *et al.*, 1999)

- ✓ 0,1 ml d'extrait phénolique a été combiné à 1 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0,6 M, 28 mM phosphate de sodium et molybdate d'ammonium de 4 mM).

- ✓ Les tubes ont été incubés à 95 °C pendant 90 min puis refroidis à la température ambiante.
- ✓ L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 695 nm contre un témoin. La capacité antioxydant a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de poids sec (mg de EAG/g de poids sec).
- ✓ La courbe d'étalonnage d'acide gallique était de 0-400 mg/mL.

3.2.5.4. Evaluation de l'activité anti radicalaire par ABTS

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de couleur bleu-verte en le transformant en ABTS incolore par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (Re *et al.*, 1999)

Article 2

Selon la méthode décrit par (Miller *et al.*,1996)

- ✓ 10 ml d'ABTS [2,2'-azino-bis (3- éthylebenzothiazoline-6-sulfonique)] (20 mM) a été mélangé avec 100 µl de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) (70 mM).
- ✓ Le mélange a été laissé à l'obscurité à température ambiante pendant 24 h.
- ✓ 1 ml de ce dernier, a été ajouté à 25 ml de solution tamponnée de phosphate (0.2 M); (pH=7,4).
- ✓ 10 µl de chaque extrait a été mise en présence de 1ml du radical cation ABTS^{•+}.
- ✓ L'absorbance est enregistrée à 734 nm après 6 min. contre un blanc.
- ✓ Le pouvoir inhibiteur (PI) a été calculé en fonction de la concentration de l'ext (l'antioxydant) selon l'équation ci-dessous et les valeurs de l'IC₅₀ ont été déterminées graphiquement

$$PI \% = \left(\frac{Ac - At}{Ac} \right) * 100$$

Sachant que : **Ac** : absorbance du contrôle et

At : absorbance du test effectuée

Chapitre 4 Résultats et discussions

4. Résultats et discussions

4.1 .Les rendements

Le tableau ci-dessous présente les résultats des rendements des trois articles :

Tableau 3 : Les rendements de l'extraction de plant d'*A.halimus*

Extraits	Rendement (%) Article 1	Rendement (%) Article2	Rendement (%) Article3
FAE	2.66± 0.57 (feuilles) 1± 0.0020 (tiges)	0.40 ± 0.01 (Partie aérienne)	(-)
FB	1± 0.00 (feuilles) 1± 0.00 (tiges)	5.96 ± 0.23 (Partie aérienne)	(-)
FM	24± 1.41 (feuilles) 7.5± 0.7020 (tiges)	(-)	(-)
FD	(-)	0.60 ± 0.02 (Partie aérienne)	(-)
FM-A	(-)	(-)	(18.5%) (El-oued) (14.8%) (Tlemcen)

Selon Benhamou *et al.*, 2009. L'extrait méthanolique des feuilles présentait teneur plus élevée (24± 1,41 %) Par rapport aux tiges extraites (7,5± 0,70%).

Selon Belhadj *et al.*, 2015. Les extraits des fractions butanoliques sont les plus élevés en termes de rendements pour la partie aérienne d'*Atriplex halimus* (5,96%).

Selon Chaouch *et al.*, 2021. Le rendement de l'*Atriplex halimus* d'El Oued est légèrement plus élevé (18,5 %) que celui de la même espèce recueillie à Tlemcen (14,8 %), mais ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par Belhadj -Tahar et ses collaborateurs (2015), Benhamouet ses collaborateurs(2009) ont obtenu un rendement de 24 %, ce qui est supérieur à ses résultats. Cette différence peut être due aux solvants utilisés lors d'extraction et au type d'extraction.

L'étude réalisée par Ould Kaddour Asma Souad *et al.*,(2019), disait que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles présente une teneur plus élevée (24,87 %) par

rapport aux tiges extraites, confirme les résultats de Benhamou *et al.*,(2014) où l'extrait méthanolique des feuilles présentait teneur plus élevée par rapport aux tiges 24% et 7.4% respectivement.

Pour Mallal *et al.*,(2019), les fractions examinées de la plante *Atriplex Nummularia* (même famille d'*Atriplex halimus* (Chenopodiaceae)) ont montré que le rendement le plus élevé était celui de la fraction aqueuse (8.56 %) et que le rendement le plus faible était celui de dichlorométhane acétate d'éthyle (3.85%).

4.2. Résultats de Dosage

Les résultats des différents dosages sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : La quantification des métabolites secondaires.

Articles	Extraits	Phénols totaux	Flavonoïdes	Tannins
Article 1	FM	10.12±2.24 (feuilles) 3.77± 0.06 21(tiges)	(-)	(-)
Article2	FAE	1,616 ± 0,005	0,058 ± 0,001	0,122 ± 0,002
	FD	1,582 ± 0,034	0,026 ± 0,001	0,039 ± 0,001
	FB	3,648 ± 0,001	0,120 ± 0,003	1,036 ±0,002
Article 3	FM-A	10.25 ± 1.17 (AH1) 8.20 ± 0.84 (AH2)	1.82 ± 0.17 (AH1) 3.09 ± 0.13 (AH2)	9.23 ± 1.09 (AH1) 1.71 0.34 (A H2)

A partir du tableau ; on remarque que :

Pour Benhamou *et al.*, (2009), les teneurs des extraits méthanoliques des deux parties d'*A. halimus* varient de $3,77 \pm 0,06$ mg EAG/g PS dans les tiges et $10,12 \pm 2,24$ mg EAG/g PS dans les feuilles.

Pour Belhadj *et al.*, (2015) ; les résultats indiquent que la fraction butanolique de l'extrait d'*A. halimus* possède une teneur élevée en phénols totaux ($3,648 \pm 0,001$ mg EAG/g MS), en flavonoïdes $0,120 \pm 0,003$ mg EQ/g MS et en tanins $1,036$ mg EC/g MS. En second rang, vient la fraction acétate d'éthyle avec des teneurs en poly phénols totaux de $1,616 \pm 0,005$ mg EAG/g MS, en flavonoïdes et en tanins : $0,058 \pm 0,001$ mg EQ/g MS et $0,122 \pm 0,002$ mg EC/g MS respectivement.

Pour Chaouch *et al.*, 2021, les résultats indiquent que l'*Atriplex halimus* de la région d'El Oued a des teneurs en poly phénol total et en tanins plus élevée ($10,25 \pm 1,17$ mg EAG/g PS) et ($9,23 \pm 1,09$ mg EC/g PS) par rapport à celle de Tlemcen dont les contenus sont ($8,20 \pm 0,84$ mg EAG/g PS) et ($1,71 \pm 0,34$ mg EC/g PS) respectivement. La teneur en flavonoïdes de l'*Atriplex halimus* de Tlemcen ($3,09 \pm 0,13$ mg EC/g PS) est légèrement supérieure à celui d'El Oued ($1,82 \pm 1,09$ mg EC/g PS). Ces résultats concernant les composés phénoliques sont comparables à ceux de l'extrait méthanique ($10,12 \pm 2,24$ mg EAG/g PS) de (Benhamou *et al.*, 2009). Cependant, ces résultats concernant les composés phénoliques, flavonoïdes et tannins sont loin d'être comparées aux travaux de Belhadj-Tahar *et al.*, (2015).

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est due probablement à la composition phénolique (Hayouni *et al.*, 2007) aux facteurs génotypiques (El-waziry *et al.*, 2009) les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (Ksouri *et al.*, 2008)

L'étude réalisée par Ould Kaddour Asma Souad *et al.*, (2019), les extraits de feuilles ont révélé une teneur totale en flavonols élevée par rapport aux extraits de tiges. Les feuilles de Mazagran ont montré relativement le plus élevé concentration ($34,87 \pm 1,32$ mg ER/g E), que celles de Biskra ($30,20 \pm 0,92$ mg RE/g LE) et celles de Sig ($16,59 \pm 0,77$ mg ER/g E). En outre, la quantité importante de flavonols a également

été révélé dans les tiges de Mazagran ($11,23 \pm 0,52$ mg ER/gE), comparativement à Sig ($5,28 \pm 0,10$ mg RE/g LE) et tiges de Biskra ($1,54 \pm 0,07$ mgRE/g LE).

Nous avons trouvé que Benhamou *et al.*, 2014. l'extrait méthanolique des feuilles présentait (2.48 mg EC/g MS) des flavonoïdes et (10.12 mg EAG/g PS) des Phénols totaux, et l'extrait des tiges présentait (0.56 mg EC/g MS) et (3.77 mg EAG/g PS) comme valeur de flavonoïdes et Phénols totaux respectivement.

Et encore par Benhamou *et al.*, 2014. L'extrait méthanolique des tiges de la plante *Anabasis articulata* présente une valeur de phénols totaux 43.14mg EAG/g PS plus que flavonoïdes 4.85 mg EC/g MS.

Pour Kamel *et al.*, 2015. L'extrait méthanolique de la plante *Atriplex laciniata* participe en même famille '*Atriplex halimus* (Chenopodiaceae) a la meilleur fraction riche en phénols totaux puis l'acétate d'éthyle par valeur 311.32 mg EAG/g PS et 278.79 mg EAG/g PS respectivement.

Selon Mallal *et al.*, 2019. l'extrait de diethyl ether acétate d'éthyle des feuilles *Atriplex Nummularia* a révélé une teneur totale en flavonols élevé avec une valeur de 23.43 mg EC / g MS.

Pour Hayet Ben Haj *et al.*, 2014. La quantité phénoliques totaux de la plante *Beta vulgaris L. conditiva* qui participe au même ordre d'*Atriplex halimus* (Caryphyllales) ont diminué après le fractionnement avec de l'acétonitrile, les concentrations les plus élevées ont été obtenues dans les fractions soluble dans l'acétonitrile et leur quantités de phénols pour les racines et les tiges étaient d'environ 6.6 et 10.4 mg EAG/g PS respectivement.

L'étude réalisée par Marina *et al.*, 2005. l'extrait méthanolique des quelque espèce de *Plantago* qui participe a la même classe d'*Atriplex halimus* (Magnolipsida) a montré que l'extrait de *Plantago serraria* a révélé la quantité plus élevée des phénols totaux.

D'autre part Fernard *et al.*, 2012. la fraction hydroacétonique de la plante *Amaranthus cruentus* a la meilleur fraction riche en phénols totaux (10.18 mg EAG/100g) plus que les deux autre fractions.

Les deux plante (*Amaranthus cruentus/ Amaranthus hybridus*) ont la même valeur de phénols totaux.

Selon Mghezzi *et al.*, 2016.l'extrait éthanolique d'*Acacia ehrenbergiana* participe a la même classe d'*Atriplex halimus* (Magnolipsida) exhibe les valeurs les plus important des phénols totaux surtout au niveau des feuilles avec une valeur suivante 133.89 mg EAG/g MS.

Pour Afsar *et al.*, 2016.les fractions acétate d'éthyle et butanolique de la plante *Acacia hydaspica* étaient les valeurs les plus importants des phénols totaux respectivement.

4.3. Résultats d'activité antioxydant

4.3.1 Test de FRAP

Concentrations d'EC50 de pouvoir réducteur des différents extraits.

Tableau 5 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical FRAP.

Article	Extraits	EC50 mg/ml
Article1	FM (feuilles)	4.55
	FM (tiges)	3.24
	FAE. (feuilles)	1.51
	FAE (tiges)	1.60
	FB (feuilles)	1.76
	FB (tiges)	5.96
Article3	FM-A	
	AH1	>5
	AH2	>5

D'une part Benhamou *et al.*, 2009 . L'utilisation du paramètre EC50 est un indice pour comparer et pour exprimer la capacité de réduction de puissance du bioactif. , l'activité de récupération la plus élevée de DPPH était dans les fractions butanoliques et acétates d'éthyle des feuilles, les valeurs EC50 étaient 1,73 et 1,51 mg/ml respectivement.

Pour Belhadj *et al.*, (2015) la valeur EC50 de l'*Atriplex halimus* des deux régions (El Oued et Tlemcen) est supérieure à 5 mg/mL, ce qui signifie une faible capacité de réduction . Ces résultats sont inférieurs à ceux de Benhamou et al. (2009), qui ont montré que la fraction d'acétate d'éthyle a la meilleure puissance réductrice avec une EC50 de 1,5 mg/mL, puis la fraction butanoïque (EC50 = 1,76mg/mL) et l'extrait méthanol (EC50 = 4,55 mg/mL) .

D'autre part Benhamou *et al.*, 2014. l'activité de récupération dans l'extrait méthanolique des feuilles présente une valeur d'EC50=4.55mg/ml avec EC=3.24mg/ml des tiges. Ces résultats sont inférieurs à ceux de Benhamou et al. (2009).

Pour Benhamou *et al.*, 2014. L'extrait méthanolique de la plante *Anabasis articulata* présente une valeur de 0.52mg/ml plus forte que résultat obtenue par Benhamou et al. (2009).

Selon Mallal *et al.* , 2019. l'extrait de dichlorométhane acétate d'éthyle des feuilles *Atriplex Nummularia* a révélé l'activité la plus élevée et puis l'extrait de diethyl ether acétate d'éthyle.

Pour Hamza *et al.*, 2021.l'extrait d'huile essentielle d'*Atriplex semibaccata* qui participe en même famille d'*atriplex halimus* (Chenopodiaceae) a révélé une activité de récupération de 84µg/ml.

D'autre part Fernard *et al.*, 2012. la fraction aqueuse des deux plantes (*Amaranthus cruentus/ Amaranthus hybridus*) a la meilleure puissance réductrice.

Pour Afsar *et al.*, 2016. la fraction butanoliquea révélé l'activité réductrice la plus élevée $EC_{50}=39\mu\text{g/ml}$ puis acétate d'éthyle $EC_{50}=40\mu\text{g/ml}$.

4.3.2. Test DPPH

Tableau 6 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

Articles	Extraits	EC (mg/ml)
Article1	• FAE (feuilles)	2.04
	• FB (feuilles)	1.73
	• FM (feuilles)	31.83
	• FM (tiges)	20.58
Article2	• FAE	0.230
	• FD	0.094
	• FB	0.405
Article3	FM-A	
	• AH1	0.520
	• AH2	0.193

Les piègeurs les plus efficaces du radical libre DPPH sont ceux possédant les valeurs EC_{50} les plus basses.

Selon Benhamou *et al.*, 2009. l'activité de récupération de DPPH la plus élevée était Dans les fractions butanoliques et acétates d'éthyle feuilles, les valeurs CE_{50} étaient 1,73 et 2,04 mg/ml respectivement.

Belhadj *et al.*, 2015. Ils ont trouvé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée était Dans les fractions dichlorométhane, la valeur EC50 était 0.094mg/ml par contre la valeur plus faible était dans la fraction butanolique avec EC50 était 0.405g/ml.

Pour Chaouch *et al.*, 2021. L'activité de récupération de DPPH la plus élevée était de la région de (Tlemcen) avec EC50 était 0.193mg/ml.

Cependant, ses résultats obtenus sont meilleurs que ceux de Benhamou *et al.* (2009), donc on trouver que le meilleur résultat était de Chaouch *et al.*, 2021 Dans les fractions dichlorométhane, la valeur EC50 était 0.094mg/ml.

L'étude réalisée par Ould Kaddour Asma Souad *et al.*, 2019. l'activité de récupération de DPPH des feuilles d'*Atriplex halimus* la plus faible était de la région de (Biskra) avec EC50 était 0.078mg/ml.

Selon Gattouche *et al.*, 2020. l'activité de récupération de DPPH la plus élevée était Dans les fractions méthanolique avec une valeur d'EC50 était 11.75mg/ml puis les fractions d'éthyle avec une valeur d'EC était 23.20mg/ml et finalement les fractions butanolique par EC était 57.16mg/ml.

D'autre part Kamel *et al.*, 2015. l'activité de récupération de DPPH la plus élevée était Dans les fractions méthanolique avec une valeur d'EC50 était 82 µg/mL finalement la fraction acétate d'éthyle par valeur EC50=382 µg/mL.

Selon Mallal *et al.*, 2019. l'extrait de dichlorométhane acétate d'éthyle des feuilles *Atriplex Nummularia* a révélé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée EC50=3.07mg/ml et moins activité est présenté dans la fraction aqueuse avec EC50=4.66mg/ml.

pour Hamza *et al.*, 2021. l'extrait d'huile essentielle d'*Atriplex semibaccata* présente une valeur d'EC=450µg/ml d'activité de récupération de DPPH.

Pour Hayet Ben Haj *et al.*, 2014. l'activité de récupération de DPPH la plus élevée de la plante *Beta vulgaris L. conditiva* a révélé dans les fractions insolubles dans l'acétonitrile avec $EC_{50}=10\mu\text{g/ml}$.

Pour Marina *et al.*, 2005. Ils ont trouvé que l'extrait méthanolique de *Plantago serraria* a révélé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée $EC_{50}=7.6\mu\text{g/ml}$ et moins d'activité est présentée dans la fraction méthanolique de *Plantago afra* avec $EC_{50}=85.22\mu\text{g/ml}$.

D'après Fernard *et al.*, 2012. la fraction hydroacétonique de la plante *Amaranthus cruentus* a révélé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée $EC_{50}=75\mu\text{g/ml}$.

Encore une fois Fernard *et al.*, 2012. la fraction hydroacétonique de la plante *Amaranthus hybridus* a révélé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée $EC_{50}=56\mu\text{g/ml}$.

Selon Mghezzi *et al.*, 2016. l'extrait éthanolique d'*Acacia ehrenbergiana* a révélé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée $EC_{50}=113.63\mu\text{g/ml}$.

D'après Algfri *et al.*, 2015. la fraction méthanolique d'*Acacia nilotica* participe a la même classe d'*Atriplex halimus* (Magnolipsida) a révélé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée $EC_{50}=6.28\mu\text{g/ml}$.

Selon Afsar *et al.*, 2016. la fraction butanolique et acétate d'éthyle de la plante *Acacia hydasypica* a révélé l'activité de récupération de DPPH la plus élevée $EC_{50}=16.7\mu\text{g/ml}$ et $98\mu\text{g/ml}$ respectivement.

4.3.3 Test de TAC.

Tableau 7 : la Capacité antioxydant totale des extraits.

Article	Extraits	Activité antioxydant totale
Article2	• FAE	0.241
	• FD	0.110
	• FB	0.112
Article3	FM-A	
	• AH1	5.77
	• AH2	7.69

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 mgAA/gMS) et finalement 0,110 mgAA/gMS pour la fraction dichlorométhane de la même plante.

D'une part Chaouch *et al.*, 2021. *Atriplex halimus* d'El Oued a une capacité antioxydant totale légèrement inférieure à celle de Tlemcen, avec des valeurs 5,77 0,25 mg EAG/g PS et 7,69 0, 21 mg EAG/g PS , respectivement.

D'autre part Benhamou *et al.*, 2014 ils ont marqués Les valeurs de la capacité antioxydant totale de la fraction méthanolique des feuilles et des tiges présentent 11.51mg EAA/g MS et 1.64 mg EAA/g MS respectivement.

Encore une fois Benhamou *et al.*, 2014. L'extrait méthanolique de la plante *Anabasis articulata* présente une valeur de la capacité antioxydant totale de 13.99 mg EAA/g MS plus que l'*atriplex halimus*.

Selon Mallal *et al.*, 2019. l'extrait de dichlorométhane acétate d'éthyle des feuilles *Atriplex Nummularia* a révélé une capacité antioxydant totale très forte (20.28 mg EAG/g MS) et finalement l'extrait aqueux (11,83 mg EAG /g MS) Donc plus que l'*Atriplex halimus*.

Selon Mghezzi *et al.*, 2016.l'extrait éthanolique d'*Acacia ehrenbergiana* a révélé une capacité antioxydant totale très forte (68.67mg EAG/g MS).

Pour Afsar *et al.*, 2016.les fractions butanolique et acétate d'éthyle de la plante *Acacia hydaspica* ont révélé une même capacité antioxydant totale très forte (1.7µg/ml).

4.3.4 Test ABTS

Tableau 8 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical cation ABTS.

Article	Extrait	IC50 (mg /ml)
Article	• FAE	0.233
	• FD	0.283
	• FB	0.202

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical cation ABTS

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'ICd'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'IC50 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 IC₅₀=70µg/ml.

L'étude réalisée par Afsar *et al.*, 2016. la fraction butanolique de la plante *Acacia hydaspica* Présentait une valeur plus élevée d'ABTS avec IC₅₀=98µg/ml.

CONCLUSION

Conclusion :

La présente étude s'intéresse à l'évaluation de l'activité antioxydant (anti-DPPH, anti-ABTS, FRAP, TAC) des feuilles et des tiges d'*Atriplex halimus*. d'une part et la détermination de la teneur en composés phénoliques de chaque extrait (phénols totaux, flavonoïdes, tannins) d'autre part.

La détermination des rendements en extraits a montré une rentabilité importante chez l'*Atriplex halimus*. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique a manifesté un bon rendement avec 24 %, alors que le rendement le plus faible a été de 0.4 % d'extrait acétate d'éthyle de la même plante.

La quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en poly phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu, en flavonoïdes et en tannins. Les résultats obtenus nous ont révélé que l'extrait riche en polyphénols est l'extrait méthano-acétonique et méthanolique avec (10.25 et 10.12 mg EAG/g PS) ainsi que l'extrait riche en flavonoïdes et tannins est l'extrait méthano-acétonique par valeurs (3.09 et 9.23 mg EC/g PS) respectivement.

L'évaluation du potentiel antioxydant étudié par le test DPPH a révélé que l'activité de récupération de DPPH la plus élevée était dans les fractions dichlorométhane, la valeur EC₅₀ est 0.094 mg/ml.

L'évaluation du pouvoir antioxydant contre le radical ABTS^{°+} a révélé une valeur plus élevée d'ABTS avec IC₅₀ = 0.202 mg/ml de l'extrait butanolique.

L'évaluation du potentiel antioxydant étudié par le test FRAP a révélé que l'activité de récupération la plus élevée de FRAP était dans la fraction acétate d'éthyle des feuilles avec une valeur CE₅₀ étaient 1,51 mg/ml.

La valeur 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).

Références bibliographique

A

Afsar T., Razak S., Rashid Khan M., MawashS. , Almajwal A ., Shabir M., Ihsan U.,2016 Evaluation of antioxidant, anti-hemolytic and anticancer activity of various solvent extracts of *Acacia hydasypica* R. Parker aerial parts. BMC Complementary and Alternative Medicine .16:258

Akhilesh Kumar Verma, Subhash Chandra, Rana Gopal Singh, Tej Bali Singh, Shalabh Srivastava, and Ragini Srivastava. “SerumProlidase Activity and Oxidative Stress in DiabeticNephropathy and End Stage RenalDisease: A CorrelativeStudywith Glucose and Creatinine,” *BiochemistryResearch International*, vol. 2014, Article ID 291458, 7 pages, 2014.

Algfri S., alshakk A., munaiem r T., almaqdi d H., Antioxidant Activity of The Leaves Of *Acacia nilotica subspecies kraussiana* .vol:3

Al-Turkis T.A; Omer. S; Ghafoor. A, 2000. A synopsis of the genus *Atriplex halimus.L* ,(Chenopodiaceae) in Feddes Repert, 111,261-293.

B

Belhadj Tahar,S. Hadj-Mahammed, M.et Yousefi, M., (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'Haloxylonscopariumpomel du Sahara septentrional. Annales des Sciences et Technologie, 7(11) : 258-264.

Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. C. R. Chimie, 12: 1259–1266

Benhammou, N.,Belyagoubi,L.,Bekkara,FA. 2014.Phenolic contents

Andantioxidant activities in vitro of same selected Algerian

plants,vol_8(40).pp.1198_1207

Bijoy, M., Jayati, S. et Prabir, K.S. 2008. Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. Food Research International. 41:5586-593

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Edition. Lavoisier. Paris. PP 227, 240-242, 371.

C

Chaouche., T.M , Haddouchi F . , Abbou F . , Aissaoui M . , Boudjemai O . , Ghellai I., Senhadji S.,(2021). Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of *Atriplex halimus* from two regions Algeria (El Oued and Tlemcen).

D

Dacosta Y. (2003).Les phytonutriments bioactifs. Edition YVES DACOSTA. Paris. p 3, 7, 26, 31, 34.

E

El-Waziry A.M.; Nutritive value assessment of ensiling or mixing Acacia and Atriplex using in vitro gas production technique; Res. J. Agric. Biol. Sci. 3(6): 605-614.

F

Fernand W., Adama H., Jeanne F., Odile G.,(2012). Phytochemical Composition, Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of *Amaranthus cruentus* L. and *Amaranthus hybridus* L. Extracts. Pharmaceuticals, 5, 613-628.C

G

- **Gabriele Pizzino, Natasha Irrera, MariapaolaCucinotta, Giovanni Pallio, Federica Mannino, Vincenzo Arcoraci, Francesco Squadrito, Domenica Altavilla, and Alessandra Bitto.** OxidativeStress: Harms and Benefits for Human Health. *OxidativeMedicine and Cellular Longevity* Volume 2017, Article ID 8416763, 13 pages.

Gálvez M, Martín-Cordero C, Houghton PJ, Ayuso MJ. Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. J Agric Food Chem. 2005 Mar

23;53(6):1927-33.

Gen. Biodiv. J., Special issue (Characterization and valorisation of Plants), 59-67.

H

Hamza Z. , Manar I. , Souad L. , Eleni G. P. , Soukaina O., Sara E. , Yedir O., Rachid H. , Mariam El Ad., Ahmed O.,(2021). Chemical Composition, Antioxidant, and Antibacterial Activities of Essential Oil of *Atriplex semibaccata* R.Br. Aerial Parts: First Assessment against Multidrug-Resistant Bacteria. *Agronomy*,11, 362 :1-14.

Hayet Ben H., Ahmed S., Ismahen E., Mohamed Moncef C., Phillipe T., Nabiha B.,2014. Betalain and Phenolic Compositions, Antioxidant Activity of Tunisian Red Beet (*Betavulgaris L. conditiva*) Roots and Stems Extracts, *International Journal of Food Properties*, 17:9, 1934-1945.

Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M. and Hamdi M.; (2007).The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera L.* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts; *Food Chem.* 105, 1126-1134 .

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

K

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.

Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A.,Abdelly C.;Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content

and antioxidant activities of Tunisian halophytes; C. R. Biol. 331, 865- 873 (2008).

L

Locatelli M., Travaglia F., Coisson J.D., Martelli A., Stevigny C., Arlorio M.

(2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. Food Chemistry, 119: 1647-1655.

Lutge U ; Kluge M, Bauer G. 2002. Botanique 3eme Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. p.211.

M

Mghezzi Habellah R., Karoune S., Kechebar M.S.A., Bounab H., Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de *l'Acacia ehrenbergiana* de la région de Tindouf. Journal Algérien des Régions Arides (JARA), N° 16

Macheix J.J., Fleuriet A et Sarni-Manchado P. 2006. Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Edition Technologie et document. Paris, 380-398.

Miller N. J., Rice-Evans C., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science. 84:407-412.

N

Nedjimi, B., Bekai, Z., Guit, B., Toumi, M., et Daoud, Y., (2013). Germination et croissance d'*Atriplex halimus* sub sp. *Schweinfurthii* en présence de CaCl₂. Université de Djelfa. Article. P:16-23.

François Nsemi MUANDA. 2010. identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques

6

OuldKaddour A.S. Etude de l'effet antifongique des extraits polyphénoliques de l'*Atriplex halimus* L sur la croissance de certains champignons dermatophytes. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Laboratoire de Protection des Végétaux, Université Abdelhamid Ibn Badis De Mostaganem . 2019, pp. 77-83.

Oyaizu M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn J Nutr. 44, 307-15.

P

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. Anal Biochem, 269: 337–341.

R

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ET Rice-Evans, C. (1999). Antioxydant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay free radical biology and medicine, 26: 1231-1237.

7

Talamali A., Bajji M., Le Thomas A., Kinet J. M., Dutuit P. Flower architecture and sex determination: how does *Atriplex halimus* play with floral morphogenesis and sex genes?. Journal of New Phytologist. 157(1). 2003, pp. 105-113.

W

Walker, D. J., Lutts, S., Sánchez-García, M., Correal, E., (2014). *Atriplex halimus* L.: Its biology and uses. Journal of Arid Environments, 100-121.

ملخص

في اطار اكتشاف مواد جديدة مضادة للاكسدة من المصادر الطبيعية كنا مهتمين في هذا العمل بتحليل 15 مقال علمي حول تقييم كمية المركبات الفينولية والخصائص المضادة للاكسدة لمستخلص *Atriplex halimus* يعتني الجزء الاول من هذه الدراسة باستخراج وتقييم كمية الفينولات الكلية والفلافونويدات اما الجزء الثاني فهو يخصص دراسة نشاط مضادات الاكسدة للمستخلص باستخدام تقنيات DPPH FRAP TAC تحليل ABTS النتائج المتحصل عليها تظهر ثراء مستخلص الميثانول الاسيتوني بالبولي فينول فونويدات وتظهر اختبارات النشاط المضاد للاكسدة ان مستخلص ديكلوروميثان له تاثير قوي على الجذور DPPH بقيمة (0.094mg/ml) في حين مستخلص اسيتات الايثيل يحمل (0.241mg AA/g MS) وTAC (1.51 mg/ml) وFRAP وايضا مستخلص البيتانول اظهر اعلى قيمة (0.202mg/ml) ABTS

الكلمات المفتاحية: *Atriplex halimus*: الفلافونويدات البوليفينول النشاطات المضادة للاكسدة

Résumé

Dans le cadre de la découverte des antioxydants à partir des sources naturelles, nous avons analysé 15 articles étudiant : l'évaluation des teneurs en composés phénoliques et les propriétés antioxydants des extraits de la plante *Atriplex halimus*. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des poly phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins. La deuxième partie est l'étude de l'activité antioxydant des extraits de la plantes en utilisant les teste suivantes : DPPH, FRAP, TAC et ABTS. Les résultats obtenus ont montré la richesse de *A.halimus* en polyphénols , en flavonoïdes et en tannins surtout l'extrait méthano-acétonique. Et que La fraction dichlorométhane, possède un fort effet piègeur des radicaux DPPH (0.094mg/ml). Autant que l'extrait acétate d'éthyle a présenté plus fort FRAP (1,51 mg/ml) et TAC(0,241 mg AA/g Ms). Ainsi que l'extrait butanolique possède l'activité anti radicalaire par ABTS plus élevé (0.202mg/ml).

Mots clés: *Atriplex halimus*, poly phénols, flavonoïdes, tannins, activité antioxydantes

Abstract

As part of the discovery of antioxidants from natural sources, we analyzed 15 articles studying: the assessment of phenolic compounds and the antioxidant properties of extracts of the plant *Atriplex halimus*. The first part of this study concerns the extraction and quantification of total polyphenols, flavonoids and tannins. The second part is the study of the antioxidant activity of plant extracts using the following tests: DPPH, FRAP, TAC and ABTS. The results obtained showed the richness of *A.halimus* in polyphenols, flavonoids and tannins, especially methanol-acetonic ester. And that the dichloromethane fraction has a strong trapping effect of DPPH radicals (0.094mg/ml). As much as the ethyl acetate extract showed the strongest reductive power vis-à-vis the FRAP (1.51 mg/ml) and TAC(0.241 mg AA/g Ms) tests. As well as the butanolic extract has the higher anti-radical activity by ABTS (0.202mg/ml)

Keywords: *Atriplex halimus*, polyphenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity