



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie

Département : Sciences de la matière

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique

THÈME

Analyse qualitative et quantitative des polyphénols de *Atriplex Halimus L.* de trois régions de Tébessa de différentes altitudes et étude de leur pouvoir antioxydant par voltammétrie cyclique.

Présenté par :

Khamer Ramdhane

Hattabi Hamza

Composition du jury

- | | | | |
|-------------|------------------------|--------|------------|
| ➤ Président | CHERAIET Zinelaabidine | M.C.A. | U. Tébessa |
| ➤ Examineur | BENFLIS Hacène | M.A.A | U. Tébessa |
| ➤ Encadreur | BOUDIBA Louiza | Pr. | U. Tébessa |

2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dans ce travail, on a choisi l'*Atriplex halimus L.* pour identifier ses composants et essayer d'étudier son comportement antioxydant. La zone d'étude représente trois communes de la région de Tébessa (Wanza, Tébessa ville et Négrine).

Le criblage phytochimique révèle la présence des polyphénols entre autres. L'extraction solide-liquide et liquide-liquide a été faite avec des solvants différents et avec deux méthodes.

Des tests, par voltamétrie cyclique, du piégeage des radicaux superoxydes a donné une efficacité de l'extrait AcOEt similaire à celui de l'acide gallique, tandis que l'extrait But-OH a montré une densité de courant supérieur à celle de l'oxygène.

Mots clés : *Atriplex halimus L.*, Wanza, Négrine, Tébessa, activité antioxydante, voltamétrie cyclique.

Atriplex halimus L. was chosen to identify its components and try to study its antioxidant behavior. The study area represents three municipalities in the Tébessa region (Wanza, Tébessa, and Negrine).

Phytochemical screening reveals the presence of polyphenols, among others. The solid-liquid and liquid-liquid extraction were done with different solvents and with two methods.

Tests, by cyclic voltammetry, of the scavenging of superoxide radicals gave an efficiency of the AcOEt extract similar to that of gallic acid, while But-OH fraction showed a higher current density than oxygen.

Keywords: *Atriplex halimus L.*, Wanza, Négrine, Tébessa, antioxidant activity, cyclic voltammetry.

اخترنا نبات *Atriplex halimus L.* للتعرف على مكوناته ومحاولة دراسة سلوكه المضاد للأكسدة. تمثل منطقة الدراسة ثلاث بلديات في منطقة تبسة (ونزة ، مدينة تبسة ونقرين).

يكشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مادة البوليفينول ، من بين مواد أخرى.

تم إجراء الاستخلاص السائل - صلب و السائل - سائل باستخدام مذيبات مختلفة وبطريقتين.

أعطت الاختبارات ، عن طريق قياس الفولتمتر الدوري ، لكسح جذور الأوكسيد الفائق كفاءة لمستخلص *AcOEt* مماثلة لتلك الخاصة بحمض الغاليك ، بينما أظهر جزء *But-OH* كثافة تيار أعلى من الأوكسجين.

الكلمات المفتاحية : *Atriplex halimus L.*، ونزة، نقرين، تبسة، نشاط مضادات الأكسدة ، قياس الفولتمترية الدورية.

Dédicace

*Je dédie ce mémoire
Spécialement a mon encadreur Boudiba Louiza*

A mes très chers parentes I et T

A mes chers frères Mounir et Soufiane

A mes chères sœurs

À tous les membres de ma famille

en leur souhaitant une longue vie pleine de réussite, de

santé et de bonheur

À mon très cher binôme Ramdane

A mon amie proche M. M

À tous mes amis et camarades sans exception

À tous ceux que j'ai omis de citer

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à

l'élaboration de ce travail

Hamza

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes très chers parents

A mon cher frère

A mes chères sœurs

À tous les membres de ma famille je dédie ce travail tout

en leur souhaitant une longue vie pleine de réussite, de

santé et de bonheur

À mon très cher binôme Hamza

À tous mes amis et camarades sans exception

À tous ceux que j'ai omis de citer

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à

l'élaboration de ce travail

Randhane

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant, pour nous avoir donné la force d'accomplir ce travail.

Nous présentons aussi nos vifs remerciements à notre encadreur M^{me} BOUDIBA LOUIZA pour ses conseils et ses encouragements ainsi que sa présence continuelle durant tout ce travail.

Nous remercions M^{er} HMAIDIA HACENE pour son aide dans la réalisation de cette recherche.

Et nous n'oublions pas l'enseignante BOUDHIBA SAMEH pour tous les trucs et astuces efficaces ainsi que les produits et matériel nécessaire pour l'accomplissement de ce travail.

Nous remercions également nos amis : Bakkar Essedik, Slimi Khaled, Ouanadi Rokaya et Boudiba Ferial, pour leur aide à mener à bien cette recherche.

Nous remercions également tous les membres de jury :

M^{er} Cheriet Zinelaabidine, Maitre de conférence A à l'université de tebessa.

M^{er} Benflis Hacene, Maitre assistant A à l'université de tebessa

Nos vifs remerciements vont à l'ensemble des enseignants du département de Science de matière.

Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

A tous

Merci beaucoup

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Dédicace	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

Introduction générale	01
------------------------------------	----

PARTIE THEORIQUE

Chapitre 1 : Généralités sur l'*Atriplex Halimus*

I.1. Introduction	03
I.2. L' <i>Atriplex Halimus</i> (description botanique).....	03
I.3. Distribution de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	04
I.4. Classification de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	04
I.5. L' <i>Atriplex Halimus</i> dans le monde	05
I.6. L' <i>Atriplex Halimus</i> en Algérie	05
I.7. Propriétés écologique l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	06
I.8. Descriptions morphologique de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	06

Chapitre 2 : Activité antioxydante

II.1. Introduction.....	10
II.2. Les radicaux libres.....	10
II.3. Pathologies causées par les EOR.....	11
II.4. Stress oxydant	11
II.5. Les antioxydants de l'organisme.....	12
II.6. Les antioxydants d'origine végétale.....	15
II.6.1. Les phénols	15
II.6.2. Les flavonoïdes.....	16
II.6.3. Les tanins.....	17
II.6.4. Les coumarines	18

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	19
I.1.1. Situation géographique.....	19
I.1.2. Récolte et séchage.....	19
I.2. Matériel de laboratoire utilisé	20
I.3. Etude qualitative (screening phytochimique).....	24
I.3.1. Extraction à l'eau distillée.....	25
I.3.1.1. Recherche d'amidon.....	25
I.3.1.2. Recherche de saponosides.....	25
I.3.1.3. Recherche de tannins galliques.....	25
I.3.1.4. Recherche de tannins catéchiqes.....	25
I.3.1.5. Recherche de musilages.....	26
I.3.1.6. Recherche de polyphénols.....	26
I.3.1.7. Recherche de caroténoïdes.....	26
I.3.1.8. Recherche de glycosides cardiaques.....	26
I.3.1.9. Recherche des composés réducteurs.....	26
I.3.2. Extraction à l'éthanol.....	26
I.3.2.1. Recherche d'alcaloïdes (sels).....	26
I.3.2.2. Recherche d'anthracénosides et anthocyanosides.....	27
I.3.2.3. Recherche des flavonoïdes.....	28
I.3.2.4. Recherche des stérols et stéroïdes.....	28
I.3.2.5. Recherche des coumarines.....	28
I.3.2.6. Recherche des composés réducteurs.....	29
I.3.2.7. Recherche des tannins.....	29
I.3.3. Extraction à l'éther diéthylique.....	29
I.3.3.1. Recherche des acides gras.....	29
I.3.3.2. Recherche des huiles volatiles.....	29
I.3.3.3. Recherche des lipoides.....	29
I.3.4. Extraction à l'acide sulfurique.....	30
I.3.4.1. Recherche des quinones combinées.....	30

I.3.5. Extraction au chloroforme	30
I.3.5.1. Recherche des stérols insaturés et terpènes	30
I.3.5.2. Recherche des anthraquinones	30
I.4. Etude quantitative	30
I.4.1. Méthode d'extraction	30
I.4.1.1. Macération.....	30
I.4.1.2. Décoction.....	31
I.4.2. Choix du solvant	31
I.4.3. Extraction liquide-liquide.....	31
I.4.4. Dosage des polyphénols	32
I.4.4.1. Principe	32
I.4.4.2. Mode opératoire	33
I.4.5. Dosage des flavonoïdes	33
I.4.5.1. Principe	33
I.4.5.2. Mode opératoire	33
I.5. Etude de l'activité antioxydante par voltammétrie cyclique	34
I.5.1. Principe	34
I.5.2. Mode opératoire	36
Chapitre II : Résultats et discussion	
II.1. Analyse qualitative (screening phytochimique)	38
II.1.1. Extraction à l'eau distillée.....	38
II.1.2. Extraction à l'éthanol	41
II.1.3. Extraction à l'éther d'éthylique.. ..	43
II.1.4. Extraction par le chloroforme et l'acide sulfurique.....	44
II.2. Analyse quantitative	45
II.2.1. Rendements (bruts, polyphénols et flavonoïde).....	45
II.2.1.1. Choix de la méthode d'extraction et du solvant pure.....	47
II.2.1.2. Choix du mélange solvant-eau	50
II.2.1.3. Préparation des extraits des métabolites secondaire.....	53
III.1. Evaluation de l'activité antioxydante par voltammétrie cyclique.....	56
III.1.1. Comportement de l'oxygéné.....	56
III.1.2. Comportement de l'acide gallique	58

III.1.3. Comportement des extraits de <i>l'Atriplex Halimus L</i>	58
Conclusion générale	61
Références bibliographiques	63

Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition des espèces d' <i>Atriplex Halimus</i> dans le monde.....	05
Tableau 2 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques	10
Tableau 3 : Caractéristiques des zones d'études.....	19
Tableau 4 : Gros matériel utilisés.....	20
Tableau 5 : Matériel et produits utilisés.....	23
Tableau 6 : Les résultats des tests phytochimiques de l'extraction à l'eau distillée	39
Tableau 7 : Les résultats des tests phytochimiques de l'extraction à l'éthanol	41
Tableau 8 : Les résultats des tests phytochimiques de l'extraction à l'éther diéthylique	44
Tableau 9 : Les résultats des tests phytochimiques des extractions par le chloroforme et l'acide sulfurique.....	45
Tableau 10 : Rendements (bruts, polyphénols et flavonoïdes) à chaud et à froid et différents solvants.....	47
Tableau 11 : Rendements (bruts, polyphénols et flavonoïdes) dans différents mélanges hydro-alcooliques.....	50
Tableau 12 : Rendements des extraits avec le mélange méthanol-eau (50%/50%)...	54
Tableau 13 : Métabolites secondaires de chaque plante étudiée.....	55
Tableau 14 : Pourcentages d'inhibition de l'ion superoxyde par l'acide gallique et les différents extraits de <i>Atriplex Halimus L.</i> de Tébessa.....	60

Liste des figures

Figure 1 : Arbuste de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	05
Figure 2 : Racines de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	07
Figure 3 : Tiges de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	07
Figure 4 : Feuilles de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	08
Figure 5 : Fleurs d' <i>Atriplex Halimus L</i>	08
Figure 6 :Graines de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	09
Figure 7 : Fruits de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	09
Figure 8 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR....	12
Figure 9 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.....	13
Figure 10 : Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique ...	14
Figure 11 : Espèces oxygénées réactives (EOR) non enzymatique.....	15
Figure 12 : Les différentes classes de composés phénoliques.....	16
Figure 13 : Les différentes classes de flavonoïdes.....	17
Figure 14 : Les différentes classes de tannins.....	18
Figure 15 : Les coumarines.....	18
Figure 16 : Carte géographique des régions de récolte	19
Figure 17 : Les étapes d'extraction de la plante, solide/liquide et liquide/liquide....	32
Figure 18 : Voltamogramme d'un système réversible.....	34
Figure 19 : Voltamogramme d'un système irréversible	35
Figure 20 : Voltamogramme d'un système réversible à deux vagues.....	35
Figure 21 : Voltammogramme cyclique d'oxygène.....	36
Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	46
Figure 26 : Courbe étalonnage de la catéchine.....	46
Figure 27 : les rendements des extraits bruts (à chaud et à froid) dans les trois régions de Tébessa dans différents solvants.....	48
Figure 28 : Concentration des polyphénols (à chaud et à froid) dans les trois régions de Tébessa dans différents solvants.....	48
Figure 29 : Concentration des flavonoïdes (à chaud et à froid) dans les trois régions de Tébessa dans différents solvants.....	49
Figure 30 : les rendements des extraits bruts dans les trois régions de Tébessa dans	

mélanges hydro-alcooliques.....	51
Figure 31 : Concentration des polyphénols dans les trois régions de Tébessa dans mélanges hydro-alcooliques.....	52
Figure 32 : Concentration des flavonoïdes dans les trois régions de Tébessa dans mélanges hydro-alcooliques.....	52
Figure 33 : Métabolites primaires, secondaires et déchets de chaque plante étudiée.....	53
Figure 34 : Les différents extraits des métabolites secondaires de chaque plante étudiée dans les solvants de polarité croissante.....	55
Figure 35 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans l'eau et NaCl.....	57
Figure 36 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans le DMF et PF_6^-	57
Figure 37 : Voltammogrammes de l'acide gallique barboté (AGB) et l'oxygène....	58
Figure 38 : Voltammogrammes de tous les extraits de la plante de Tébessa avec barbotage comparés à l'oxygène.....	59

Liste des abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AG : Acide gallique.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

Aq : Aqueux.

Bu-OH : Butanol.

CAT : Catalase.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane.

CHCl₃ : Chloroforme.

DCM : Dichlorométhane.

DMF : Diméthylformamide.

EOR : Espèces oxygénées réactives.

Epa : Potentiel d'oxydation anodique.

Eq : Equivalent.

EtOH : Ethanol.

FeCl₃ : Chlorure Ferrique.

G6PD : Glucose-6- Phosphate déhydrogénase.

GPx : Glutathion peroxydase.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Glutathion.

GSSG : Glutathion oxydée.

H₂SO₄ cc : Acide sulfurique concentré.

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

HCl_{CC} : Acide hydrochlorique concentré.

HHDP : Acide hexahydroxy diphénique.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

Ip₀ : Intensité du courant du pic anodique de l'oxygène.

Ipa : Intensité anodique.

Ips : Intensité du courant du pic anodique de l'oxygène plus l'extrait.

KI : Iodure de potassium.

MeOH : Méthanol.

MgSO₄ : Sulfate de magnésium.

Mo₈O₂₃ : Oxyde de molybdène.

N: Négrine.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaBu₄NPF₆ : Sodium de tétrabutylammoniumhexafluorophosphate.

NADPH : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase.

NaOH : Hydroxide de Sodium.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

SOD : Superoxy dismutase.

T : Tébéssa.

W : Wanza.

W₈O₂₃ : Oxyde de tungstène.

Introduction :

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante de soins thérapeutiques. Actuellement, environ 25-30% de tous les médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des sources naturelles (plantes, animaux, bactéries, champignons, etc.) (**Nergard, (2005)** , **Dzingirai, (2007)**).

Plusieurs populations mondiales recourent aux remèdes naturels d'origine végétale. En Afrique, 80% de la population utilise la médication traditionnelle à base de plantes surtout que les produits de synthèse présentent de nombreux effets néfastes pour la santé.

L'Atriplex halimus L. est une plante très répandue en Algérie et encore plus dans les zones arides et semi-arides comme Tébessa. C'est l'une des plantes médicinales utilisée par les algériens pour guérir certaines maladies telles que le diabète (**Rodriguez, Murray, (2010), Shani, (1972)**), la dépression, l'inflammation et le cancer. Elle est reconnue pour son pouvoir de faire dissoudre les kystes et les calculs rénaux (**Aharonson, Sulman, (1969)**). Parmi ses vertus aussi qu'elle est stimulante, anti-fatigue, tonique et diurétique.

Dans cette recherche nous avons choisi cette plante de trois endroits différents de la wilaya de Tébessa, à savoir Wanza, Tébessa ville et Négrine, pour des raisons climatiques et géographiques. Ce choix a été fait pour savoir si ces différences vont influencer sur la composition de ces plantes vis-à-vis des métabolites. Pour cela, nous allons identifier ses composants et essayer de les valoriser, ainsi que l'étude de leur comportement envers les radicaux libres nuisibles à la santé humaine.

Le manuscrit comporte une partie théorique et une partie expérimentale.

- **Dans la partie théorique :**

- Un premier chapitre sera consacré à l'étude botanique de *L'Atriplex halimus L.* de la région de Tébessa, en choisissant trois différentes communes (Wanza, Tébessa ville et Négrine). Ce choix a été fait pour étudier l'effet de l'altitude et du climat sur la composition en polyphénols de cette plante.
- Un deuxième chapitre portera sur le stress oxydatif et l'efficacité des extraits de plantes contre les radicaux libres.

- **Dans la partie expérimentale :**

- La partie matériel et méthodes, qui indiquera le matériel et les produits utilisés dans ces investigations, ainsi que les différentes méthodes et protocoles utilisés pour l'identification des molécules actives dans cette plante, ainsi que les différents dosages effectués et l'explication de la méthode électrochimique utilisée pour l'étude du pouvoir antioxydant.
- La partie résultats et discussion qui comportera :
 - L'identification qualitative (screening phytochimique) de la plante,
 - L'optimisation des facteurs d'extraction des métabolites de la plante, à savoir le choix de la meilleure méthode d'extraction, du meilleur solvant pur et du meilleur mélange hydro-alcoolique,
 - La comparaison entre les trois régions d'étude,
 - L'étude du pouvoir antioxydant par voltammétrie cyclique.

PARTIE
THEORIQUE

Chapitre I :
Généralités sur
l'Atriplex Halimus L.

I.1. Introduction :

L'Homme a toujours utilisé les plantes de son entourage pour sa nourriture, comme médicaments pour soigner ses maladies et comme matériaux à différents usages (lit, tois, corde, etc.).

Le pouvoir thérapeutique des plantes s'est transmis de génération en génération dans tous les pays du monde avant l'apparition des médicaments. Dans les pays d'Asie et d'Afrique en particulier, l'utilisation des plantes médicinales est toujours d'actualité à cause des expériences et des pratiques socio-culturelles des populations, sans connaître leur composition chimique responsable de leur effet thérapeutique.

Les plantes médicinales sont utilisées pour guérir ou soulager les douleurs. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par l'être humain. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Ybert, (2007) ; Hans, (2007)).

En Algérie, la médecine traditionnelle est basée essentiellement sur les plantes. Malgré l'apparition de la médecine moderne, c'est-à-dire l'utilisation des médicaments de synthèse, les populations se soignent toujours par les plantes à effet thérapeutique.

I.2. L'*Atriplex Halimus* L. (description botanique) :

Atriplex sont des plantes arbustives vivaces appartenant à la famille des Chenopodiaceae. L'*Atriplex* comprend environ 417 espèces, dont 48 dans le bassin méditerranéen (Houérou, (1992)).

L'*Atriplex Halimus* L. (figure 1) se développe dans des conditions environnementales difficiles, c'est pour cela qu'il est utilisé comme source de fourrage pour le bétail.

C'est une plante ramifiée à partir de la base, l'écorce est de couleur gris-blanc, arbrisseau de 50-200 cm, à tiges érigées-dressées, ligneuses. Ses feuilles sont ovales-obtus.

Valves fructifères coriaces, arrondies-rénifonnes, lisses. Plante polymorphe des rocailles, talus argileux, zones d'épandage plus ou moins salées.

I.3. Distribution de l'*Atriplex Halimus L.* :

L'*Atriplex Halimus L.* est une espèce xéro-halophyte largement répartie dans les zones non saline etsalines, dans les régions subhumides et arides d'Europe du Sud et de Méditerranée orientale (Afrique du Nord) (**Chikhi, (2014)**).

I.4. Classification de l'*Atriplex Halimus L.* :

D'après **Quezel, (1962)**, la classification de l'espèce *Atriplex Halimus* dans le règne végétal est la suivante :

Règne: Végétal.

Embranchement: Spermaphyte ou Magnoliopyta.

Sous-embranchement: Angiospermes.

Classe: Dicotylédones ou Magnoliopsida

Sous classe: Caryophyllidae. Apétale

Ordre: Caryopyllales

Famille: Chénopodiacées

Genre: *Atriplex*

Espèce: *Atriplex Halimus*

Sous-espèce: *Atriplex Halimus L.*



Figure 1 : Arbuste de l'*Atriplex Halimus L.*

I.5. L'*Atriplex Halimus L.* dans le monde :

L'*Atriplex* se trouve dans la plus part des régions du monde comme le montre le tableau 1.

Tableau 1 : Répartition des espèces d'*Atriplex Halimus L.* dans le monde (**Houérouh, (1992)**)

Pays ou régions	Nombre d'espèces et/ou sous-espèces	Pays ou régions	Nombre d'espèces et/ou sous espèces
Etats unis	110	Baja Californie (Mexique)	25
Australie	78	Afrique du Sud	22
Bassin-Méditerranées	50	Texas	20
Europe	40	Afrique du Sud	20
URSS	40	Iran	20
Proche orient	36	Syrie	18
Mexique	35	Paléستine/Jordanie	17
Argentine	35	Algérie/ Tunisie	17
Californie	32	Bolivie/Pérou	16
Chili	30		

I.6. L'*Atriplex Halimus L.* en Algérie :

En Algérie, l'*Atriplex Halimus L.* pousse spontanément dans presque toutes les régions arides et semi-arides (Tiaret, Tébessa, Msila, Saida, Djelfa, Telemcen, Biskra, Batna, Béchar, El'Oued, etc. (**Benrebiha, (1987)**) avec différentes espèces (**Quezel, (1962)**)).

I.7. Propriétés écologiques de l'*Atriplex Halimus L.* :

L'*Atriplex* présente une bonne tolérance aux conditions défavorables du milieu tel que les températures élevées (sahara) et basses (Alaska), ainsi que la salinité qui peut avoisiner celle de l'eau de mer (30g/L de NaCl).

L'*Atriplex halimus L.* s'adapte à tous types de sols : argileux(particules fines, sol lourd, humide, collant, compact et retient l'eau), marneux (la terre contient de 10 à 30% de carbonate de chaux, associé à de l'argile, ce qui donne une terre plutôt collante avec des cailloux), limoneux (Les limons constituent le stade intermédiaire entre l'argile et le sable. Les terres limoneuses se tassent facilement) et sableux (sol très poreux qui ne retient pas l'eau; glisse entre les doigts en raison de l'absence de cohésion entre les particules).

I.8. Description morphologique de l'*Atriplex Halimus L.* :

L'*Atriplex Halimus L.* est une plante polymorphe, qui est une caractéristique des chénopodiacées. Il a des feuilles sous forme de valves fructifères, tige, graine, fleurs, feuilles, etc. (Géraldine., (2007) ; Ozenda., (2004)).

L'*Atriplex halimus L.* adulte peut atteindre 2 m de hauteur, 1 à 3 m de diamètre, très rameux ayant un aspect blanc argenté, à tige dressée, s'orientant horizontalement, alternés mais nettement pétiolées, le limbe foliaire est entièrement ou légèrement sinueux, parfois sub-nécroné au sommet mesurant 0,5 à 1 cm de largeur et de 2 à 4 cm de longueur (Berri, (2009)).

*** Les racines :**

Le système racinaire est formé par une racine principale de profondeur avec des racines secondaires de même longueur ou parfois plus longue (figure 2) (Osmand, (1969)).



Figure 2 : Racines de l'*Atriplex Halimus L.*

*** Les tiges :**

Les tiges d'*Atriplex Halimus L.* sont ligneuses, vaguement anguleuses dans leur longueur, très rameuses. Généralement les tiges sont érigées, robustes et terminées par des grappes allongées (figure 3) (Bonnier, (1996)).



Figure 3 : Tiges de l'*Atriplex Halimus L.*

*** Les feuilles :**

Elles sont, en générale, deux fois plus longues que larges mesurant de 2 à 5 cm de longueur donc oblongues ou ovales. Les feuilles sont alternées, brièvement mais nettement pétiolées plus ou moins charnues et luisantes. Elles sont aussi recouvertes de poils vésiculaires très riches en sels (figure 4) (Osmand, (1969) ; Mozafar, (1970)).



Figure 4: Feuilles de l'*Atriplex Halimus L.*

*** Les fleurs :**

Ses fleurs (figure 5) comprennent des fleurs mâles à cinq étamines et des fleurs femelles dépourvues de périanthe dont la gynécée est constituée d'un ovaire surmonté de styles, enveloppées de 2 bractées opposées de forme triangulaire, la structure hermaphrodite lors de l'initiation florale peut exister (**Berri, (2009)**).



Figure 5 : Fleurs d'*Atriplex Halimus L.*

***Les graines :**

Sont brunes foncées de 02 mm de diamètre environ, ternes et entourées du péricarpe membraneux. C'est une plante chaméphyte ou monophanérophyte qui fleurit et fructifie à partir du mois d'avril jusqu'en novembre (figure 6) (**Berri, (2009)**).



Figure 6: Graines de l'*Atriplex Halimus L.*

*** Les fruits :**

Sont composés de 02 bractéoles, en forme de rein, dentées ou entières, lisses ou tuberculeuses, droite ou recourbées (figure 7). Les fruits sont des akènes, secs et dispersés. Ils sont contenus dans des bractées épaisses, membraneuses, un peu charnues et concrescentes (**Nerge, (1961)**). Elles sont en baie ovoïde vert jaunâtre au début puis rouge orangé ou pourpre.

Leur taille est très variable, leur poids peut aller de quelques grammes à 200 g mais dans la plupart des cas le poids varie entre 30 et 60 g (**Ozenda, (2004)**).



Figure 7 : Fruits de l'*Atriplex Halimus L.*

Chapitre II :

Activité antioxydante

II.1. Introduction :

Tout organisme vivant a besoin d'un élément très important qui est l'oxygène pour produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Au cours de ces transformations, les cellules génèrent des entités bénéfiques et/ou toxiques à partir de cet oxygène qui sont les radicaux libres organiques. En fait, ces radicaux libres permettent au corps de contrôler la tonicité des muscles lisses, de combattre les inflammations et de lutter contre les bactéries. Cependant, l'opération bénéfique des radicaux libres dépend d'un certain nombre de facteurs, tels que les polluants présents dans l'air que nous respirons comme la fumée de cigarette, le dégagement des carburants, etc., l'eau, les aliments que nous consommons, les rayons UV du soleil et le stress. **(Descheemaeker, (2004))**

II.2. Les radicaux libres :

Par définition, un radical libre est tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire), sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (pour former une liaison chimique) **(Passwater, (1997) ; Jadot, (1994))**.

Les espèces oxygénées réactives (EOR) renferment les radicaux libres de l'oxygène tels que le radical superoxyde, le radical hydroxyle, le monoxyde d'azote, etc., ainsi que certains dérivés non radicalaires réactifs dont la toxicité est plus importante, comme l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde d'azote, qui peuvent être des générateurs de radicaux libres **(Cooper, (1997))**. Le tableau 2 regroupe les différentes espèces citées.

Tableau 2 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques **(Bartosz, (2003) ; Jadot, (1994))**

Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}

Monoxyde d'azote	NO [•]
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Acide hypochlorique	HOCl
Oxygène singulet	¹ O ₂
Peroxynitrite	ONOO ⁻
Radical alcoxy	RO [•]
Radical peroxy	ROO [•]

Les espèces oxygénées réactives sont instables et leur durée de vie est très courte (de la nano à la milli seconde) (**Bonnefont, (2003) ; Lehucher, (2001)**).

Dans plusieurs cas, des espèces peu réactives peuvent être très toxiques en raison de leur demie vie longue qui leur permet d'interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production, puisqu'elles ont le temps de se déplacer tranquillement vers les zones d'action (**Kohen, (2002)**).

II.3. Pathologies causées par les EOR :

Ces radicaux libres sont responsables du vieillissement cellulaire, de l'altération de l'ADN, du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neuro-dégénératives et du diabète (**Cadenas, (2002)**).

II.4. Stress oxydant :

Le stress oxydatif est une perturbation du métabolisme cellulaire soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets,

herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques). L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'acide désoxyribonucléique (figure 8) (Smirnoff, (2005)).

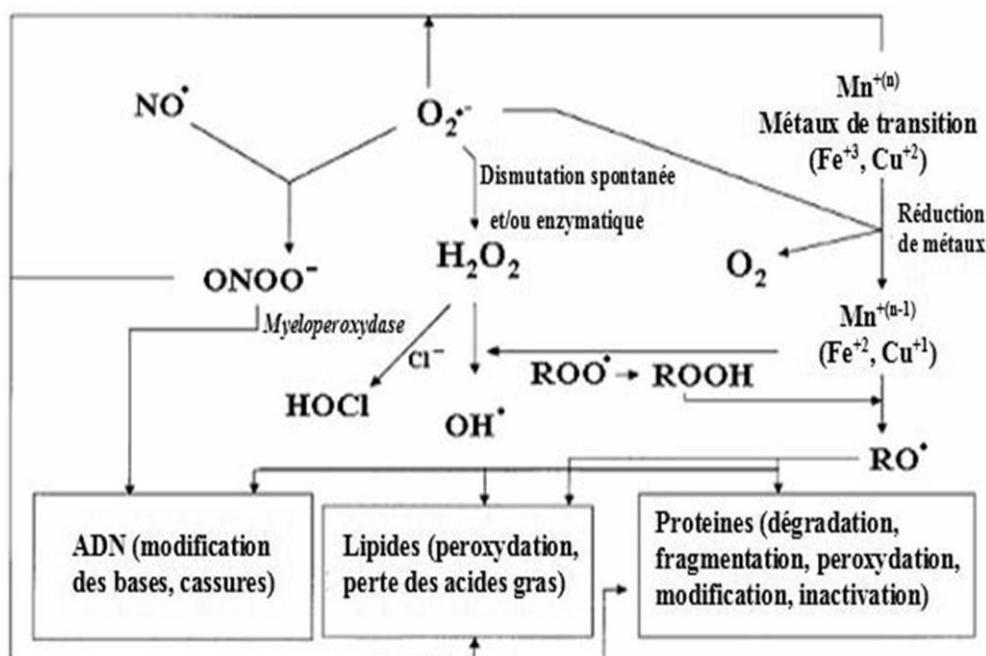


Figure 8 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR (Kohen, (2002)).

II.5. Les antioxydants de l'organisme :

Pour éviter le stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme.

Les antioxydants sont des espèces capable, à faible concentration, de réagir avec des substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher leur oxydation. Les cellules consomment beaucoup d'énergie pour contrôler le niveau d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et non enzymatiques (figure 9) (Shahidi, (1997)).

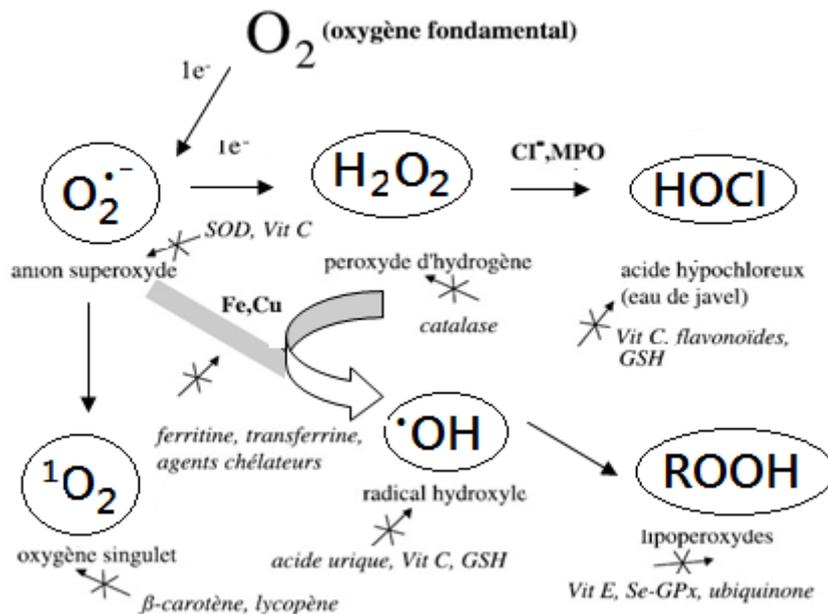


Figure 9 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury, (2008)).

• **Systèmes enzymatiques :** (Piquet, (2007) ; Smythies, (1998)).

Il s'agit principalement de trois enzymes ;

1- **Le superoxyde dismutase (SOD) :** [accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Il y a plusieurs iso-enzymes de SOD : SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD)].

2- **La catalase (CAT) :** [se trouve dans les hématies et les peroxysomes hépatiques]. Elle agit en synergie avec la SOD puisque elle accélère la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire]

3- **La glutathion peroxydase (GPx) :** [La glutathion peroxydase est une séléno-enzyme (Se- GPx) qui détoxifie le peroxyde d'hydrogène résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH : glutathion réduit). La glutathion réductase (GR) a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG (glutathion oxydée) tout en utilisant le NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase : enzyme donneur d'électrons) comme un cofacteur.

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du O₂^{•-} et du H₂O₂, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire comme le

montre la (figure 10).

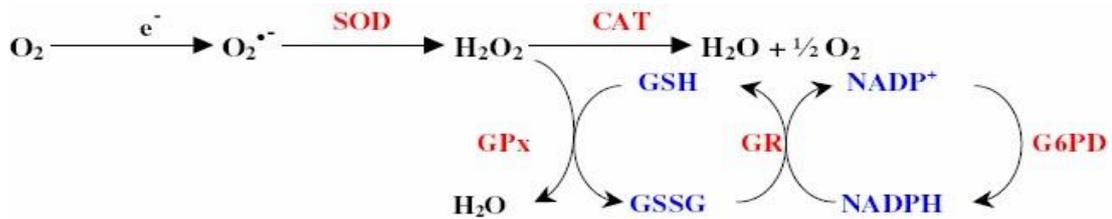


Figure 10 : Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique.

• Systèmes non enzymatiques :

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit. La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires.

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^+ permettant de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (figure 11) (Trivalle, (2002)).

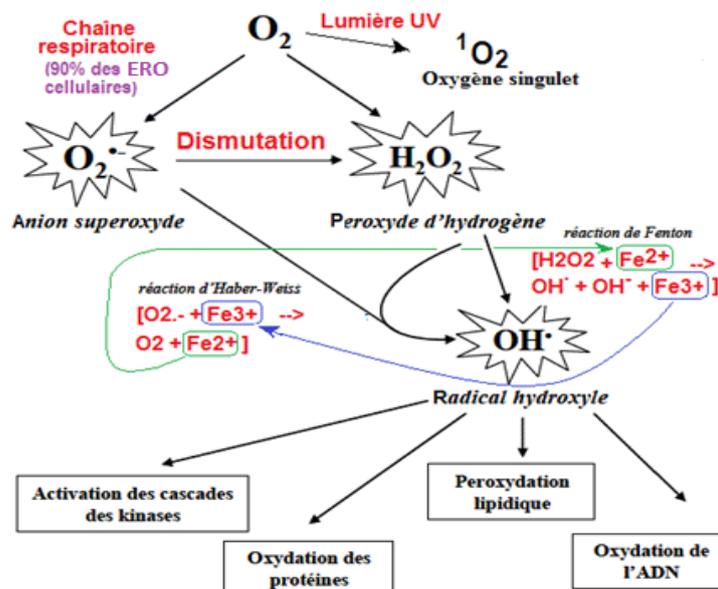


Figure 11 : Espèces oxygénées réactives (EOR) non enzymatique.

D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. La vitamine piégeuse devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système.

Des composés comme les alcaloïdes, les polyphénols, les huiles essentielles (Bruneton, (1999)) et les flavonoïdes issus de l'alimentation, jouent un rôle similaire de piègeurs de radicaux libres.

II.6. Les antioxydants d'origine végétale :

II.6.1. Les phénols :

Les phénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction telle que : éther, ester, etc. Chimiquement, ils sont réactifs et donnent souvent lieu à des liaisons hydrogènes, ou chélater des métaux (Bruneton, (1999) ; Gorham, (1977)).

Les différentes classes des polyphénols sont regroupées dans la (figure 12).

Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales.

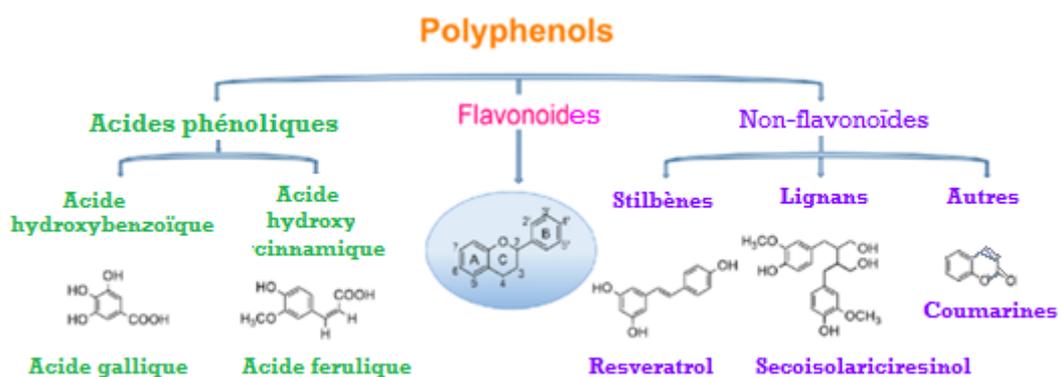


Figure 12 : Les différentes classes de composés phénoliques.

II.6.2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Plusieurs d'entre eux sont des pigments responsables de la coloration des végétaux. Ils peuvent se trouver sous forme libre appelée aglycone ou liées sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire des sucres. **(Heller, (1993)).**

Les flavonoïdes peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différentes mécanismes : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes **(Hodek, (2002))** ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont initiateurs des réactions radicalaires ; soit par l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres **(Van acker, (1996); Benavent garcia, 1997)).**

Ils jouent un rôle très important dans le traitement des inflammations, du diabète, des tumeurs, des hépatites, de l'hypertension, des thromboses, des allergies et des affections bactériennes et virales **(Anderson, (1996) ; Cowan, (1999) ; Yao, (2004)).**

Les différentes classes des flavonoïdes sont regroupées dans la (figure 13).

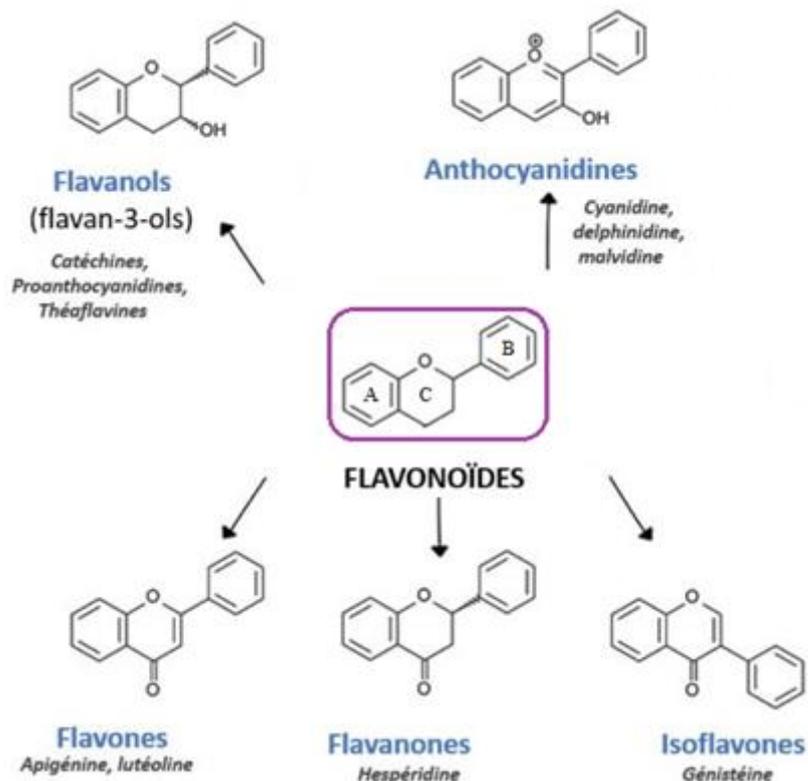


Figure 13 : Les différentes classes de flavonoïdes.

II.6.3. Les tanins:

Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies, lutter contre les infections, drainer les sécrétions excessives et réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure.

Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation des lipides (Smythies, (1998)). Les différentes classes des tanins sont regroupées dans la (figure 14).

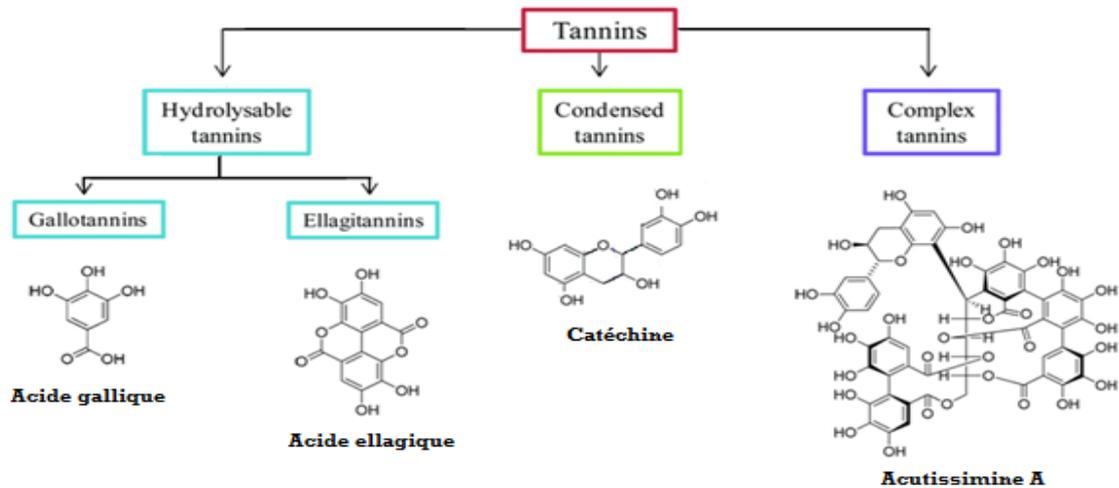


Figure 14 : Les différentes classes de tannins.

II.6.4. Les coumarines :

Les coumarines se trouvent dans plusieurs espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils peuvent prévenir la peroxydation des lipides membranaires et capter les radicaux libres. Les conditions structurales requises pour l'activité anti-péroxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Madhavi, (1996)).

La structure des coumarines est donnée dans la (figure 14).

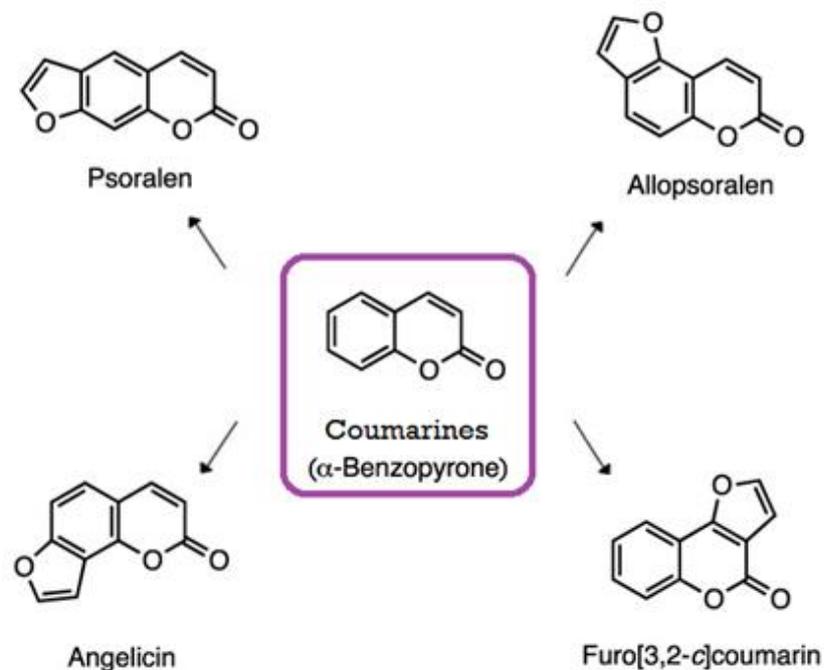


Figure 15 : Les coumarines.

PARTIE

EXPERIMENTALE

Chapitre I :

Matériel et Méthode

I.1. Matériel végétal :

Notre choix du matériel végétal s'est porté sur *Atriplex Halimus L.*, communément appelée « Gtaf » car elle est très abondante dans la région de Tébessa et nous avons sélectionné trois communes de Tébessa (au nord Wanza, au centre la ville de Tébessa et au sud Négrine) pour deux raisons, la différence d'altitude d'une part et les conditions climatiques d'autre part.

I.1.1. Situation géographique :

Les caractéristiques des zones d'étude sont représentées sur le tableau 3 et leur position est donnée sur la (figure 16).

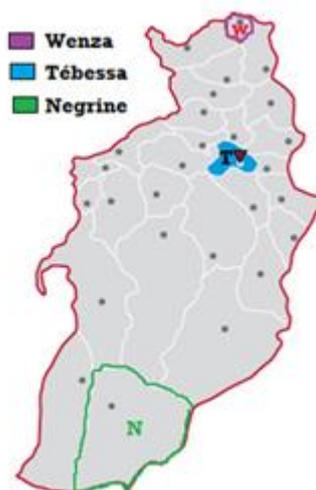


Figure 16 : Carte géographique des régions de récolte

Tableau 3 : Caractéristiques des zones d'études.

Région	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Wanza	483	N35.92521°	E8.20602°	Semi-aride
Tébessa	960	N35.21284°	E8.11667°	Arde et semi-aride
Négrine	312	N34.48.33330°	E7.5166670°	aride

I.1.2. Récolte et séchage :

Pour cette étude nous avons utilisés les parties aériennes de *Atriplex Halimus L.* La récolte a été faite au mois de Décembre 2020, dans les trois communes de Tébessa.

Le traitement préliminaire des plantes, après la récolte, a été de les débarrasser des débris (mauvaises herbes) et des poussières (lavage à l'eau), puis les sécher à l'ombre. Elles ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique et la poudre a été conservée à l'abri de l'humidité.

I.2. Matériel de laboratoire utilisé :

Le matériel et les produits utilisés sont représentés dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4 : Gros matériel utilisés.

Matériel	Photo
Lampe UV	
Spectrophotomètre UV-Vis	
Voltalab 40	

Rotavapeur



Lyophilisateur



Agitateur magnétique



Balance électronique de précision



<p>Bain thermostaté</p>	
<p>Chauffe ballon</p>	
<p>Montage de filtration</p>	
<p>Micropipettes</p>	

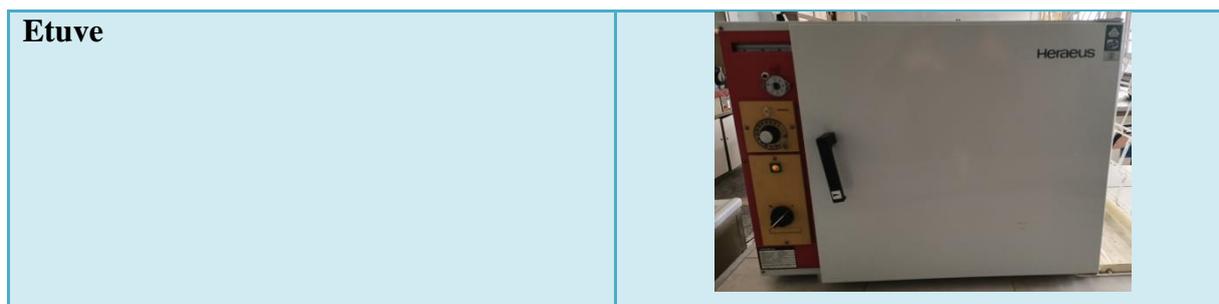


Tableau 5 : Matériel et produits utilisés.

Petit matériel	Produits
1- Papier filtre	1- MeOH
2- Erlenmeyer	2- EtOH
3- Ampoule à décanter 1l	3- Ether diéthylique
4- Cristallisateur	4- Ether de pétrole
5- Entonnoir	5- CH ₂ Cl ₂
6- Papier PH	6- MgSO ₄
7- Plaque CCM	7- CHCl ₃
8- Buchner	8- Acétate d'éthyle
9- Spatule	9- n-butanol
10- Becher de (50ml, 100ml, 250ml, 500ml)	10- FeCl ₃
11- Ballon à fond rond 1l	11- HCl cc
12- Pierre ponce	12- NH ₄ OH
13- Tubes à essais	13- Folin
14- Eprouvette graduée	14- Tournure de Mg
15- Firole jaugée	15- Liqueur de fehling
	16- NaOH
	17- AlCl ₃
	18- H ₂ SO ₄ cc
	19- Carbonate de Na
	20- Acide formique
	21- Acétone
	22- Eau distillée

	23- Iode
	24- KI
	25- DMF
	26- Acide trichloroacétique
	27- Acide gallique
	28- Toluène
	29- Empois d'amidon
	30- Acétate de sodium.
	31- Tartrate de potassium
	32- Tartrate de sodium
	33- Anhydride acétique
	34- Formol
	35- PF ₆

I. 3. Etude qualitative (screening phytochimique)

Les plantes contiennent de nombreux métabolites (primaires et secondaires). Parmi les métabolites secondaires, on peut citer les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, etc. Ces composés sont des molécules actives présentes dans les plantes représentant un grand intérêt dans de nombreuses industries (pharmaceutique, parfumerie, agro-alimentaire, cosmétique, etc.).

Dans notre travail, nous avons essayé plusieurs tests phytochimiques sur la plante d'*Atriplex halimus L.*, obtenue à partir des différentes régions de Tébessa (Wanza, Tébessa ville et Négrine) pour voir les composés actifs présents dans cette plante en fonction de l'altitude et du climat. Nous avons eu recours à différentes méthodes de détection (**Mazari, (2010)**) qui consistent à réaliser des réactions spécifiques conduisant à l'apparition d'un précipité ou un changement de couleur confirmant la présence de ces constituants.

Les extraits utilisés pour les tests ont été obtenus selon le protocole suivant : 50g du matériel végétal en poudre sèche est mis dans 300 ml de solvant dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, une ébullition à reflux pendant une heure et une filtration du mélange.

I.3.1. Extraction à l'eau distillée : (Mazari, (2010))

I.3.1.1. Recherche d'amidon :

Le test consiste à chauffer 5 mL de l'extrait aqueux avec 10 mL d'une solution saturée de NaCl dans un bain-marie jusqu'à ébullition. Ensuite on ajoute le réactif d'amidon.

- Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu violacé.

I.3.1.2. Recherche de saponosides :

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant 1,5 mL d'eau distillé à 2 mL de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Après 20 minutes la teneur en saponosides est évaluée.

- Pas de mousse = test négatif.
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif.
- Mousse de 1-2 cm = test positif.
- Mousse plus de 2 cm = test très positif.

I.3.1.3. Recherche de tannins galliques :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 mL de l'extrait aqueux, 1 mL d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution diluée de $FeCl_3$.

- L'apparition d'une coloration bleu-vert indique la présence des tanins galliques

I.3.1.4. Recherche de tannins catéchiques :

Ajouter 10 ml de formol à 30% et 5 ml d'acide chlorhydrique concentré à 5 ml de la solution à tester. Le mélange est chauffé dans un bain-marie pendant 15 minutes.

- L'obtention d'un précipité indique la présence des tannins catéchiques.

I.3.1.5. Recherche de mucilages :

Introduire 1 ml de décocté dans un tube à essai, puis 5 ml d'alcool absolu est ajouté (Awor, (2003)).

- L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages.

I.3.1.6. Recherche de polyphénols :

Quelques gouttes de perchlorure ferrique (FeCl_3 , 10%) sont ajoutées à 2 ml d'extrait aqueux, la formation d'un précipité noir-vert intense est le signe de présence des Polyphénols (rajeshwar, (2013)).

I.3.1.7. Recherche de caroténoïdes :

On ajoute 3 ml d'HCL et 3 ml d' H_2SO_4 à 5 ml de l'extrait aqueux.

- L'apparition d'une coloration verte devenant bleu par la suite indique la présence de caroténoïde (Bruneton, (1999)).

I.3.1.8. Recherche de glycosides cardiaques :

2 ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait aqueux.

- L'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de H_2SO_4 indique la présence de glycosides cardiaques (Yam, (2009)).

I.3.1.9. Recherche des composés réducteurs :

Traitez 2 ml de la solution aqueuse d'extrait avec quelques gouttes de la liqueur de Fehling (0,5 ml de réactif A (acide) et 0,5 ml de réactif B (basique)) puis chauffer.

- L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence d'hydrates de carbone.

I.3.2. Extraction à l'éthanol : (Mazari, (2010))

I.3.2.1. Recherche d'alcaloïdes (sels) :

Deux essais ont été effectués :

➤ Evaporer 20 ml de la solution éthanolique.

Ajouter 5 ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 10% au résidu et chauffer dans un Bain-marie. Filtrer le mélange et l'alcaliniser avec une solution d'hydroxyde d'ammonium(NH₄OH) à 10% jusqu'à pH = 9, extraire la solution avec l'éther diéthylique (Et₂O), ensuite dissoudre le résidu obtenu dans l'acide chlorhydrique (HCl) à 2%.

Les alcaloïdes sont décelés par les réactifs de Mayer et de Wagner.

➤ Evaporer 20 ml de la solution éthanolique.

Ajouter 5mL d'acide chlorhydrique (HCl) 2N au résidu et chauffer dans un Bain-marie. Filtrer puis diviser le filtrat en deux parties : La première est traitée avec le réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wagner.

- L'observation d'une turbidité ou d'un précipité indique la présence d'alcaloïdes.
- Une légère opacité: test faiblement positif (±)
- Une turbidité et non une floculation: test positif (+)
- Une floculation ou un précipité lourd: test très positif (++)

I.3.2.2. Recherche d'anthracénosides et anthocyanosides :

25 ml d'extrait éthanolique sont ajoutés à 15 ml d'acide chlorhydrique à 10% dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et chauffé pendant 30 minutes. Après refroidissement, la solution est extraite trois fois avec 15 ml d'éther diéthylique, ensuite les deux phases sont traitées séparément.

- **Anthocyanosides :**

Doser la phase aqueuse acide par une solution de soude (KOH). Un changement de couleur en fonction du pH prouve la présence des anthocyanosides.

- PH < 3 la solution se colore en rouge, coloration qui décroît quand le pH augmente vers la neutralité.
- 4 < pH < 6 la solution prend une coloration bleue.

- **Anthracénosides :**

On ajoute à 8 ml de la phase éther quelques gouttes de réactif de Bornträger.

- L'apparition d'une couleur qui varie de l'orange-rouge au violet pourpre indique la présence d'anthracénosides.

I.3.2.3. Recherche des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont recherchés en ajoutant quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl) à 5 ml d'extrait éthanolique en présence de 0,5 g de tournures de magnésium (Mg).

Il apparaît après 3 minutes une coloration :

- rose-orangé (flavones).
- rouge (flavonols).
- violet, bleu (flavonones).
- sans coloration (isoflavones).

I.3.2.4. Recherche des stérols et stéroïdes :

Pour la détection de ces composés, on évapore 10 ml d'extrait éthanolique à sec puis on traite le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydre (CHCl_3), puis on filtre le mélange. On ajoute 5 ml d'anhydride acétique à la solution obtenue avec quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). Agitez la solution, puis laissez-la reposer.

- L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert indique la présence des stérols et stéroïdes.

I.3.2.5. Recherche des coumarines :

Evaporer 5 ml de la solution éthérique extraite de l'extrait éthanolique, on ajoute 1 ml d'eau chaude, puis on divise le volume en deux parties. Prendre la moitié du volume comme contrôle et ajouter à l'autre volume 0,5 ml de NH_4OH (10%), ensuite placez deux gouttes sur du papier filtre et vérifiez-les sous la lumière UV.

- La présence des coumarines est indiquée par une fluorescence intense.

I.3.2.6. Recherche des composés réducteurs :

Ajouter 2 mL d'eau distillée et quelques gouttes de la liqueur de Fehling à 1mL de l'extrait éthanolique puis chauffer. La formation d'un précipité rouge brique prouve la présence de sucres.

I.3.2.7. Recherche des tannins :

Traiter 2 mL de la solution éthanolique avec quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1%. Puis les Réactifs de Stiasny et Bath Smith sont utilisés.

- L'apparition de la couleur verte ou bleu verdâtre indique la présence des tanins.

I.3.3. Extraction à l'éther diéthylique : (Mazari, (2010))

I.3.3.1. Recherche des acides gras :

Évaporer à sec 20 ml de l'extrait éthérique, dissoudre le résidu obtenu dans de l'éthanol, on obtient une solution éthanolique, que l'on traite avec une solution basique d'hydroxyde de sodium ou d'hydroxyde de potassium, suivie de l'addition de 2 ml d'eau distillée. Extraire la solution avec l'éther diéthylique et la concentrer à sec.

- Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

I.3.3.2. Recherche des huiles volatiles :

Évaporer à sec 20 ml de l'extrait éthérique, dissoudre le résidu obtenu dans de l'éthanol puis évaporer à sec la solution éthanolique obtenue.

- Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu aromatique.

I.3.3.3. Recherche des lipoïdes :

Après la macération de 2 g de poudre dans 15 ml d'éther de pétrole pendant 30 min, le filtrat est récupéré puis évaporé sur une plaque chauffante jusqu'à l'obtention d'un résidu huileux.

- L'apparition d'une coloration verte ou violette après l'ajout de quelques gouttes d' H_2SO_4

indique la présence de lipoïdes (**Bruneton, (1999)**).

I.3.4. Extraction à l'acide sulfurique : (Mohamed Chenni, (2010))

I.3.4.1. Recherche des quinones combinées :

Extraire la solution obtenue avec du chloroforme (CHCl_3), décanté puis évaporer la phase organique, on ajoute alors quelque goutte d'une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) diluée à 50%

➤ L'apparition d'une couleur rouge indique la présence de quinones combinées.

I.3.5. Extraction au chloroforme : (Mohamed Chenni, (2010))

I.3.5.1. Recherche des stérols insaturés et terpènes :

Les stérols insaturés et les terpènes ont été recherchés par le réactif de Lieberman. 5 ml de l'extrait chloroformique sont évaporés à sec. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique, puis chauffé. On ajoute ensuite 0,5 ml d'acide sulfurique concentré (**Yam, (2009)**).

➤ L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive.

I.3.5.2. Recherche des anthraquinones :

Ajouter 1mL d'une solution de potasse (KOH aqueux 10% (V/V)) à l'extrait chloroformique. Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge.

I.4. Etude quantitative :

I.4.1. Méthode d'extraction :

I.4.1.1. Macération :

Elle consiste à macérer 100g de la poudre de plante dans 300ml de solvant pendant 24h. On filtre et on refait l'opération 2 autres jours. Après récupération de toutes les fractions, on évapore à sec et on mesure le rendement brut.

I.4.1.2. Décoction :

Mettre 100g de la poudre de plante dans 300ml de solvant et chauffer à reflux pendant 30min. On filtre et on évapore à sec et on mesure le rendement brut.

I.4.2. Choix du solvant :

Les opérations d'extractions sont conduites en présence de différents solvants à savoir le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle et l'eau. Ces solvants ont été choisis polaires pour extraire le maximum de la plante.

Un mélange hydroalcoolique peut être envisagé selon les résultats obtenus avec différents pourcentages solvant/eau.

I.4.3. Extraction liquide-liquide :

L'extraction liquide-liquide des métabolites secondaires dépend de leur solubilité dans les solvants organiques. Ainsi, le fractionnement de l'extrait brut a été mené, d'abord en ajoutant de l'eau chaude et en filtrant, ensuite en utilisant successivement quatre solvants organiques de polarités différentes (l'éther de pétrole, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le 1-butanol). Les extraits sont conservés à froid jusqu'à leur utilisation. La (figure 17), résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut.

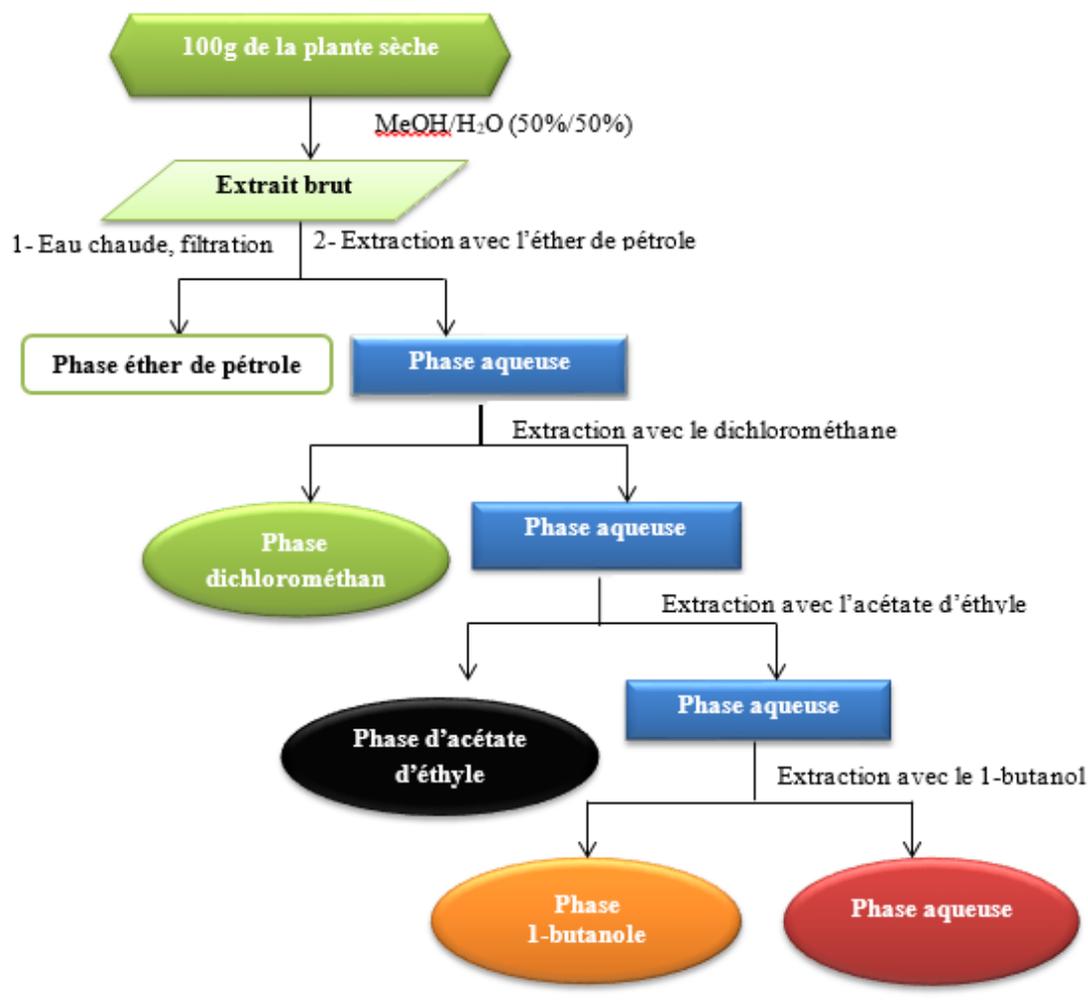


Figure 17 : Les étapes d'extraction de la plante solide/liquide et liquide/liquide

I.4.4. Dosage des polyphénols :

I.4.4.1. Principe :

Ce dosage s'effectue au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit lors de l'oxydation des polyphénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration bleue est mesurée à 750 nm. La méthode est standardisée par rapport à l'Acide Gallique (Daels rakotoarison, (1999)).

I.4.4.2. Mode opératoire :

Une prise de 125 µl de l'extrait dilué 10 fois est mélangée avec 500µl d'eau distillée et 125µl du réactif de Folin-Ciocalteu sont agité vigoureusement pendant 3 min. Une prise de 1250 µl de Na₂CO₃ à 7 % est additinée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 min à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm. La gamme étalon est préparée avec l'acide gallique à des concentration variant de 50 à 500 mg.l⁻¹. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG.g⁻¹ MS) (Bourgou, (2016)).

I.4.5. Dosage des flavonoïdes :

I.4.5.1. Principe :

Ce dosage est basé sur la quantification des flavonoïdes totaux décrit par (Lamaison, (1990)) Elle repose sur le pouvoir de ces molécules à former des complexes avec l'AlCl₃ donnant un chromophore mesurable à 430nm. La méthode est standardisée par rapport à la catéchine.

I.4.5.2. Mode opératoire :

Dans une fiole jaugée de 50ml, une quantité de 100µl de chaque extrait préparé dans le méthanol pur est ajouté à 100µl d'AlCl₃ à 10% et 30ml de méthanol pur, ensuite la fiole est complétée avec de l'eau distillée. L'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la catéchine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait (Kosalec, (2004)).

I.5. Etude de l'activité antioxydante totale par voltammétrie cyclique (Bouhamed, (2019)) :

I.5.1. Principe :

Les méthodes électrochimiques utilisent la propriété de certaines substances de pouvoir échanger des électrons avec un conducteur électronique qui est l'électrode.

La voltamétrie cyclique est une méthode d'analyse électrochimique pour détecter et caractériser des composés oxydables et réductibles en solution.

En voltamétrie cyclique, on fait varier le potentiel de l'électrode de travail d'un potentiel initial E_0 , qui va augmenter jusqu'au potentiel E_{max} , puis il diminue jusqu'à E_{min} avant de retourner à E_0 . On peut enregistrer plusieurs cycles.

Dans le cas d'une réaction réversible, on trouve un courant inverse au retour du balayage de potentiel si le produit de la réaction est stable (figure 21).

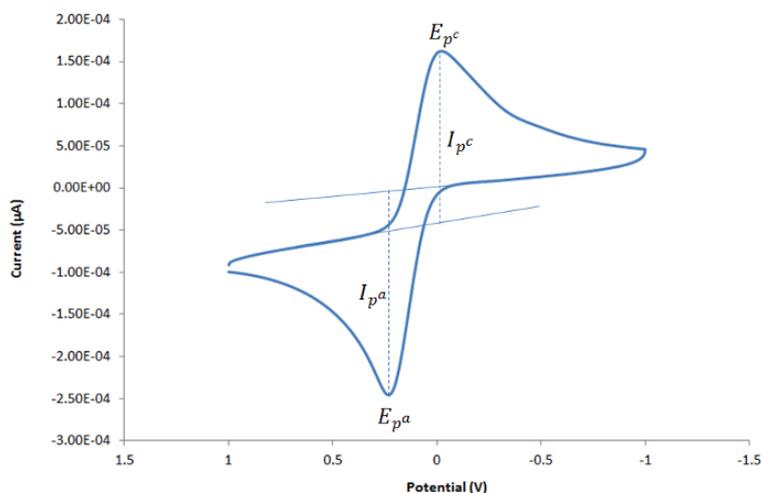


Figure 18 : Voltamogramme d'un système réversible.

* **E_{pa} et E_{pc}** : sont les potentiels d'oxydations et de réductions.

Par contre, si le produit se décompose avant le retour du balayage de potentiel, le vague retour n'est pas observée, c'est le système irréversible (figure 22).

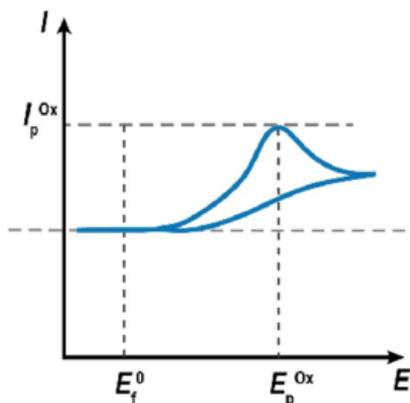


Figure 19 : Voltammogramme d'un système irréversible

Si un composé contient plusieurs degrés d'oxydation, ou s'il y a plusieurs produits présents avec des potentiels rédox différents, le voltammogramme montre plusieurs vagues successives. La (figure 23) montre deux vagues réversibles.

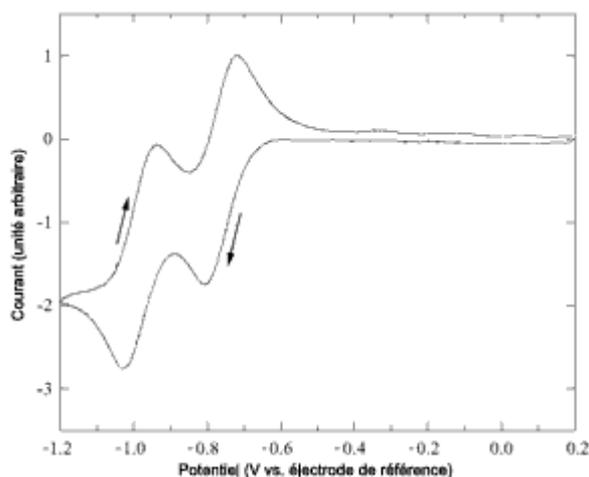


Figure 20 : Voltammogramme d'un système réversible à deux vagues.

L'activité antioxydante des extraits naturels est liée au comportement redox des substituants attachés aux polyphénols (-OH, -OMe, etc.), ce qui est traduit par des pics d'oxydation (intensités (I_{pa}) et potentiels d'oxydation (E_{pa})) et des pics de réduction si le système est réversible.

L'acide gallique est utilisé comme standard dans notre étude, pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits, à cause de ses propriétés antioxydantes intéressantes.

- **I.5.2. Mode opératoire (Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$) :**

- **Comportement de l'oxygène :**

D'après **Benabdesselam (2017)**. Les mesures sont effectuées dans une cellule électrochimique de 25 ml et un système à trois électrodes. L'anion radical superoxyde est généré par l'oxygène moléculaire commercial dissout dans le DMF qui contient 0.1M de $NaBu_4PF_6$ à la température ambiante. La vitesse de balayage est de 100mV/s. La gamme de potentiel appliquée a été réalisée de - 1.6V à 0.0V par rapport à l'ECS. Les voltammogrammes de l'oxygène sont ensuite enregistrés et seront du type (figure 24) :

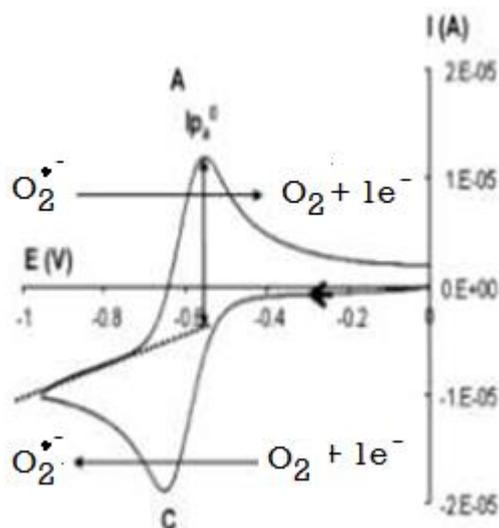


Figure 21 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène (**Benabdesselam, (2017)**)

- **Comportement de l'acide gallique :**

L'étude électrochimique du comportement de l'acide gallique est effectuée à une concentration de 0.1mM à 1.1 mM, un potentiel variant de -0.4 mV à 1.6 mV et une vitesse de balayage de 100 mV/s.

- **Comportement des extraits :**

Dans les mêmes conditions précédentes, on traite les extraits de *Atriplex halimus L.*, en ajoutant une quantité bien déterminée de l'extrait dans la cellule électrochimique (**Boubekri, (2014)**), on obtient les voltammogrammes cycliques suivants :

La capacité du produit testé à piéger les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) est calculée en utilisant l'équation suivante (**Benabdesselam, (2017)**) :

$$\text{Capacité inhibitrice de l'ion superoxyde (\%)} = 100 \cdot (I_{p0} - I_{ps}) / I_{p0}$$

Où : I_{p0} : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène seul

I_{ps} : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène plus l'extrait

Chapitre II :

Résultats et discussion

II.1. Analyse qualitative (screening phytochimique) :

La plante *d'Atriplex Halimus L.*, est parmi les plantes utilisée dans les domaines pharmaceutiques et médicinales (**Benallou, (2018)**). Un criblage phytochimique qualitatif a été élaboré pour la partie aérienne de la plante en vue d'une caractérisation des substances chimiques susceptibles d'être exploités à plusieurs échelles (pharmaceutique, alimentaire, cosmétique, etc.) (**Hamida, (2019)**). L'extraction de ces composés différents est une étape primordiale pour la valorisation de la plante qui dépend de la méthode et du solvant approprié.

Notre étude phytochimique réalisée sur la plante *d'Atriplex Halimus L.*, a montré des résultats qui sont confirmés avec d'autres travaux, à savoir la présence ou l'absence de certaines familles chimiques. Ceci peut être expliqué par une différence au niveau de plusieurs paramètres géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que : la différence du site de récolte y compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, le type de sol, la période de récolte, le patrimoine génétique ou la partie de la plante étudiée.

Nous avons réalisés des tests phytochimiques, en utilisant des extraits aqueux, éthanolique, étherique, acide sulfurique et chloroformique, sur la partie aérienne de la plante *d'Atriplex Halimus L.* provenant de trois différentes altitudes de la région de Tébessa : Tébessa ville, Wanza et Négrine. Les tableaux suivants regroupent les résultats obtenus selon le solvant utilisé puisque chaque type de molécule peut être extrait par un solvant différent.

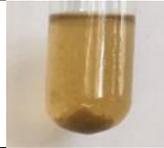
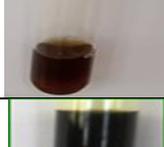
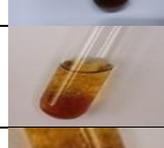
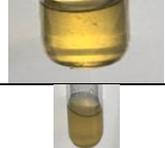
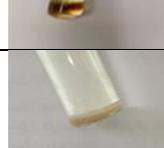
II.1.1. Extraction à l'eau distillée :

Des tests phytochimiques ont été réalisés sur un extrait aqueux préparé à partir de la plante *d'Atriplex Halimus L.* Les résultats ont montré la présence de composés réducteurs, polyphenols, glucosides cardiaques, mucilages et tannins cathéchiqque dans les trois régions. Concernant les composés saponosides ils ont été trouvés dans la plante dérivée de Wanza, et leur absence dans la plante de Tébessa ville et Négrine, et cela est dû à la présence de la plante dans des conditions climatiques différentes (type de sol, l'humidité de l'air et de la température). (**Tahan, (2019)**)

Quant aux résultats négatifs, ils indiquent que les composés ne sont pas présents dans cette plante, tels que l'amidon, les tannins galliques et les caroténoïdes (tableau 6).

Tableau 6 : Les résultats des tests phytochimiques de l'extraction à l'eau distillée.

Plante	Composé recherché	réactif	Résultats			Observation
			Test	Avant	Après	
N	Amidons	I ₂ /réactif d'amidon	-			Bleu Violacé
T			-			Bleu Violacé
W			-			Bleu Violacé
N	Composés Réducteurs	Liqueur de Fehling	+			précipité rouge brique
T			+			précipité rouge brique
W			+			précipité rouge brique
N	Saponosides	test de mousse	-			Pas Mousse
T			-			Pas Mousse
W			+			Mousse=1
N	Tannins	FeC13	-			Bleu-vert
T	Gallique		-			Bleu-vert
W			-			Bleu-vert
N			+			Précipité

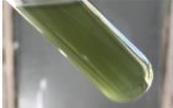
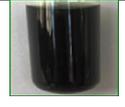
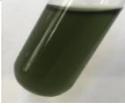
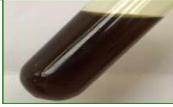
T	Tannins Cathéchique	Réactif de stiasny	+			Précipité
W			+			Précipité
N	Polyphénols	FeCl ₃ à 10%	+			précipité noir- ver
T			+			précipité noir- ver
W			+			précipité noir- ver
N	Glucosides cardiaques	Chloroforme	+			brun-rougeâtre
T			+			brun-rougeâtre
W			+			brun-rougeâtre
N	Mucilages	EtOH	+			précipité floconneux
T			+			précipité floconneux
W			+			précipité floconneux
N	Caroténoïdes	HCl+H ₂ SO ₄	-			Bleu
T			-			Bleu
W			-			Bleu

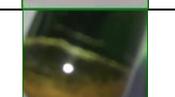
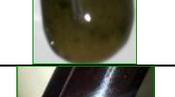
II.1.2. Extraction à l'éthanol :

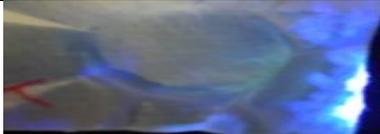
Les résultats obtenus ont montré la présence de flavonoïdes. Les tests sur les coumarines ont montré une fluorescence positive, mais sur la plaque CCM, on peut remarquer que la plante de Wanza contient plus de coumarines que celle de Tébessa ville et moins dans la plante de Négrine. Pour les composés réducteurs, nous avons remarqué la présence d'une grande quantité de précipité pour la plante de Wanza, moins pour la plante de Tébessa ville et encore moins pour la plante de Négrine. Les mêmes résultats ont été trouvés par (Benhammou, (2009), pour la plante d'*Atriplex Halimus L.* de la région de Biskra. Concernant les composés anthracénosides, une couleur rouge foncé est apparue dans la plante de Négrine, moins foncé dans la plante de Tébessa ville et dans une moindre mesure à Wanza.

Les tests sur les alcaloïdes, les anthocyanosides, les stérols, stéroïdes et les tannins ont été trouvés négatifs pour toutes les régions (tableau 7).

Tableau 7 : Les résultats des tests phytochimiques de l'extraction à l'éthanol.

Plante	Composé recherché	réactif	Résultats			Observation
			Test	Avant	Après	
N	Alcaloïde	Réactif de Mayer (M)	-			précipité blanc
T			-			précipité blanc
W			-			précipité blanc
N	Alcaloïde	Réactif de Wagner	-			précipité blanc
T			-			précipité blanc
W			-			précipité blanc
N			+			Violet

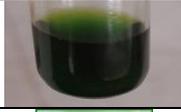
T	Antracénoside	Réactif de Borntrager	+/-			Violet
W			-			Violet
N	Anthocyanoside	Dosage avec NaOH	-			Rouge
T			-			Rouge
W			-			Rouge
N	Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	+			précipité rouge brique
T			+			précipité rouge brique
W			+			précipité rouge brique
N	Flavonoïde	HCl cc + Mg	+			violet, bleu
T			+			violet, bleu
W			+			violet, bleu
N	Stérols et stéroïde	Réactif de Liebermann Burchard	-			Violet
T			-			Violet
W			-			Violet

N	Tannins	FeCl ₃	-			Bleu-vert
T			-			Bleu-vert
W			-			Bleu-vert
N	Les coumarines	NH ₄ OH 10%	+			fluorescence intense
T			+			fluorescence intense
W			+			fluorescence intense
N	Les coumarines	NH ₄ OH 10%	+			
T			+			
W			+			

II.1.3. Extraction à l'éther diéthylique :

Pour l'extrait étherique, les résultats des tests des lipides et les acides gras ont montrés la présence dans les trois régions. Les huiles volatils sont absent dans les trois régions (tableau 8).

Tableau 8 : Les résultats des tests phytochimiques de l'extraction à l'éther diéthylique.

Plante	Composé recherché	réactif	Résultats			Observation
			Test	Avant	Après	
N	Acides gras	NaOH	+			résidu gras
T			+			résidu gras
W			+			résidu gras
N	Huile volatile	EtOH	-			résidu aromatique
T			-			résidu aromatique
W			-			résidu aromatique
N	Lipoides	H ₂ SO ₄	+			verte ou viol ète
T			+			verte ou viol ète
W			+			verte ou viol ète

II.1.4. Extractions par le chloroforme et l'acide sulfurique :

Pour l'extrait chloroformique, les résultats des tests de stérols insaturés, terpènes et anthraquinones étaient tous négatifs dans les trois régions. Dans l'extrait d'acide sulfurique, le résultat du test des quinones combinés est positif (couleur rouge) dans les trois plantes (tableau 9).

Tableau 9 : Les résultats des tests phytochimiques des extractions par le chloroforme et l'acide sulfurique.

Plante	Composé recherché	réactif	Résultats			Observation
			Test	Avant	Après	
N	Stérols insaturés et terpènes	H ₂ SO ₄	-			l'interphase bleu
T			-			l'interphase bleu
W			-			l'interphase bleu
N	Anthraquinones	NaOH à 10%	-			phase aqueuse au rouge
T			-			phase aqueuse au rouge
W			-			phase aqueuse au rouge
N	Quinones combinés	NH ₄ OH	+			Rouge
T			+			Rouge
W			+			Rouge

II.2. Analyse quantitative :

II.2.1. Rendements (bruts, polyphénols et flavonoïdes) :

L'étude quantitative des extraits bruts d'*Atriplex Halimus L.*, au moyen des dosages spectrophotométriques UV-Visible, ont pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Deux courbes d'étalonnages ont été tracées avec des solutions étalons à différentes concentrations (l'acide gallique pour le dosage des polyphénols (figure 25) et la catéchine pour le dosage des flavonoïdes (figure 26). Les quantités des polyphénols et des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en milligramme d'équivalents de l'étalon utilisé par millilitre d'extrait (mg Eq AG/ml d'extrait) donnant des droites d'équation :

($Y = ax + b$) Y étant l'absorbance et x la concentration.

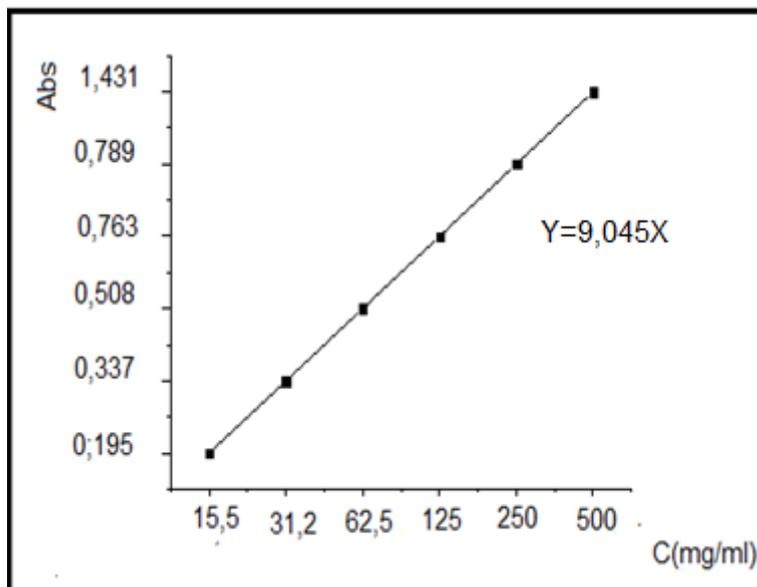


Figure 25: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

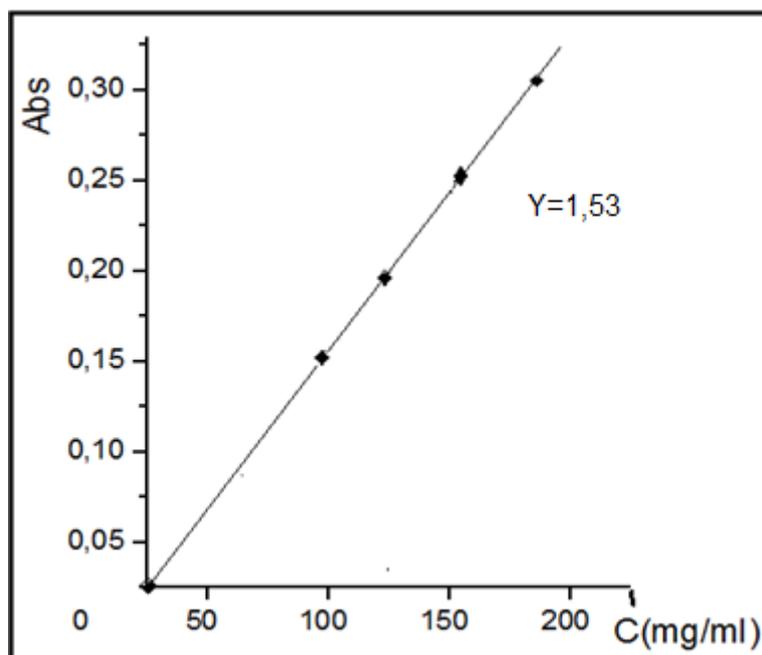


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

II.2.1.1. Choix de la méthode d'extraction et du solvant pure :

Pour notre matière végétale, nous avons essayé l'extraction à chaud et à froid avec différents solvants. Les résultats rendements (bruts, polyphénols et flavonoïdes) obtenus sont regroupés dans le tableau 10 et les figures 26-28.

Tableau 10 : Rendements (bruts, polyphénols et flavonoïdes) à chaud et à froid et différents solvants.

Plante	Solvant	A chaud			A froid		
		Extrait brut(%)	Polyphénols C(mg/ml)	Flavonoïdes C(mg/ml)	Extrait brut(%)	Polyphénols C(mg/ml)	Flavonoïdes C(mg/ml)
W	EtOH	7,61	18,46	0,56	8,31	28,64	0,74
T		9,10	15,70	0,10	9,47	20,68	0,15
N		5,3	19,76	0,19	7,15	31,73	0,22
W	Acétate d'éthyle	4,32	14,58	0,60	4,98	18,02	0,65
T		6,09	13,97	0,07	6,26	15,92	0,10
N		2,06	16,81	0,14	3,87	19,85	0,21
W	Acéton	2,4	3,53	0,089	3,26	5,53	0,09
T		3,7	1,48	0,05	3,95	4,42	0,06
N		1,3	4,98	0,06	2,69	7,74	0,08
W	MeOH	9,8	26,98	0,72	10,34	34,27	0,96
T		12,13	23,80	0,23	13,21	24,58	0,34
N		8,65	29,39	0,44	9,93	44,23	0,74
W	Eau	11,5	28,12	0,72	12,87	42,12	1,17
T		13,34	24,78	0,26	13,9	39,09	0,94
N		11,9	34,65	0,60	10,77	48,20	1,06

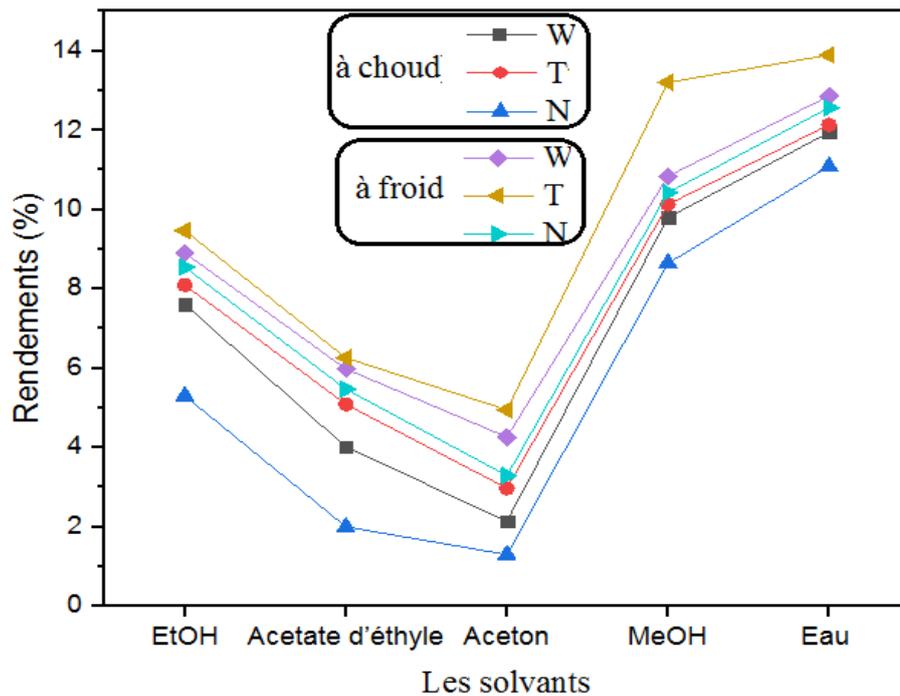


Figure 27 : Les rendements des extraits bruts (à chaud et à froid) dans les trois régions de Tébessa dans différents solvants.

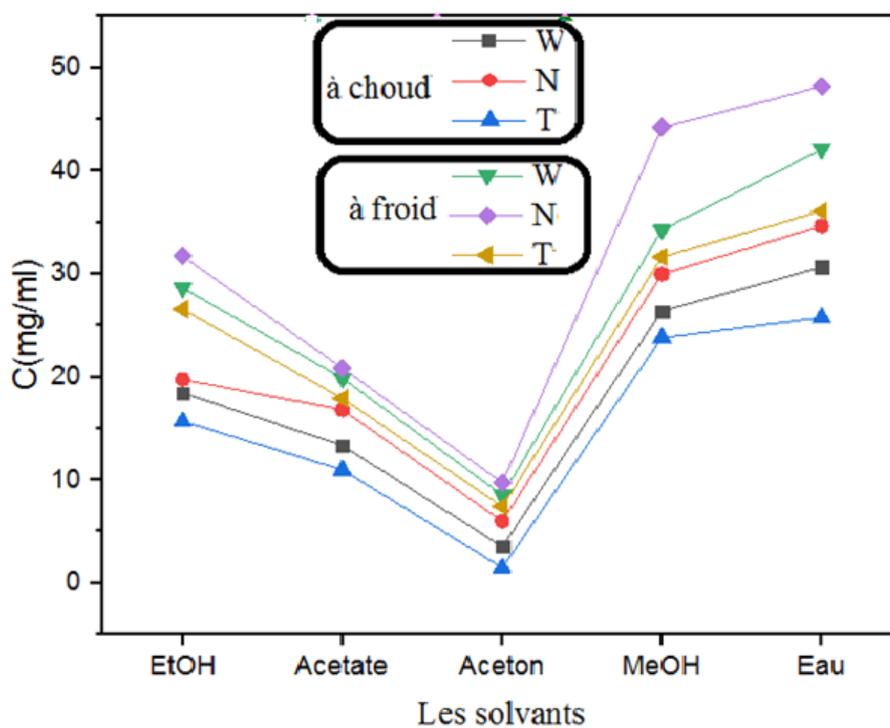


Figure 28 : Concentration des polyphénols (à chaud et à froid) dans les trois régions de Tébessa dans différents solvants.

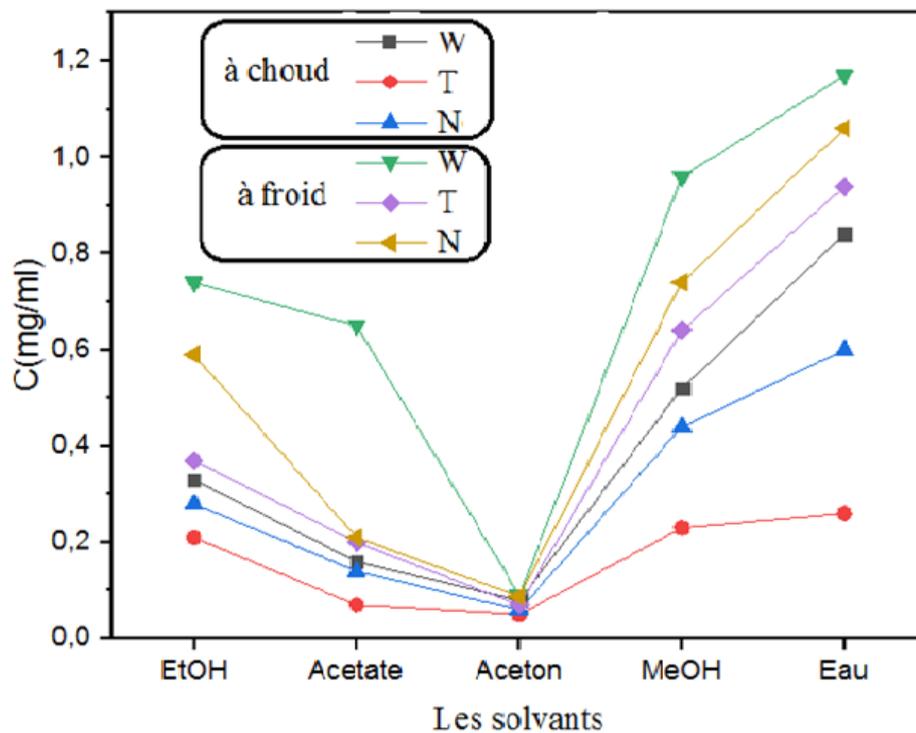


Figure 29 : Concentration des flavonoïdes (à chaud et à froid) dans les trois régions de Tébessa dans différents solvants.

Quel que soit le solvant utilisé, la méthode à froid a donné les meilleurs résultats. Cette méthode est la macération à température ambiante. Nous avons donc utilisé ce procédé pour le reste de nos investigations sachant que cette méthode donne une grande protection des molécules thermosensibles confirmée par (Leybros, (1984) ; Laaboudi, (2015)).

Lors de l'extraction de nos plantes des trois régions de Tébessa (Wanza, Tébessa et Négrine), nous avons travaillé avec des solvants de forte polarité à savoir : le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle et l'eau, dont les résultats ont été représentés dans les figures 27-29 et le tableau 10. Nous avons remarqué une différence dans les rendements bruts, polyphénols et flavonoïdes, dans chaque solvant utilisé. D'après ces résultats, l'eau donnait les meilleurs rendements pour toutes les régions, suivies par le méthanol, ensuite l'éthanol, puis l'acétate d'éthyle, et le rendement le plus faible était celui de l'acétone. Les deux meilleurs solvants, c'est-à-dire l'eau et le méthanol sont confirmés par d'autres recherches (Slamani, (2018)).

Malgré que l'eau ait donné le meilleur résultat, il ne peut être considéré seul pour des raisons de biodégradabilité, c'est-à-dire le risque de la fermentation et la contamination bactérienne, surtout si plusieurs jours se sont écoulés. Ces phénomènes peuvent conduire à la dégradation des molécules actives (Leybros, (2015)).

II.2.1.2. Choix du mélange solvant-eau :

Comme l'eau et le méthanol ont donné les meilleurs rendements, nous avons voulu tester les mélanges hydro-alcooliques. Les résultats sont mentionnés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Rendements (bruts, polyphénols et flavonoïdes) dans différents les mélanges hydro-alcooliques.

Plante	Solvant (MeOH /eau) (v/v) %	Rendement		
		Extrait brut (%)	Polyphénol C (mg /ml)	Flavonoïde C (mg /ml)
N	100/0	11,075	44,23	0,74
T		15,38	24,58	0,34
W		12,125	34,27	0,96
N	90 /10	7,45	25,43	0,27
T		9,46	21,46	0,25
W		8,55	24,32	0,29
N	80/20	8,45	25,76	0,36
T		10,32	22,55	0,34
W		9,8	23,99	0,41
N	70/30	9,13	24,55	0,35
T		11,76	22,67	0,31
W		10,90	23,32	0,37
N	60/40	11,06	25,65	0,33
T		13	23,319	0,32
W		12,35	24,98	0,52
N	50/50	12,86	45,28	0,98
T		16,93	35,41	0,38

W		13,11	36,30	1,07
N	40/60	10,71	26,45	0,22
T		12,91	24,26	0,14
W		11,88	26,35	0,26
N	0/100	12,65	46,43	1,06
T		19,01	38,09	0,94
W		14,15	42,34	1,17

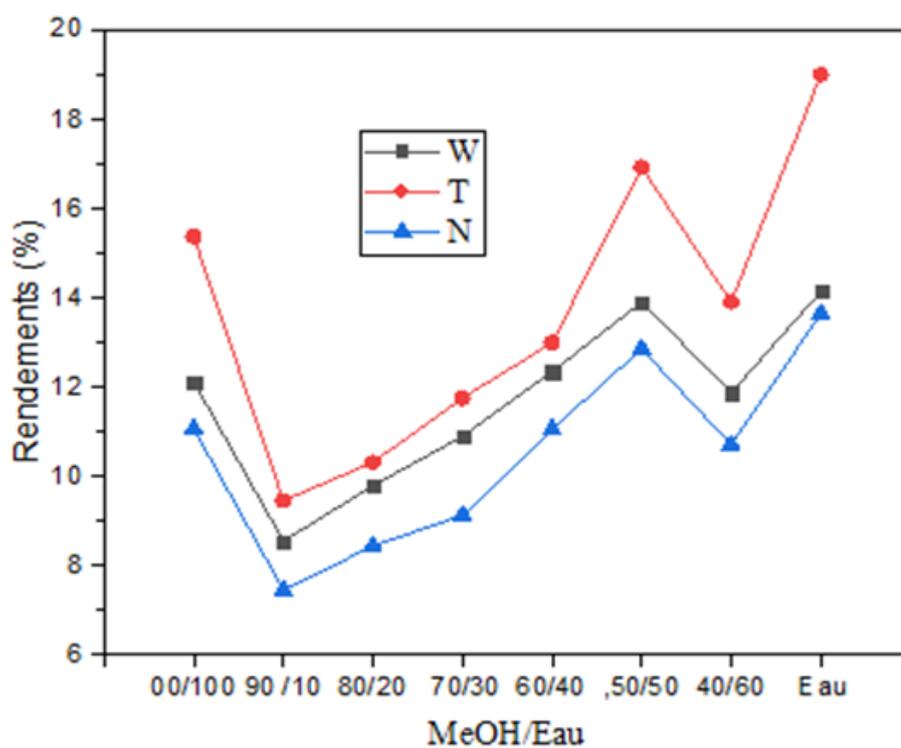


Figure 30 : Les rendements des extraits bruts dans les trois régions de Tébessa dans les mélanges hydro-alcooliques.

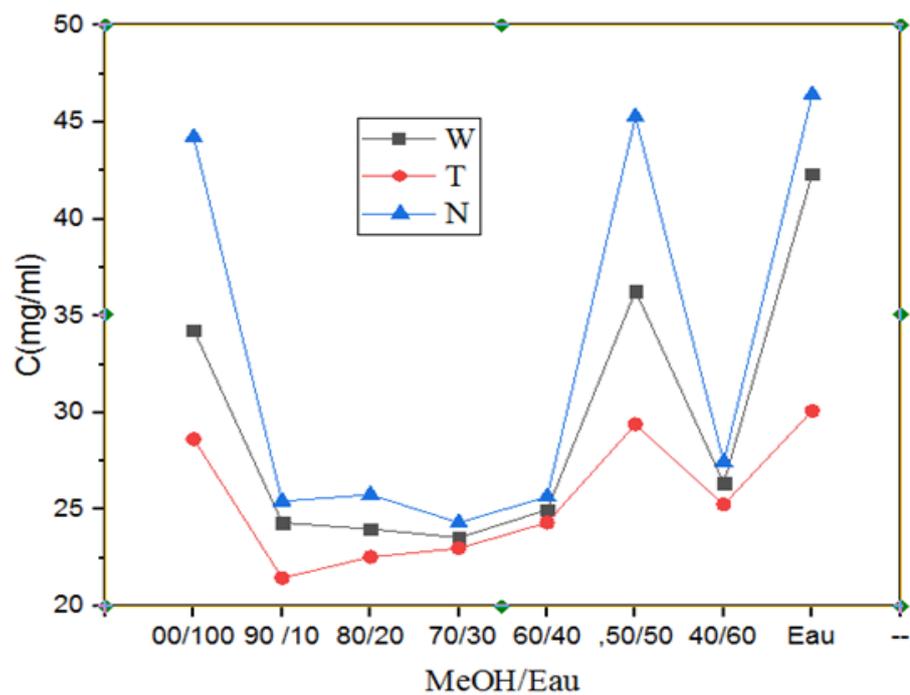


Figure 31 : Concentration des polyphénols dans les trois régions de Tébessa dans les mélanges hydro-alcooliques.

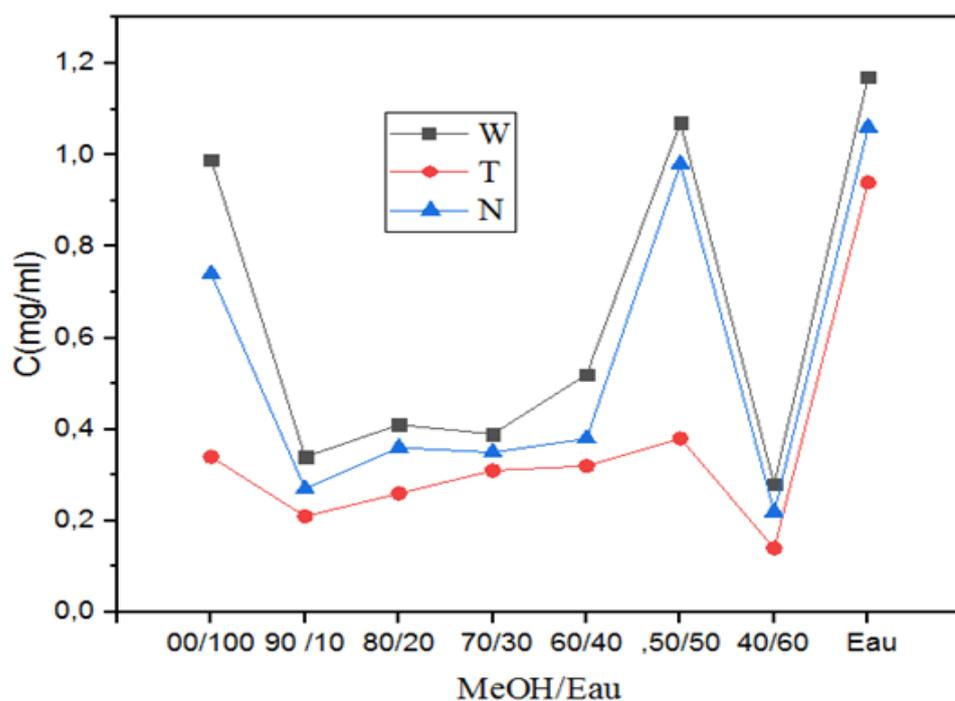


Figure 32 : Concentration des flavonoïdes dans les trois régions de Tébessa dans les mélanges hydro-alcooliques.

A partir du tableau 11 et des figures 30-32, nous avons remarqué que les meilleurs rendements des extraits (bruts, polyphénols et flavonoïdes) ont été obtenus pour l'eau et le mélange hydro-méthanol (50%/50%). Sur la base de ces résultats, nous allons nous concentrer, dans notre étude, sur ce mélange.

Le tableau 11 et les figures 31 et 32 montrent que la région de Négrine contient la plus grande quantité de polyphénols suivis par Wanza et la plus petite quantité est pour Tébessa. Par contre, la plus grande quantité de flavonoïdes était enregistré pour la région de Wanza, suivi par la région de Négrine est enfin la petite quantité est pour Tébessa.

A partir de là, nous pouvons dire que l'incompatibilité des résultats des flavonoïdes avec les polyphénols dans les trois régions est dû au fait que les polyphénols ne contiennent pas seulement les flavonoïdes, mais contiennent également d'autres composés tels que les coumarines, les tanins, etc.

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement et participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés. Ces composés jouent donc un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Macheïx, (2005)**).

Les différents résultats peuvent s'expliquer par les conditions climatiques (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires (**Falleh, (2008)** ; **Yosr, (2010)**) la localisation géographique (**Ebrahimzadeh, (2008)**), le stade de maturation et la période de cueillette. (**Theerawitaya, (2014)**).

II.2.1.3. Préparation des extraits des métabolites secondaires :

L'extraction des plantes choisies, des différentes régions de Tébessa (W, T et N) par le meilleur mélange hydro-alcoolique méthanol-eau (50%/50%) a donné les meilleurs rendements bruts (métabolites primaires et secondaires) comme indiqué sur le tableau 12 et la figure 33.

Tableau 12 : Rendements des extraits avec le mélange méthanol-eau (50%/50%).

	W	T	N
Métabolites Primaires	3,7	6,96	1,54
Métabolites secondaires	21,16	21	21,34
Déchets	75,14	72,04	77,12

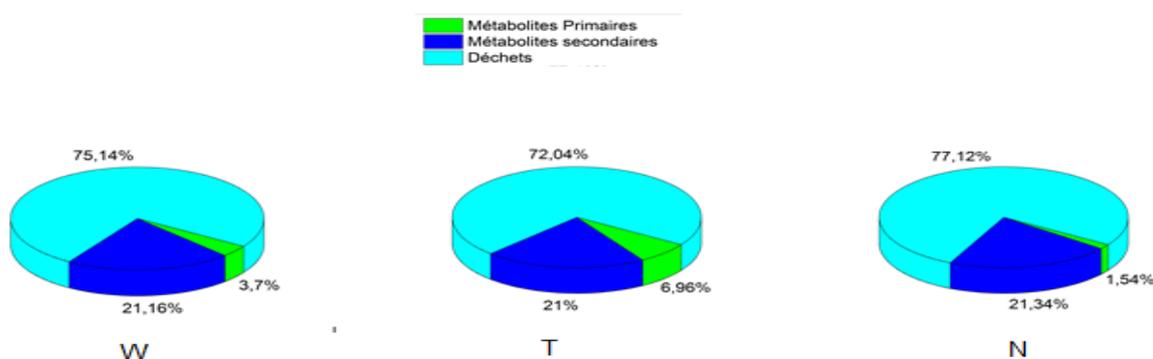


Figure 33 : Métabolites primaires, secondaires et déchets de chaque plante étudiée.

Les résultats indiquent que la quantité d'extrait brut varie d'une région à l'autre, où nous avons constaté que le plus grand rendement a été observé dans la plante de Tébessa, suivie par la plante de Négrine, ensuite la plante de Wanza.

Par rapport aux métabolites secondaires la plante de Négrine est la plus riche par rapport à la plante de Wanza et celle de Tébessa (figure 33).

Concernant les différentes classes des métabolites secondaires, nous avons utilisé des solvants de polarité croissante qui permettent d'obtenir quatre extraits différents. L'extrait Brut a été obtenu à partir de l'épuisement de la plante par le mélange MeOH/Eau (50%/50%). Après l'ajout de l'eau chaude et refroidissement du mélange pendant une nuit, on procède à l'extraction par l'éther de pétrole pour éliminer les métabolites primaires (chlorophylle, lipides, acides gras, etc.) ; on extrait alors avec le dichlorométhane (DCM), suivi par l'acétate d'éthyle (AcOEt),

ensuite le butanol (Bu-OH) et enfin l'évaporation de l'eau restante nous donne l'extrait aqueux (Aq). Les résultats sont regroupés dans le tableau 13 et montés sur la (figure 33).

Tableau 13 : Métabolites secondaires de chaque plante étudiée.

Solvant	Extraits	Rendements		
		W	T	N
Méthanol/eau (50%/50%)	DCM	0,24	0,22	0,21
	AcOEt	0,16	0,18	0,17
	Bu-OH	0,7	1,2	1,4
	Aq	20,06	19,4	19,56

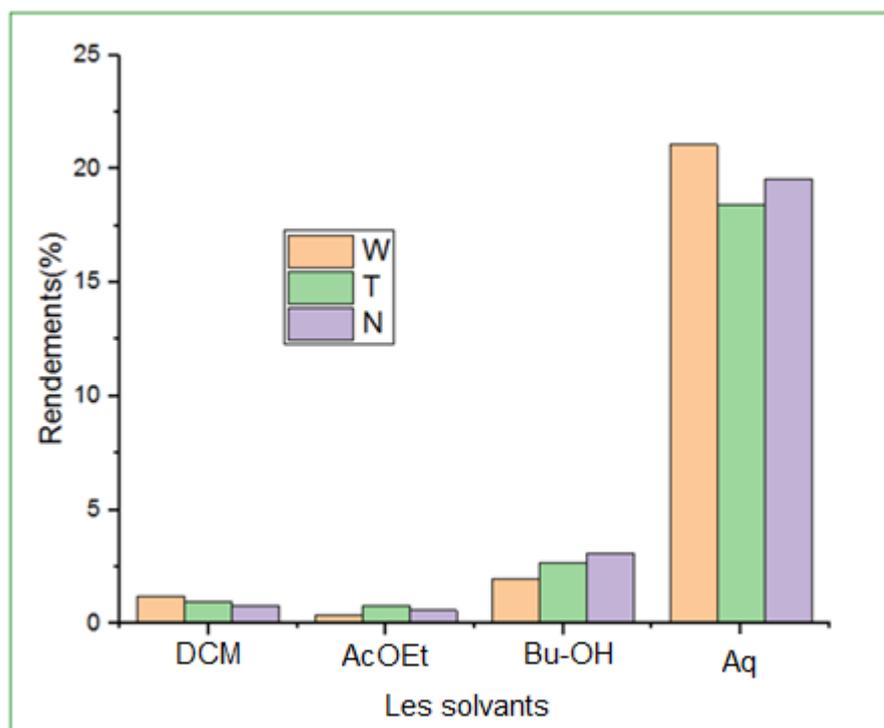


Figure 34 : Les différents extraits des métabolites secondaires de chaque plante étudiée dans les solvants de polarité croissante.

D'après la figure 34, le meilleur rendement était pour l'extrait aqueux, suivi par l'extrait du butanol, puis le dichlorométhane, et le rendement le plus faible a été observé dans l'extrait d'acétate d'éthyle pour les trois plantes étudiées.

Nous pouvons noter aussi des différences dans le rendement de chaque extrait d'une plante à l'autre. Par exemple, le rendement de l'extrait aqueux dans la plante de Wanza est supérieur à celui de Tébessa et Négrine. Quant à l'extrait du butanol, le meilleur rendement a été trouvé pour la plante de Négrine. On note également que le plus grand rendement de l'extrait de dichlorométhane a été trouvé à Wanza et celui de l'extrait acétate d'éthyle de la plante de Tébessa est le meilleur.

Le type de molécules dans chaque extrait sera déterminé ultérieurement par des analyses HPLC. Ces composés sont affectés par plusieurs facteurs, notamment la chaleur, l'humidité et le sol (**Tahan, (2019)**).

III.1. Evaluation de l'activité antioxydante par voltammétrie cyclique (piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$) :

L'activité antioxydante des extraits naturels est liée au comportement redox des substituants attachés aux polyphénols (-OH, -OMe, etc.), ce qui est traduit par des pics d'oxydation (intensités (I_{pa}) et potentiels d'oxydation (E_{pa})) et des pics de réduction si le système est réversible.

L'acide gallique est utilisé comme standard dans notre étude, pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits, à cause de ses propriétés antioxydantes intéressantes.

III.1.1. Comportement de l'oxygène :

D'après **Benabdessalam (2017)**, les mesures sont effectuées dans une cellule électrochimique de 25 ml et un système à trois électrodes. L'anion radical superoxyde est généré par l'oxygène moléculaire commercial. La vitesse de balayage est de 100mV/s. La gamme de potentiel appliquée a été réalisée de - 1.6V à 0.0V par rapport à l'ECS à la température ambiante.

Dans notre étude, un premier essai a été effectué dans l'eau en présence de 0.1M de NaCl comme électrolyte support. Le voltammogramme de l'oxygène enregistré (figure 34) ne montre pas de vague retour car une fois l'ion radical oxygène formé, il réagit avec l'eau pour se transformer immédiatement en eau oxygénée.

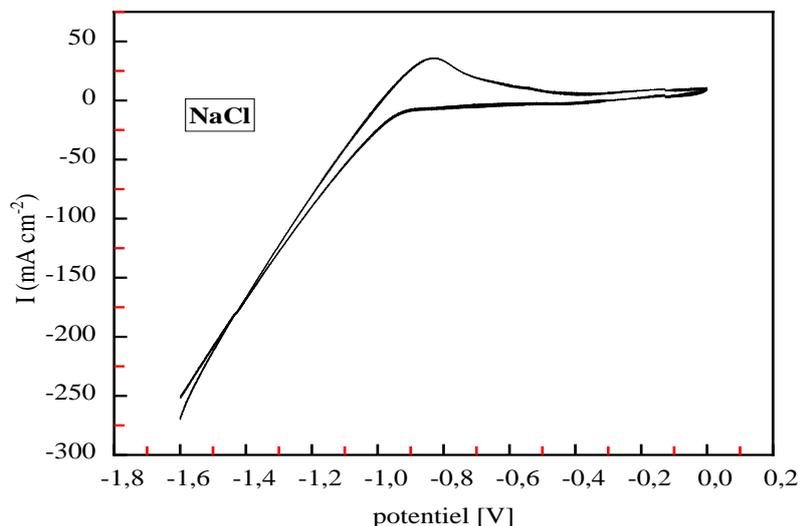


Figure 35: Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans l'eau et NaCl.

Il faudrait donc éviter l'eau pour ne pas avoir des sous-produits et une perte de réversibilité. Nous avons donc travaillé avec le DMF contenant 0.1M de $\text{NaBu}_4\text{NPF}_6$ comme électrolyte support. La figure 35 montre le voltammogramme de l'oxygène enregistré dans ces nouvelles conditions.

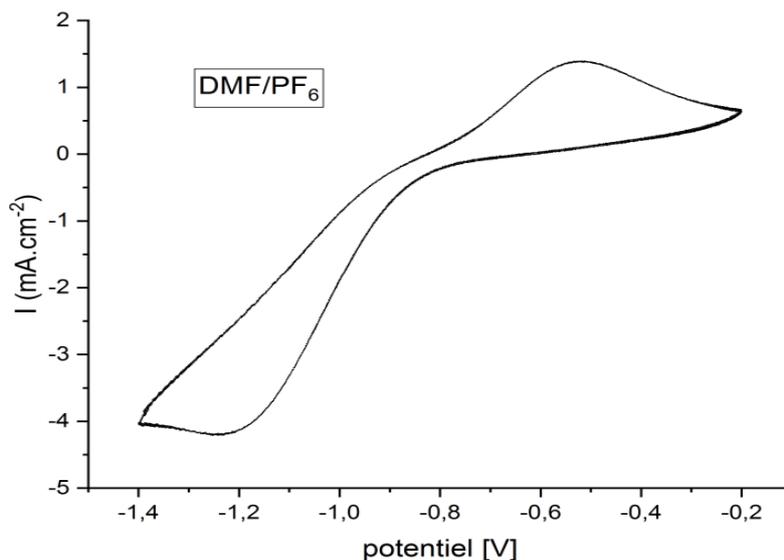


Figure 36: Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans le DMF et PF_6^-

D'après cette figure, nous pouvons voir clairement la vague retour de l'oxygène.

L'intensité du courant du pic anodique vaux 1,394 mA/cm².

III.3.2. Comportement de l'acide gallique :

L'étude électrochimique du comportement de l'acide gallique est effectuée à une concentration de 0.1 mM, un potentiel variant de - 1.6V à 0.0V et une vitesse de balayage de 100 mV/s. On obtient les voltammogrammes cycliques suivants :

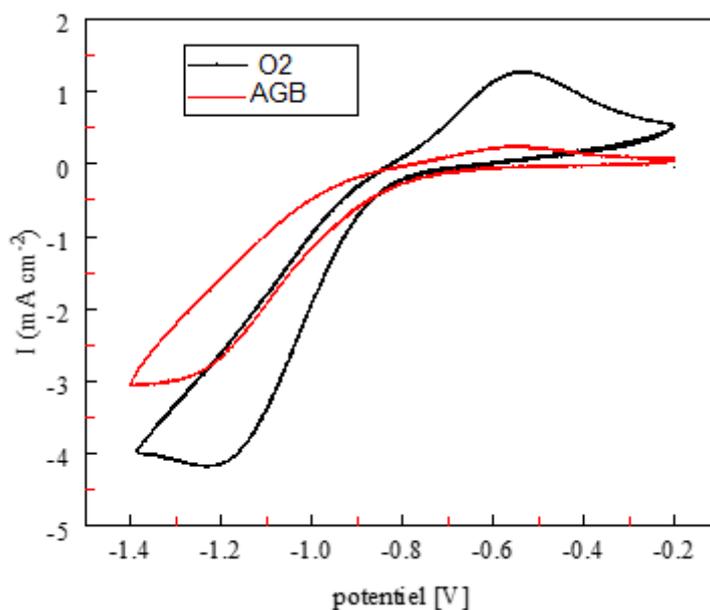


Figure 37 : Voltammogrammes de l'acide gallique barboté (AGB) et l'oxygène.

L'intensité du courant du pic anodique de l'acide gallique avec le barbotage à l'oxygène vaux 0,2751 mA/cm².

III.3.3. Comportement des extraits de *Atriplex Halimus L.* :

Dans les mêmes conditions précédentes, on traite les extraits de *Atriplex Halimus L.* en ajoutant une quantité bien déterminée de l'extrait dans la cellule électrochimique (Boubekri, (2014)). Dans notre cas nous avons utilisé 0,0178 mg d'extrait dans 20 ml de solvant. On obtient les voltammogrammes cycliques suivants (figures 37) correspondant aux extraits bruts, dichlorométhane (DCM), acétate d'éthyle (AcOEt), n-butanol (Bu-OH) et aqueux (Aq) de la plante de Tébéssa (T) respectivement avec et sans barbotage à l'oxygène.

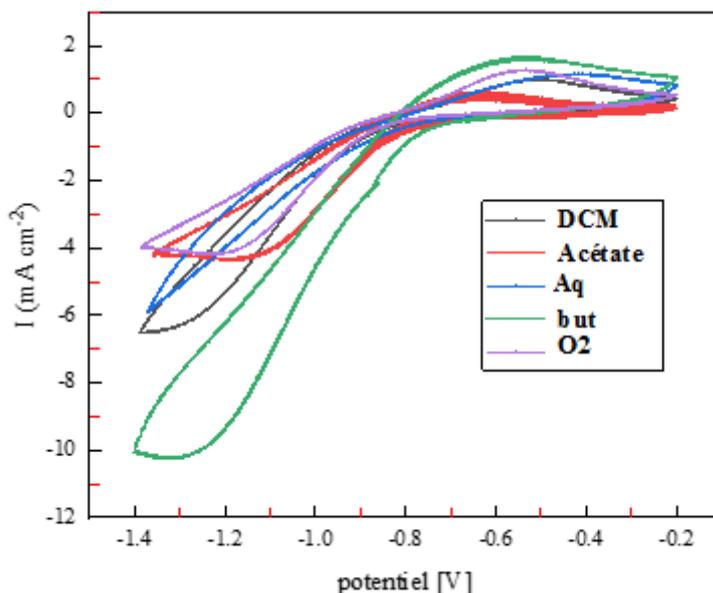


Figure 38 : Voltammogrammes de tous les extraits de la plante de Tébessa avec barbotage comparés à l'oxygène.

La capacité du produit testé à piéger les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) est calculée en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Capacité inhibitrice de l'ion superoxyde (\%)} = 100 * (I_{p0} - I_{ps}) / I_{p0}$$

Où : I_{p0} : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène seul

I_{ps} : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène plus l'extrait

En se basant sur cette équation, on peut calculer les pourcentages d'inhibition de l'anion superoxyde par l'antioxydant standard qui est l'acide gallique ainsi que par les extraits étudiés. Les résultats sont regroupés dans le tableau 14.

Tableau 14: Pourcentages d'inhibition de l'ion superoxyde par l'acide gallique et les différents extraits de *Atriplex Halimus L.* de Tébessa.

Entité ou extrait	Intensité du courant du pic anodique (mA/cm ²)	Potentiel (V)	Pourcentages d'inhibition de l'ion superoxyde (%)
O ₂	1,3940	-0,5225	-
AGB	0,2751	-0,5188	80,20
Brut	0,4403	-0,4254	68,40
DCM	1,1640	-0,4854	16,40
AcOEt	0,2798	-0,5149	79,92
Bu-OH	1,9235	-0,5410	-
Aq	1,1280	-0,4380	19,08

D'après ce tableau, nous pouvons dire que l'acide gallique donne la meilleure inhibition des radicaux superoxydes avec un pourcentage de 80%.

Parmi les extraits de *Atriplex Halimus L.* de Tébessa, nous avons noté que l'extrait AcOEt a donné une inhibition similaire à l'acide gallique avec un pourcentage de 80% ce qui implique que l'extrait AcOEt contient des molécules contenant des OH qui interviennent dans ce processus. Les autres extraits DCM et Aq n'ont pas donné une valeur significative.

L'extrait Bu-OH a donné une valeur de courant supérieure à celle de l'oxygène, ce qui implique que cette fraction contient probablement plusieurs molécules oxydables qui ont générées une grande quantité de radicaux libres qui a dépassé celle de l'oxygène. L'information sur l'inhibition des radicaux superoxydes n'est pas disponible.

L'extrait brut a montré une bonne inhibition, mais pas aussi importante que l'extrait AcOEt avec un pourcentage de 68%. Ceci est dû à la quantité de radicaux générée par la fraction Bu-OH.

Une analyse HPLC confirmera cette hypothèse.

Conclusion

Le présent travail est consacré à l'étude phytochimique et à l'activité antioxydante des extraits des plantes d'*Atriplex halimus L.*, choisie sur la base de son usage traditionnel. La zone d'étude représente trois communes de la région de Tébessa (Wanza, Tébessa ville et Négrine) pour des raisons climatique et géographique.

Pour ce faire, on a effectué au préalable un criblage phytochimique des métabolites contenus dans cette espèce. Les composés chimiques mis en évidence sont : composés réducteurs, saponosides, tannins cathéchique, polyphénols, glucosides cardiaques mucilages, antracénoside, flavonoïde, les coumarines, acides gras, lipoïdes quinones combinés.

L'extraction des composés phénoliques est une étape importante pour la valorisation des principes actifs d'une plante. Elle dépend à la fois du solvant d'extraction et de la nature des composés à extraire.

On a tenté, dans un premier temps, d'extraire les composés phénoliques par extraction solide-liquide en utilisant des solvants purs de forte polarité (eau, méthanol, éthanol, acétate d'éthyle et acétone), de manière à solubiliser un maximum de composés. Les différents extraits obtenus ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour leur contenu en flavonoïdes et en polyphénols. Par ailleurs, on a démontré que l'eau et le méthanol sont les meilleurs solvants extracteurs des flavonoïdes et polyphénols contenus dans cette espèce.

Les mesures ont été menées à chaud et à froid et quel que soit le solvant utilisé, la méthode à froid a donné les meilleurs résultats offrant une grande protection des molécules thermosensibles.

Dans un deuxième temps, on a réalisé l'extraction avec un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau), pour des raisons de biodégradabilité et on a obtenu le meilleur rendement avec le mélange (50%/50%).

Les dosages ont montré que la région de Négrine contient la plus grande quantité de polyphénols, suivie par Wanza et la plus petite quantité a été enregistrée pour Tébessa. Par contre, la plus grande quantité de flavonoïdes a été enregistrée pour la région de Wanza, suivi par la région de Négrine est enfin la petite quantité est pour Tébessa. Cette différence est dû au fait que les polyphénols ne contiennent pas seulement les flavonoïdes, mais contiennent également d'autres composés phénoliques.

Conclusion

Des extractions successives avec des solvants de polarité croissante ont été menées, dans un troisième temps. Le meilleur rendement a été obtenu pour l'extrait aqueux, suivi par l'extrait du butanol, puis le dichlorométhane et le rendement le plus faible a été observé dans l'extrait d'acétate d'éthyle pour les trois plantes étudiées.

Un test de ces extraits dans le piégeage des radicaux superoxydes a été effectué, par voltamétrie cyclique, et on a constaté que les différents extraits ont présenté des activités antiradicalaires et antioxydantes intéressantes. Il a été constaté que l'efficacité des molécules antioxydantes dans l'extrait AcOEt (80%), similaire à celui de l'acide gallique, l'emporte sur l'activité antioxydante des extraits Brut (68%), DCM (16%) et Aq (19%). L'extrait Bu-OH a montré une densité de courant supérieur à celle de l'oxygène, ceci est dû probablement à la quantité élevée de radicaux générée par cette fraction.

Une analyse HPLC confirmera cette hypothèse.

Bibliographie

A

- Aharonson Z., Shani mishkinsky J., Sulman F.G., Hypoglycaemic effect of the salt bush (*Atriplex halimus*) a feeding source of the Sand Rat (*Psammomysobesus*), *Diabetologia*, Vol.5, Issue, 6, p 379-383, 1969.
- Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T. Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res*, 28, p 65-180, 1996.
- Aworet Samseny R-R., Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le *Strychnos Icaja* Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto –Stomatologie, Mali, 2003.

B

- Bartosz G., Generation of reactive oxygen species in biological systems; *Comments on Toxicology*, 9, p 5-21, 2003.
- Berri R., Contribution a la détermination de la biomasse consommable d'une halophyte: *Atriplex*, Mémoire d'Ingénieur, Université Kasdi Merbah Ouargla, p 20-41, 2009.
- Benallou F., Tefret I., Caractérisation et l'étude de l'effet thérapeutique de la plante *Atriplex Halimus* (Algérien), Mémoire de Master, 1, p 88, 2018.
- Benabdesselam S., Synthèse, Activité antioxydante et antibactérienne de quelques dérivés ferrocéniques obtenus par l'arylation du ferrocène, 2017.
- Benkhaled A., Activités anti-inflammatoire, antioxydante et antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Limoniastrum guyonianum*. Thèse pour obtention du diplôme de doctorat en Sciences, Université Farhat Abbas Sétif, 1, p124, 2018.
- Benrebiha F. Z., Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger, p 5- 20, 1987.

- Benhammou N., Atik Bekkara F., Kadifkova Panovska T., Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplexhalimus*. *C. R. Chimie*, 12, p 1259–1266, 2009.
- Boubekri C., Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des technique électrochimiques, 2014.
- Bonnier G., Douin R., La grande flore en couleur in vitro : Bulletin de liaison du réseau de coopération sur l'Atriplex, N°2, 1996.
- Bonnefont-Rousselot D., Radicaux libres et antioxydants ; Ed : médecine-sciences. flammariion (paris), p 59-81, 2003.
- Bouhamed R., Zidane O., Contribution à l'étude phytochimique de l'extrait brut de *Lepidium sativum* (hab erchad) et leur effet sur certains maladies, 2019.
- Boukhalfa H., Bouraya K., Caractérisation phytochimique et activité insecticide des plantes spontanées du Sahara Septentrional Est Algérien: cas de *Atriplex halimus* L. et *Astragalus gombo*. Coss et Dur. mémoire de master, p 42, 2019.
- Bourgou S., Beji R.S., Medini F., Ksouri R., Effet du Solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénolique et les potentialités antioxydantes d'*Euphobia helioscopia*, *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 28(12), p 1649-1655, 2016.
- Bruneton J., Flavonoïdes, Pharmacognosie, Phytochimie: Plantes médicinales ; Ed 3:TEC et doc paris, p 310-340, 1995.
- Bruneton J., Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} ed, Paris, France, p 1120, 1995.
- Bruneton J., Les tannins. Edition Médicinales Internationales, Paris, p 404, 1995.

C

- Cadenas E. et Packer L.; Handbook of Antioxidants; Ed 2: marcel dekker new york, p 165-187, 2002.

- Chen S. S., Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59, p 113-122, 2004.
- Chenni M., Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale: *Bryonia dioica* Ja, p 45-46, 2010.
- Chikhi I., Allali H., Dib M.A., Medjdoub H., Tabti B., Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplex halimus* L.(Chenopodiaceae) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(3), p 181-184, 2014.
- Cooper R., Age-Reversing Free Radical Fighters: Antioxidants ; Ed : woodland, p 4-11, 1997.
- Cowan M. M., Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin.Microbiol Re*, 12 (4), p 564-582, 1999.
- Desceemaeker K., Nutri- et Phytothérapie: développements récents; Ed: GARANT, p 41-51, 2004.
- Dzingirai B., Mucheweti M., Murenje T., Chidewe C., Benhura M. A. N., and Chagonda L.S., Phenolic content and phospholipids peroxidation inhibition by methanolic extracts of two medicinal plants: *Elionurus muticus* and *Hypoxis hemerocallidea*, *African Journal of Biochemistry Research*, vol. 1, p 137-141, 2007.

E

- Ebrahimzadeh M.A., Pourmmorad F., Hafezi S., Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turk J Biol*, 32, p 43-49, 2008.

F

- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities *C. R. Biologies*, 331, p 372-379, 2008.

G

- Géraldine I., Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments des vins rouges, thèse de doctorat. Université louis pasteur de Strasbourg, 2007.
- Gorham J., Lunularic acid and related compounds in liverworts algae and hydrangea, *Phytochemistry*, Vol. (16), p 249-253, 1977.

H

- Hans W., 1000 Plantes aromatiques et médicinales, édition Mise à jour, Chine, p 336, 2007.
- Halfaoui Y., Valorisation des deux espèces d'Atriplex (*Atriplex halimus L.* et *Atriplex canescens* Purch Nutt) par la culture des tissus in vitro. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme Magister, Université d'Oran, Faculté des sciences, p 120, 2010.
- Heller W., Forkmann G., The flavonoids. Advances in research since (1986). In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London UK, p 399-425, 1993.
- Hireche M., Dosage des polyphénols de la tomate «agora» et étude de leur pouvoir anti-oxydant, Mémoire de master. Université Hassiba Ben Bouali de Chleff, 2013.
- Hodek P., Trefil P., Stiborova M., Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139, p 1–21, 2002.
- Houérou H. N., The role of saltbushes (*Atriplex spp.*) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin : a review. *Agroforestry Systems*, 18(2), p 107–148, 1992.
- Houérou H. N., The rôle of saltbushes (*Atriplex spp.*) in arid land réhabilitation in the: Osmond C.B., Bjorkman O., et Anderson D.J., - physiological process in plant ecology. Toward a semi arid lands. Ed. Academic press. INC, New York (U.S.A), p 601- 642, 1992.

J

- Jadot G., Antioxydants et Vieillessement; Ed: john libbey eurotext paris, p 33-36, 1994.

K

•Kohen R., Nyska A., Oxidation of biological systems oxidative stress phenomena, antioxidants redox reactions and methods for their quantification, *Toxicologic Pathology*, 30, p 620-650, 2002.

•Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S., Vladimir-Knez E., Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm*, 54, p 65-72, 2004.

L

•Laaboudi W., Ghanam J., Merzouki M., Benlemlih M., Ecoextraction of Phenolic compounds from Moroccan olive fruits and leaves and their potential use as antimicrobial agents. *Eur J Sci Res*, 132, p 255-65, 2015.

•Lamaison J.L.C., Carnet A., Teneurs en Principaux Flavonoïdes des fleurs de *Crataegus Monogyna* Jacq et de *Crataegus Laevigata* (Poiret D. C) en Fonction de la Végétation. *Pharmaceutica Acta Helvetia*, 25, p 12-16, 1990.

•Lehucher-Michel M.P., Lesgard J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M., Stress Oxydant et Pathologies Humaines; *La Presse Médicale*, 30, p 1076-1081, 2001.

•Leybros J., Fremeaux P., Extraction solide-liquide – Aspects théoriques. *Technique de l'Ingénieur (traité Génie des procédés)*, J 2780, 1984.

M

•Macheix J-J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes, 2005.

•Madhavi D.L., Deshapand S.S., Salunkhe D.K., Food antioxidants, Ed: CRC PRESS, p 361- 460, 1996.

•Mazari. K, Bendinerad. N, Benkhechi. C, .FernandezX, Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil Isolated from Algerian *Juniperus phoenicea L.* and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research*, 4(10), p 959-964, 2010.

•Milbury P. E., Richer A. C., Understanding the Antioxidant Controversy, Ed: PRAEGER, p 81-100, 2008.

- Mozafar A., Goda J. R., Vesiculated hairs :a mechanisme for salttolerance in *Atriplex halimus* L., *Plan physiology*, 45, p 62-65, 1970.

N

- Negre R., *Petite flore des regions arides du Maroc occidentale*, Tome 1. Ed. CNRS. Paris, p 178, 1961.
- Nergard C. S., Diallo D., Inngjerdingen K., Michaelsen T.E., Matsumoto T., Kiyohara H., Yamada H., Paulsen B.S., Medicinal use of *Cochlospermum tinctorium* in Mali : anti-ulcer, radical scavenging- and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 96, no. 1-2, p 255-269, 2005.

O

- Ozenda P., *Flore et végétation du Sahara*, 3ème ed. Editions CNRS, Paris, 2004.

P

- Passwater R.A., *The Antioxidants*, Ed: keats good health guide, p 7-11, 1997.
- Piquet M. A., Hébuterne X., *Nutrition en pathologie digestive*, Ed: DOIN, p 16-20, 2007.

Q

- Quezel, P., Santa, S., *Nouvelle flore de l'Algérie, et des régions désertique méridionales*, Edition du centre national de la recherche scientifique, Tom1, Paris, p 286-288, 1962.

R

- Rodriguez, SA, MURRAY AP,. *Activité et composition antioxydante de l'huile chimique undulata Atriplex essentielle*. *Nat. Prod. Commun.* 5, p 1841-1844, 2010.
- Rakotoarison D., *Extraits phénoliques d'aubépine, de cola et d'églantier*. Thèse de doctorat, université de Lille-II, France, 1999.

S

- Shani J., Ahronson Z., Sulman F.G., Insulin-potentiating effect of salt bush (*Atriplex halimus*) ashes. *Isr J Med Sci.*, 8, p 757–758, 1972.
- Shahidi F., Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications, Ed. A OCS mission statement, p 174-197, 1997.
- Slamani M., Gharbi D., Extraction et evaluation de l'activité hépatoprotectrice des molécules antioxydantes de l'*Atriplex halimus* en vue de la formulation d'une émulsion buvable pour leur délivrance, mémoire de master, p 32, 2018.
- Smirnoff N., Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, Ed 1:BLACKWELL, p 141-210, 2005.
- Smythies J.R., Every Person's Guide to Antioxidants; Ed: british cataloging, p 89-110, 1998.

T

- Tahan A., Jafari M., Razmjoue D., Javadi A. S., Relationship among some ecological factors and chemical composition of *Ajuga chamaecistus* Ging. plant species .*Acta, Ecologica Sinica*, p 1-9, 2019.
- Theerawitaya C., Samphumphuang T., Chaum S., Yamada N, Takabe T., Responses of *Nypa palm* (*Nypa fruticans*) seedlings, a mangrove species, to salt stress in pot culture, *Flora*, 209, p 597–603, 2014.
- Trivalle C., Gériologie préventive: élément de prévention du vieillissement pathologique, Ed: Masson (paris), p 104-106, 2002.

V

- Van Acker S., van Balen G.P., van den Berg D.J., van der Vijgh, W.J.F., Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56, p 935–943, 2009.

W

- Wilson A. D., The tolerance of sheep to sodium chloride in food or drinking water, *Aust. J. Agri. Res.*,17, p 503-514, 1966.

Y

- Yam M.F., Ang L.F., Ameer O.Z., Salman I.M., Aziz H.A., Asmawi M.Z., Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of acupuncture and meridian studies*, p 280-287, 2009.
- Yao L.H., Jiang Y.M., Shi J., Tomás-Barberán F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S., Flavonoids in Food and Their Health Benefits, *Plant Foods for Human Nutrition*, 59, p 113-122, 2004.
- Ybert E., Delesalle-Féat T., *Des plantes médicinales : Identification, Préparation, Soins*, Ed. Larousse, France, p 335, 2007.
- Yosr Z., Taroub B., Mohamed B., Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities, *Food and Chemical Toxicology*, 48, p 3144–3152, 2010.

المكتبة الجامعية المركزية
معلومات حول الأطروحة أو المذكرة

الاسم: 1./ رمضان

الاسم: 2./ حمزة

اللقب: 1./ خامر

اللقب: 2./ حطابي

.الكلية: العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة و الحياة

القسم: علوم المادة

التخصص: كيمياء عضوية

المستوى: ماستر

عنوان المذكرة أو الأطروحة:

Analyse qualitative et quantitative des polyphénols de l'*Atriplex Halimus L.* de trois régions de Tébessa de différentes altitudes et étude de leur pouvoir antioxydant par voltammétrie cyclique.

المؤطر: بوذبية لويزة.

الكلمات المفتاحية: *Atriplex Halimus L.*; مناطق تبسة; مدييات الاستخلاص; نشاط مضادات الاكسدة; قياس الفولتمترية الدورية

تاريخ المناقشة للأطروحة (اليوم والشهر والسنة): 24./ 06./ 2021

السنة الجامعية: 2020/ 2021

الملخص كاملا بجميع اللغات المتوفرة:

ملخص

اخترنا نبات *Atriplex halimus L.* للتعرف على مكوناته ومحاولة دراسة سلوكه المضاد للأكسدة. تمثل منطقة الدراسة ثلاث بلديات في منطقة تبسة (ونزة ، مدينة تبسة ونقرين).

يكشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مادة البوليفينول ، من بين مواد أخرى. تم إجراء الاستخلاص السائل - صلب و السائل - سائل باستخدام مذيبات مختلفة وبطريقتين. أعطت الاختبارات ، عن طريق قياس الفولتمتر الدوري ، لكسح جذور الأكسيد الفائق كفاءة لمستخلص *AcOEt* مماثلة لتلك الخاصة بحمض الغاليك ، بينما أظهر جزء $Bu-OH$ كثافة تيار أعلى من الأكسجين.

الكلمات المفتاحية : *Atriplex halimus L.*، ونزة، نقرين، تبسة، نشاط مضادات الأكسدة

، قياس الفولتمترية الدورية.

Résumé

Dans ce travail, on a choisi l'*Atriplex halimus L.* pour identifier ses composants et essayer d'étudier son comportement antioxydant. La zone d'étude représente trois communes de la région de Tébessa (Wanza, Tébessa ville et Négrine).

Le criblage phytochimique révèle la présence des polyphénols entre autres. L'extraction solide-liquide et liquide-liquide a été faite avec des solvants différents et avec deux méthodes.

Des tests, par voltamétrie cyclique, du piégeage des radicaux superoxydes a donné une efficacité de l'extrait AcOEt similaire à celui de l'acide gallique, tandis que l'extrait Bu-OH a montré une densité de courant supérieur à celle de l'oxygène.

Mots clés : *Atriplex halimus L.*, Wanza, Négrine, Tébessa, activité antioxydante, voltamétrie cyclique.

Abstract

Atriplex halimus L. was chosen to identify its components and try to study its antioxidant behavior. The study area represents three municipalities in the Tébessa region (Wanza, Tébessa, and Negrine).

Phytochemical screening reveals the presence of polyphenols, among others. The solid-liquid and liquid-liquid extraction were done with different solvents and with two methods.

Tests, by cyclic voltammetry, of the scavenging of superoxide radicals gave an efficiency of the AcOEt extract similar to that of gallic acid, while But-OH fraction showed a higher current density than oxygen.

Keywords: *Atriplex halimus L.*, Wanza, Négrine, Tébessa, antioxidant activity, cyclic voltammetry.