



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et Recherche Scientifique
جامعة الشاهد حمّة لكهدار - الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar – El-OUED
العلوم الطبيعية والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية



N° série :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
Biologiques

Spécialité : Toxicologie fondamentale

THEME

**Contribution à l'étude phytochimique et
l'activité antioxydante des principes actifs de
la plante médicinale *Hammada Scoparia***

Présenté par :

M^{elle} KHELAIFA MERIEM

M^{elle} HOIUDI AMIRA

Devant le jury composé de :

Président	Dr. Nadji nassima	M.C.A Université El – Oued
Examineur	Melle. Ramdane Farah	M.C.A Université El – Oued
Promoteur	Dr. DJAHRA Ali Boutlelis	M.C.A Université El – Oued

2020/2021

Dédicace

Je dédicace ce mémoire :

A mes très chers parents ,ma mère Ouassila Mihi et mon père Ahmed Houidi pour leur patience , leur sacrifice ,leur amour , leur soutien et surtout leur prières tout au long de mes études .Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A mes autres parent Mohammed Houidi et ma mère Zohra Houidi .Ainsi qu'a ma chère grand-mère Friha Houidi.

A mes frères et sœurs Madiha ,Sara , Mouna, Ayoub ,Hiat'allah , Mountaha , Baraa, Imran et Serine

A tout les membres de ma famille (tantes , oncles, nièces , neveux , cousins , cousines).Qui m'ont chaleureusement encouragé tout ou long de mes études .A toutes mes amies pour leur soutien en particulier ma meulière copine Aziza Beggas

et sans oublier mes collègues de travail (Hadji ,Ferial, Abdelmounem ,Khalifa ,Seifeddine) pour leur amour , leur soutien

Houidi Amira



Dédicace

Je dédicace ce mémoire:

A mes parents en modeste témoignage de ma profonde affection .

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère korti zina ,à mon père Tedjani qui sont à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

A mes chères sœurs : Mebarka, Amel, Imane ,khadidja et son mari Taha .

A mon frère: khalifa et Mohamed Elbachir . et ma nièce à doré Iness.

A toutes mes amies et particulièrement à Safa kerrouche , Meriem khelaifa et Othmani Chaima.

A toute personne qui ma encouragée du près ou du loin.

Khelaifa Meriem

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **Dieu**, notre Créateur, de nous avoir donné la santé, le courage et la patience afin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur **Dr. DJAHRA Ali boutelis** pour avoir acceptée d'encadrer ce travail et pour ses conseils

Un très précieux merci à l'informateur officiel **Gobi Sana** qui n'a pas hésité à nous aider en toute humilité, qui a participé avec nous au travail quotidien du laboratoire

Nous tenons à remercier vivement **Mr Ahmed Ghania** de nous faire l'honneur d'accepter d'examiner ce modeste travail, pour nous aider dans la réalisation de ce travail.

On adresse aussi nos remerciements à tout l'ensemble des membres du laboratoire de département de science de la nature et de la vie, Université d'Echahid HAMMA LAKHDAR, El Oued.

Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et la vie.

Notre reconnaissance et nos grand respect s'adressent à la source de bonheur «nos parents» qui nous soutenue avec patience et prouvé leur confiance. Nous leur exprime notre éternelle gratitude.

Enfin, un grand merci à tous qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Resumé

Les plantes médicinales sont largement utilisées soit pour la prévention, soit pour le traitement curatif de plusieurs maladies. Parmi les propriétés derrière ces vertus, l'activité antioxydante tient une place de premier ordre. La plante *Hammada Scoparia* pour les habitants du Sud algérien. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante des deux extraits de la plante *H Scoparia* l'extrait méthanolique et pour l'extrait aqueux. Les résultats d'extraction nous ont donné des rendements différents pour les deux extraits (l'extrait aqueux 22%, l'extrait de méthanolique 7%) respectivement. Les résultats du contenu phénolique révèlent que les deux extraits contiennent un taux important de polyphénols égale à (23.83 ± 0.046 , 307.7 ± 0.040 mg EAG/g) pour l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de la plante *H Scoparia* et les flavonoïdes égale à ($7,5 \pm 0,026$ et 12.4 ± 0.025 EQC /g d'extrait de la plante *Hammada Scoparia*) respectivement. Les valeurs IC50 exprimant une activité anti-radicalaire du test DPPH du varié d'extrait aqueux moins importante que l'acide ascorbique ($0,13$ mg / ml), et pour l'extrait méthanolique ($1,01$ mg / ml) respectivement. Les résultats de l'efficacité antioxydante de la réaction de test FRAP utilisant la réaction FeCl_3 ont été estimés à (409 ± 3.603 mmole Fe^{+2} / g MVS, 236 ± 1.839 mmole Fe^{+2} / g MVS).

Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que l'ensemble des extraits de la plante étudiée présentent des très bonnes propriétés antioxydantes qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie.

Abstract

Medicinal plants are widely used for the prevention or the curative treatment of several diseases. Among the properties behind these virtues, antioxidant activity holds a main place. The *H. Scoparia*'s plant for the inhabitants of southern Algeria. The objective of this experience is to evaluate the antioxidant activity of the two extracts of the *H Scoparia*'s plant the methanol extract and the aqueous extract. The extraction results gave us different yields for the two extracts (1 aqueous extract 22%, methanolic extract 7%) respectively. The results of the phenolic content reveal that the two extracts contain a high level of polyphenols equal to (23.83 ± 0.046 , 307.7 ± 0.040 mg EAG/g) of aqueous extract and methanolic extract of the plant *H. Scoparia* and the flavonoids equal to (7.5 ± 0.026 and 12.4 ± 0.025 EQC/g extract of the plant *H Scoparia*) respectively. The IC₅₀ values expressing the anti-free radical activity of the DPPH test of the variety the aqueous extract less important than the ascorbic acid (0.13 mg/ml), for the methanol extract (1.01 mg/ml) respectively. The results of the antioxidant efficiency of the FRAP test reaction using the FeCl₃ reaction were estimated to be ($409 \pm 3,603$, $236 \pm 1,839$ mmole Fe⁺²/ g MVS). The results of this experience have enabled us to affirm that all the extracts of the plants studied have very good antioxidant properties which could allow us to recommend them in biotechnology.

تستخدم النباتات الطبية على نطاق واسع للوقاية أو العلاج العلاجي للعديد من الأمراض. من بين الخصائص الكامنة وراء هذه الفضائل ، يحتل النشاط المضاد للأكسدة مكانة رئيسية. مصنع *H. Scoparia* لسكان جنوب الجزائر. الهدف من هذه التجربة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصين من نبات *H. Scoparia* ومستخلص الميثانول والمستخلص المائي. أعطتنا نتائج الاستخلاص إنتاجية مختلفة للمستخلصين (المستخلص المائي 22٪ ، المستخلص الميثانولي 7٪) على التوالي. أظهرت نتائج المحتوى الفينولي أن المستخلصين يحتويان على مستوى عالٍ من البوليفينول يساوي 0.046 ± 23.83 ، 0.040 ± 307.7 EAG / جم) من المستخلص المائي والمستخلص الميثانولي لنبات $H. 7.5 \pm 0.026$ و 12.4 ± 0.025 EQC / g مستخلص نبات *H. Scoparia* على التوالي. قيم IC_{50} التي تعبر عن النشاط المضاد للجذور الحرة لاختبار DPPH للصنف المستخلص المائي الأقل أهمية من حمض الأسكوربيك (0.13 مجم / مل) ، لمستخلص الميثانول (1.01 مجم / مل) على التوالي. تم تقدير نتائج كفاءة مضادات الأكسدة لتفاعل اختبار FRAP باستخدام تفاعل $FeCl_3$ لتكون ($3,603 \pm 409$ ، $1,839 \pm 236$ ملي مول في + 2 / جم MVS). لقد مكننا نتائج هذه التجربة من التأكيد على أن جميع مستخلصات النباتات المدروسة لها خصائص مضادة للأكسدة جيدة جدًا والتي يمكن أن تسمح لنا بالتوصية بها في مجال التكنولوجيا الحيوية

Liste des figures

Figure 01: Photo d'espèce végétale: <i>H.scoparia</i> (Braz; M. Hanchour et al 2018).....	6
Figure 02 : Photos de diverses parties de la plante de <i>Hammada Scoparia</i>	8
Figure 3: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).	13
Figure 04 : Sites de production intracellulaire des ERO (Moure <i>et al.</i> , 2001).....	14
Figure 05 :Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire. (Favier2003).....	16
Figure 06 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier2003).	18
Figure 07 : Oligoéléments nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (Roussel, 2009).....	21
Figure 08: Structure du radical stable DPPH° (Molyneuxs , 2004).خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 09: Structure du radical-cation ABTS•+ (Miller et Evans , 1997).....	25
Figure 10 : Photo de La plante <i>Hammada Scoparia</i> après Le séchage	28
Figure 11: Situation géographique de la wilaya de Biskra dans l'Algérie (Dsa.....	29
Figure 12: Localisation géographique de la zone d'étude (Daïra de Sidi Khaled, Wilaya de Biskra). (http://decoupageadministratifalgerie.blogspot.com).	30
Figure13: Protocole de préparation de l'extrait méthanoïque et de l'extrait aqueux.....	31
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	33
Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	34
Figure 16: Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012).....	34
Figure17 : Protocole de dosage des DPPH et FRAP.....	36
Figure18 : Plan expérimental d'étude.....	36
Figure 19: Rendement pour l'extrait brut aqueux de la plant <i>H.Scoparia</i>	38
Figure 20: Rendement d'extrait brut méthanoïque de la plante <i>H.Scoparia</i>	38
Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de 02 extraits	41.43
Figure 22: Valeur IC50 de 02 extraits de la plante <i>H.Scoparia</i> et de composé standard Acide Ascorbique (AA)	43
Figure 23: Courbe représentant le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de la plante <i>H. Scoparia</i>خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.	
Figure 24: Courbe représentant le pouvoir réducteur de l'extrait méthanoïque de la plante <i>H. Scoparia</i>	45
Figure 25: Pouvoirs réducteurs des extraits bruts de la plante <i>H. Scoparia</i>	45
Figure: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (test DPPH).	63
Figure : Courbe représentant le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.	63

Liste de tableaux

Tableau 01:Position systématique de <i>H. Scoparia</i> (Selon Quezel et santa (1962-1963).....	6
Tableau 02: Compositions chimiques de <i>H. Scoparia</i>	9
Tableau 03: Teneur en composé phénoliques totaux (mg EAG / ml d'extrait) d'extrait de.. la plante <i>H.Scoparia</i>	39
Tableau 04 : Teneur des Flavonoïdes (mg d'EQC / g d'extrait sec) de l'extrait de la plante <i>H.Scoparia</i>	41

Tables de matières

Dédicace.....	
Dédicace.....	
Remerciements.....	
Resumé	
Liste des figures	
Liste de tableaux	
Tables de matières.....	
Liste de abréviations.....	
Introduction	

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Études de l'espèce végétale

L'espèce saligne à balai ou <i>Hammada scoparia</i> (POMEL) Iljin:.....	6
1.1. Noms vernaculaires.....	6
1.3. Description botanique	6
1.4.Répartition géographique de la plante <i>H. scoparia</i> :	9
1.5. Phytochimie de la plante <i>H. scoparia</i> :.....	9
1.6.Propriétés et utilisations de la plante <i>Hammada Scoparia</i> :.....	10

Chapitre II : Stress oxydatif

1. Généralité.....	12
1.2.1 Espèces azotées radicalaires :	13
1.2.2 Espèces azotées non radicalaires :	13
2- Production de radicaux libres:	13
2.1 Production intra-cellulaire:	13
2.2 Production extra-cellulaire:.....	15
3.Les conséquences biologiques du stress oxydant:	15
4. Les maladies liées au stress oxydant:.....	16
5.Antioxydantes :	17
5.1 Définition :	17

5.2 Caractéristiques des antioxydantes :	17
5.3. Classification des antioxydantes:.....	17
5.3.2. Antioxydants endogènes non enzymatiques :	18
6.Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire	21
6.1 Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂ scavenging activity)	22
6.2Piégeage du radical superoxyde (O ₂ ^{•-}).....	22
6.3Piégeage du radical hydroxyle (HO [•])	22
6.4 Piégeage du radical peroxyde (ROO [•]) par la méthode de TRAP et ORAC	22
6.6. Reduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	23
6.7 Blanchissement de la bêta-carotène (β-carotene bleaching method)	24
6.8 Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) :	24

Deuxième partie : Etudes expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I .1Matériel d'étude:	28
I.1.1 Matériel végétal	28
1.2.Méthodes:	30
1.3 Dosage des polyphénols totaux:	33
1.4 Dosage des flavonoïdes totaux.....	33
I.2.4. Détermination de l'effet antioxydant <i>In vitro</i> :.....	34,34,35,36

Chapitre II : Résultats et Discussions

II.1. Rendement de l'extrait brut	38
II.2.Teneur des composés phénoliques totaux	39,40
II.3.Teneur en Flavonoïdes	40,41
II.4.Activité anti-oxydante :	42
II.4.1.Teste du piégeage du radical libre DPPH.....	42
II.4.2. Réduction du fer.....	44
Conclusion et Perspectives	47
Références bibliographiques.....	49
Annexe	62

Liste de abréviations

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif

Abs Échantillon : L'absorption à la présence de l'extrait.

ABTS : 2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]

ADN : Acide désoxyribonucléique

AlCl₃ :Chloride aluminium

BHA :butylhydroxyanisole

BHT :butylhydroxytoluène

°C : Degré celsius

Ca : Calciumm

CAT: Catalase

Cm: Centimètre

Cu⁺ : Ioncuivre

DO: Densité optique

DPPH: 2,2-phényl-1picrylhydrazyl

EDTA :Éthylènediaminetétraacétique

ERA : Espèces Réactives d'Azote

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

Fe : Fer

Fe²⁺ : Ion ferreux

Fe³⁺ : Ion ferrique

FeCl₃ : Chlorure ferrique

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power

g : Gramme

GP : gallate propylée

GSH : Glutathion (forme réduite)

GSSG: Glutathion (forme oxydée)

h : heure

H⁺: Hydrogène

H₂O : Eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO[•] : Radical hydroxyle

HO^{2•} : perhydroxyle

HOCl : acide hypochlorique

I % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 %

ITDAS : Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne

K₃Fe(CN)₆ : ferricyanure de potassium

M : Mètre

MDA : Malon-dialdéhyde

mg / ml : Milligramme par millilitre

Mg : Magnésium

mg d'EQC/g d'extrait sec : Milligramme équivalent en quercétine par gramme d'extrait sec

mg EAA/g d'extrait : Milligramme équivalent en Acide Ascorbique par gramme d'extrait

mg EAG/ g d'extrait : Milligramme équivalent en acide gallique par ml d'extrait

mg/l : Milligramme par litre

min : Minute

ml : Millilitre

mM : Millimètre

mmole/l : millimole par litre

mol⁻¹.L. s⁻¹ : mol par litre par seconde

N₂O₃ : trioxyde d'azote

Na : Sodium

Na₂CO₃ : carbonate de sodium

NAD (P): Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NBT²⁺ : Nitro-Blue Tétrazolium

nm : Nanomètre

NO : oxyde d'azote

NO• : monoxyde d'azote

O₂: Oxygène

¹O₂ : Oxygène singulet

O₂•-: Anion Superoxyde

OH• : Radical hydroxyle

ONOO- : peroxydinitrite

ORAC : oxygen radical absorbance capacity

P : Phosphore

PEB : poids de l'extrait brut (g).

pH : Potentiel hydrogène

PMV : poids de matière végétale (g).

R :rendement (%).

R• : Radical

R² : Coefficient de corrélation

RO• : Radical secondaire alkoxydes

RO^{2•} : Radical peroxyde

ROOH : peroxydes organiques

ROS : *Reactive Oxygen Species*% : Pourcentage

µg /ml : Microgramme par millilitre

Introduction

Introduction

Introduction

Durant des siècles et même des millénaires, l'Homme a utilisé les plantes pour soulager ses douleurs, guérir ses maux et panser ses blessures. Actuellement et malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent surtout dans les pays en voie de développement. En effet, parmi environ 500.000 espèces de plantes, 80.000 possèdent des propriétés médicinales. En Afrique, où les médicaments à base de plantes sont toujours utilisés par de nombreuses populations pour des soins sanitaires où le pouvoir thérapeutique des plantes était connu de façon empirique. (Bouden, 2018).

Les plantes constituent une source immense de molécules chimiques complexes (Métabolites Secondaires), largement exploités dans les industries cosmétologiques, agroalimentaires et pharmaceutiques. Parmi ces métabolites, on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols. Ces derniers et principalement les flavonoïdes sont essentiellement connus pour leurs nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles : leur actions antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobienne. (Saffidine, 2015). Les substances antioxydantes jouent un rôle important dans la prévention des maladies, et parce que certains antioxydantes synthétiques ont montré un risque potentiel pour la santé, notamment un effet cancérigène possible ; il y'a lieu de trouver de nouvelles sources d'antioxydante peu dangereuses peu coûteuses et naturelles pour les utiliser dans les aliments et les préparations pharmaceutiques et remplacer ainsi les antioxydante synthétiques. (Bouden, 2018).

Le développement de nouveaux antioxydantes d'une bonne capacité antioxydante s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydations . Dans ce but l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à caractère antioxydante, si l'on considère que ces plantes peuvent contenir des centaines , voire des milliers de métabolites secondaires . Ces derniers représentés actuellement par 100 000 substances identifiées , pourraient être utilisés dans la prévention de certain maladies (Cowan, 1999).

Dans cette étude, notre choix s'est porté sur une plante utilisée depuis longtemps, dans la pharmacopée traditionnelle, *Hammada Scoparia.*, connue sous le nom de Remth , qui est largement répandue dans la steppe Algérienne et le Sahara septentrional utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle et reconnue pour ses vertus thérapeutiques. Elle est employée pour traiter les infections des yeux, elle est également indiquée en cas d'indigestion, piqûres de scorpion, dermatoses, dorsalgie (Baker, 1996; Iwasa et al, 2001).

Le présent travail comporte :

- ✚ Un rappel de donnée botanique sur le plante testée.
- ✚ Une analyse bibliographique élargie à tous les aspects inhérents à l'activité antioxydante et stress oxydatif.
- ✚ La partie expérimentale (matériels et méthodes) . Celles-ci comprennent:
 - Préparation des(extraits aqueux des plantes et d' méthanolique) .
 - Richesse en substances naturelles à usages thérapeutiques.
 - Evaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits aqueux de plante *Hammada Scoparia* .

Introduction

-Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Hammada Scoparia* par les tests de (DPPH) et Ferric Reducing Antioxydante Power(FRAP).

✚ Résultat et discussion.

✚ Conclusion et perspectives.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Études de
l'espèce végétale

L'espèce saligne à balai ou *Hammada scoparia* (POMEL) Iljin:

Hammada Scoparia appartient à un groupe de plantes appelées les halophytes. De ce fait, ces plantes sont très riches en molécules bioactives et sont considérées comme une potentielle source de nouveaux médicaments. (Ksouri et al., 2012, Bourogaa et al., 2013). Pour ce genre d'espèces halophiles *Haloxylon* ou *Hammada*, ces molécules bioactives sont pour la plupart des composés phénoliques (Phénols simples et acides phénols, flavonoïdes, anthocyanes et tanins), saponosides, alcaloïdes et très peu de composés terpéniques.

1.1. Noms vernaculaires

Nom français : Bunge, Saligne à balai

Nom arabe : Remt, Rimth, Remth

1.2. Position systématique : (Selon Quezel et santa (1962-1963)

La position systématique des plantes de la famille des Chénopodiacees est dans la **Tableau01**

Tableau 01:Position systématique de *H .Scoparia* (Selon Quezel et santa (1962-1963).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Ordre	Caryophyllales
Famille	Chénopodiacees
Genre	<i>Hammada</i>
Espèce	<i>Hammada scoparia</i>



Figure 01: photo d'espèce végétale: *H.scoparia* (Braz; M. Hanchour et al 2018)

1.3. Description botanique

L'espèce *Hammada scoparia* (POMEL) Iljin ou Saligne à balai (*Arthrophytum scoparium* (POMEL) ILJIN ou *Haloxylon articulatum* subsp. *scoparium* (POMEL) BATT.), communément appelée *Remth*, a été décrite en 1874 par *Auguste Nicolas Pomel* dans la 2ème partie de son ouvrage *Nouveaux matériaux pour la Flore Atlantique*, sous le nom *Haloxylon scoparium*. C'est un buisson bas ne dépassant pas 50 cm de haut, à souche épaisse et tortueuse. Rameaux articulés, grêles, très nombreux, noircissant en séchant; épis floraux courts. Fruit à ailes vivement colorée, blanc jaunâtre, rose ou rouge. C'est une espèce, rencontrée en grandes colonies sur les hamadas, sols pierreux et aux pieds des collines, qui se trouve dans les régions arides et semi-arides de l'Algérie, et d'autres régions de la

Chapitre I : Études de l'espèce végétale

méditerranée, et aussi en proche orient. La Floraison est en novembre décembre (Ozenda 1991, Quezel et santa 1962-1963, Le floch 1983).

Cette espèce halophyte appartient à la famille des Chénopodiacées. C'est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 1400 espèces réparties en une centaine de genres. Les Chénopodiacées sont des plantes herbacées vivaces, rarement arbustes ou arbres, des régions tempérées et subtropicales, surtout sur des sols salés ou alcalins, comptant aussi des espèces xérophytes. Les espèces de cette famille se caractérisent par des feuilles alternées ou opposées et sans stipules. Les fleurs sont petites, parfois unisexuées, disposées soit en grappe, soit groupées à l'aisselle des feuilles. Leur calice gamosépale, parfois tubuleux à sa base, est à trois, quatre ou cinq lobes plus ou moins profonds et persistants. Leurs étamines varient d'une à cinq ; elles sont insérées soit à la base du calice, soit sous l'ovaire ; ces étamines sont opposées aux lobes du calice. L'ovaire est libre, uniloculaire, monosperme, contenant un seul ovule dressé et porté parfois sur un podosperme plus ou moins long et grêle. Le style, qui est rarement simple, est à deux, trois ou quatre divisions, terminées chacune par un stigmate subulé. Le fruit est un akène ou une petite baie. La graine se compose sous son tégument propre d'un embryon cylindrique homotrope, grêle, recourbé sur un endosperme farineux ou roulé en spirale et parfois presque sans endosperme. (Benkherara et al 2019)

Cette famille a, d'une part, beaucoup de rapports avec les Polygonacées, qui en diffèrent par la gaine stipulaire de leurs feuilles, par leur embryon non roulé en spirale et leur radicule supérieure. Elle a aussi, d'une autre part, beaucoup d'analogies avec les Amaranthacées, dont celles-ci ne diffèrent en réalité que par leur port et quelques autres caractères de peu d'importance. Les Chénopodiacées nous offre l'exemple de genres à insertion périgynique, comme les genres Beta, Blitum, Spinacia et d'autres, en plus grand nombre, qui ont l'insertion hypogynique tels que les Salsola, Camphorosma, Chenopodium, etc. (Martins et Richard, 1864). Dans la deuxième édition de son ouvrage Les Familles des Plantes à Fleurs d'Europe ;(Martin 2014) a parlé de l'absence de véritables caractères distinctifs entre les membres de la famille des Chénopodiacées et celle des Amaranthacées qui a conduit l'APG III à fusionner ces deux groupes dans une famille des Amaranthacées élargie. La présence de bétanine, en lieu et place des anthocyanosides, est une caractéristique de ce groupe. Les espèces du genre *Haloxylon*, sont des arbustes ou de petits arbres à rameaux cylindriques, souvent articulés, sans feuilles distinctes, assez proches des Anabasis par leurs caractères botanique (**Figure02**). (Benkherara et al 2019).



Figuré 02 : Photos de diverses parties de la plante de *Hammada Scoparia*

A,D,E : (Boucherit , et al 2018; Pouget 1980)

B,C: <https://www.teline.fr/fr/photos/amaranthaceae/haloxylonscoparium#>

F: <https://www.ashefaa.com/play-27279.html>

Chapitre I : Études de l'espèce végétale

1.4.Répartition géographique de la plante *H. scoparia* :

Très commun dans tout le Sahara septentrional jusqu'au Tademaït, absente au Sahara central (Ozenda, 1958, Quezel et santa, 1963). Réparties aussi dans les steppes du Turkestan, dans le désert de Syrie, dans le Sahara, etc., ces espèces ont des exigences écologiques assez voisines de celles des *Anabasis* et sont également des xérophytes-halophytes (Chehma, 2006). Ces plantes halophiles ont la capacité de croître dans des conditions de stress abiotique comme la haute salinité et la haute température. Cette capacité remarquable résulte du développement de mécanismes de défense et la synthèse de molécules conçues pour résister aux conditions extrêmes de l'environnement (Benkherara et al 2019).

1.5. Phytochimie de la plante *H. scoparia*:

La composition chimique de *H. scoparia*, a été bien étudiée, les structures des principaux métabolites secondaires ont été identifiées .C'est une plante surtout très riche en alcaloïdes et en flavonoïdes présent dans **la tableau 02** (Kaddour et al 2017).

Tableau 02:La compositions chimiques de *H. Scoparia*

Métabolites secondaires	Classe	Nom chimique	Références
Alcaloïdes	Tétrahydroisoquinolines	- Carnéguine N-methylisosalsoline	(Benkrief et al., 1989. El-shazly, 2003).
	Isoquinolines	Isosalsoline -Salsolidine -Dehydrosalsolidine	
	Indole	-Tryptamine -N- méthyltryptamine	
	Isoquinolone	N-méthylcorydaldine	
	β-carboline	2-Méthyl-1,2,3,4- tétrahydro- β- carboline	
	Flavonol triglycosides	Isorhamnetin 3-O-β -D-xylopyranosyl- (1'''→3'')-α - L-rhamnopyranosyl- (1'''→6'')- β -D-galactopyranoside Isorhamnetin 3-O-β-D-apiofuranosyl- (1'''→2'') [α -L-rhamnopyranosyl- (1'''→6'')]- β -D-galactopyranoside Isorhamnetin 3-O-α - Lrhamnopyranosyl- (1'''→2'') [α - Lrhamnopyranosyl- (1'''→6'')]-β -Dgalactopyranoside	(Ben salah et al., 2002).
Composés phénoliques	Flavone	Chrysoeriol	
	Phénol simple	Catéchol	
	Acides phenols	Acide coumarique -Acide cinnamique -Acide cafféoylquinique	
			(Chao et al 2013)

1.6. Propriétés et utilisations de la plante *Hammada Scoparia*:

A- propriétés pharmaceutiques:

Il a été prouvé que l'extrait aqueux de *H scoparia* est doué d'une activité anticancéreuse et d'un effet larvicide. Traditionnellement, il est utilisé pour les infections des yeux et comme hypoglycémiant. Il est utilisé aussi pour les piqûres de scorpion (Maiza et al., 1993; Bellakhdar, 1997; Salah et al, 2002).

B- Activité biologique

En revanche, plusieurs travaux ont été réalisés sur différents extraits de *H Scoparia*, et différentes activités biologiques ont été prouvées. Des extraits aqueux et méthanolique, administrés à des rats traités par l'éthanol, ont diminué d'une façon importante, le stress oxydative et l'altération hépatique engendrés par la toxicité de l'éthanol (Bourogaa et al, 2013 ; Bourogaa et al, 2014).

Ces activités hépato-protective et antioxydante, ont été reliées à la présence de composés phénoliques dans la plante (Bourogaa et al, 2014). De plus dans un autre travail, l'équipe de Bourogaa a aussi démontré que *H scoparia* est efficace contre les cellules leucémiques, et les molécules responsables sont les flavonols triglycosides (Bourogaa et al, 2011).

D'autre part *H scoparia* s'est révélée aussi puissante contre les mollusques, plusieurs extraits ont été testés, et leur activité molluscicide a été prouvée. Ces travaux ont aussi identifié la molécule ayant la plus importante activité, il s'agit d'un alcaloïde, le N-methylisosalsoline (Mezghani-Jarraya et al, 2009). Récemment un extrait méthanolique de *H scoparia*, a montré une activité d'inhibition de la mélanogénèse in vitro, cette activité a été attribuée au catéchol et à des dérivés tétrahydroisoquinoliniques (Chao et al, 2013).

Chapitre II

Stress oxydatif

1. Généralité

Le stress oxydatif est définie comme étant le déséquilibre entre la génération des radicaux libres et la capacité du corps à neutraliser et réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003). Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (Halliwell, 1989). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (Espèces Réactives de l'Oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices (Delattre *et al.*, 2005).

1.1 Espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species ou ROS)

On distingue deux grands groupes de molécules réactives impliquées dans le stress oxydant: les espèces radicalaires et les espèces non-radicalaires. La réactivité varie d'un radical à un autre et dépend de l'environnement où ils se trouvent. Leurs constantes de vitesse réactionnelle sont très élevées de l'ordre de 10^5 à 10^{10} mol⁻¹.L .s⁻¹ (Delattre *et al.*, 2005).

1.1.1 ERO radicalaires :

L'anion radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est le résultat de l'apport d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène (**Figure: 03**). Malgré une réactivité moyenne, ce radical a quelques cibles privilégiées telles que le cytochrome c (Fe^{3+}), l'ascorbate et surtout la superoxyde dismutase. Plus réactif que le précédent, le radical perhydroxyle $HO_2^{\bullet}$ est obtenu après protonation de ce dernier à pH inférieur à 4,8. La réduction mono électronique du H_2O_2 donne naissance au radical $HO^{\bullet}$ et à l'anion basique non radicalaire OH^- en présence d'un catalyseur, le Fe^{2+} (réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^{\bullet} + Fe^{3+} + OH^-$). Cette espèce chimique particulièrement réactive joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et la destruction du matériel génétique (Hannebelle, 2006).

Le radical peroxyde $RO_2^{\bullet}$ est un radical secondaire issu de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le radical $R^{\bullet}$. Sa réactivité se situe entre l'anion radical superoxyde et le radical hydroxyle. Le radical secondaire alkoxydes $RO^{\bullet}$ est produit suite à la décomposition de l'hydroperoxyde RO_2H , issu de l'oxydation du substrat RH (Droge, 2016).

1.1.2 ERO non radicalaires : L'oxygène singulet 1O_2 , qui est la forme diamagnétique de l'oxygène, est produit en présence de rayonnement UV ou par les leucocytes. Bien qu'il ne soit pas un radical, il joue un rôle dans le vieillissement cutané et certaines maladies liées à l'âge (Choe et Min, 2005). Le H_2O_2 peroxyde d'hydrogène est également toxique, en particulier à cause de sa transformation en radical hydroxyle en présence de cations métalliques Fe^{2+} et Cu^+ , lors de réactions de type « Fenton » (Wardman et Candeias, 1996). La myéloperoxydase convertit le peroxyde d'hydrogène en acide hypochlorique ($HOCl$) à des concentrations physiologiques. Ce dernier peut réagir avec les fonctions amines des protéines pour former des chloramines (**Figure 03**) (Martinez, 2004)

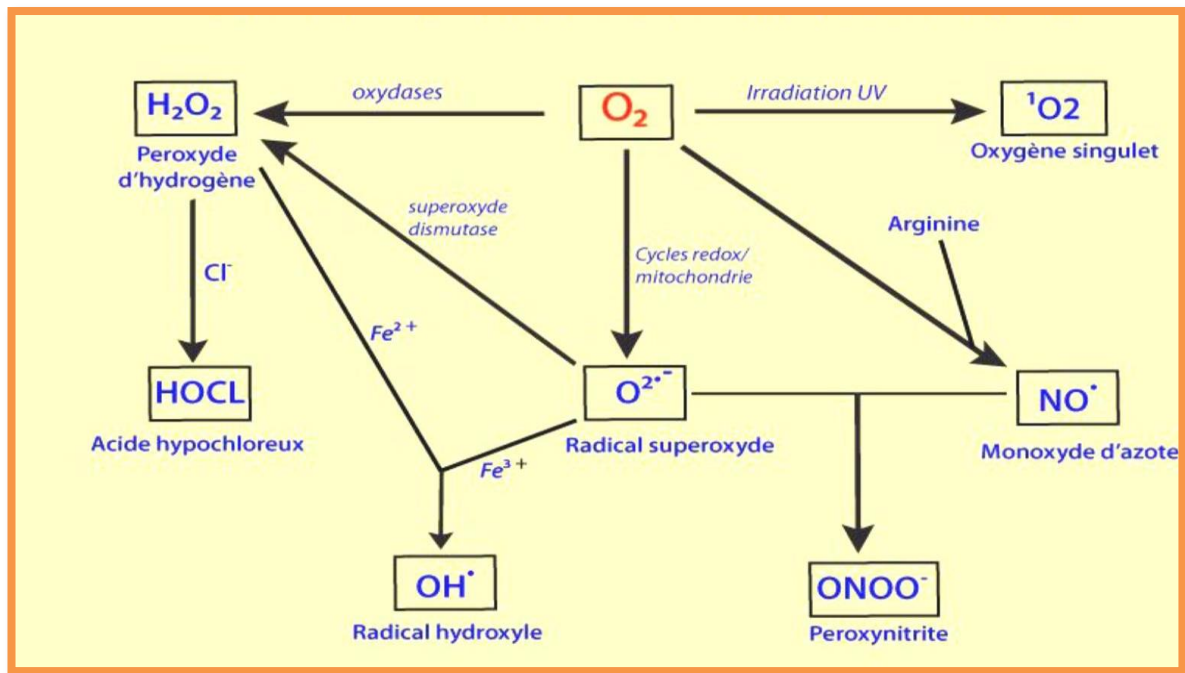


Figure 3: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

1.2 Espèces azotées réactives

1.2.1 Espèces azotées radicalaires :

Le monoxyde d'azote ($NO^\bullet$) a pris une place considérable en biologie. Malgré son rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant en limitant la lipoperoxydation et ses effets anti-inflammatoires, il est paradoxalement impliqué dans de nombreuses pathologies telles que le diabète, l'athérosclérose, le cancer et les lésions neuronales dégénératives. (Droge, 2016) .

1.2.2 Espèces azotées non radicalaires :

Caractérisé par sa grande faculté de diffusion dans les membranes cellulaires et sa réactivité moyenne (de l'ordre de quelques secondes *in vivo*), le monoxyde d'azote radicalaire peut aisément réagir avec la plupart des espèces oxygénées et se transformer en dioxyde d'azote (NO_2) lequel peut donner du trioxyde d'azote (N_2O_3) pour enfin aboutir à un ion nitrate stable (NO_2^-). De plus, le monoxyde d'azote forme avec l'ion superoxyde le peroxynitrite ($ONOO^-$) moins réactif que son précurseur azoté, mais responsable de l'oxydation de nombreuses biomolécules (protéines, lipides et acides nucléiques), (Droge, 2016) .

2- Production de radicaux libres:

2.1 Production intra-cellulaire:

La production des EOR dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles (**Figure 04**) mais est essentiellement d'origine enzymatique. Il s'agit principalement de la NAD(P) H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire. (Mazat et Ransac, 2010).

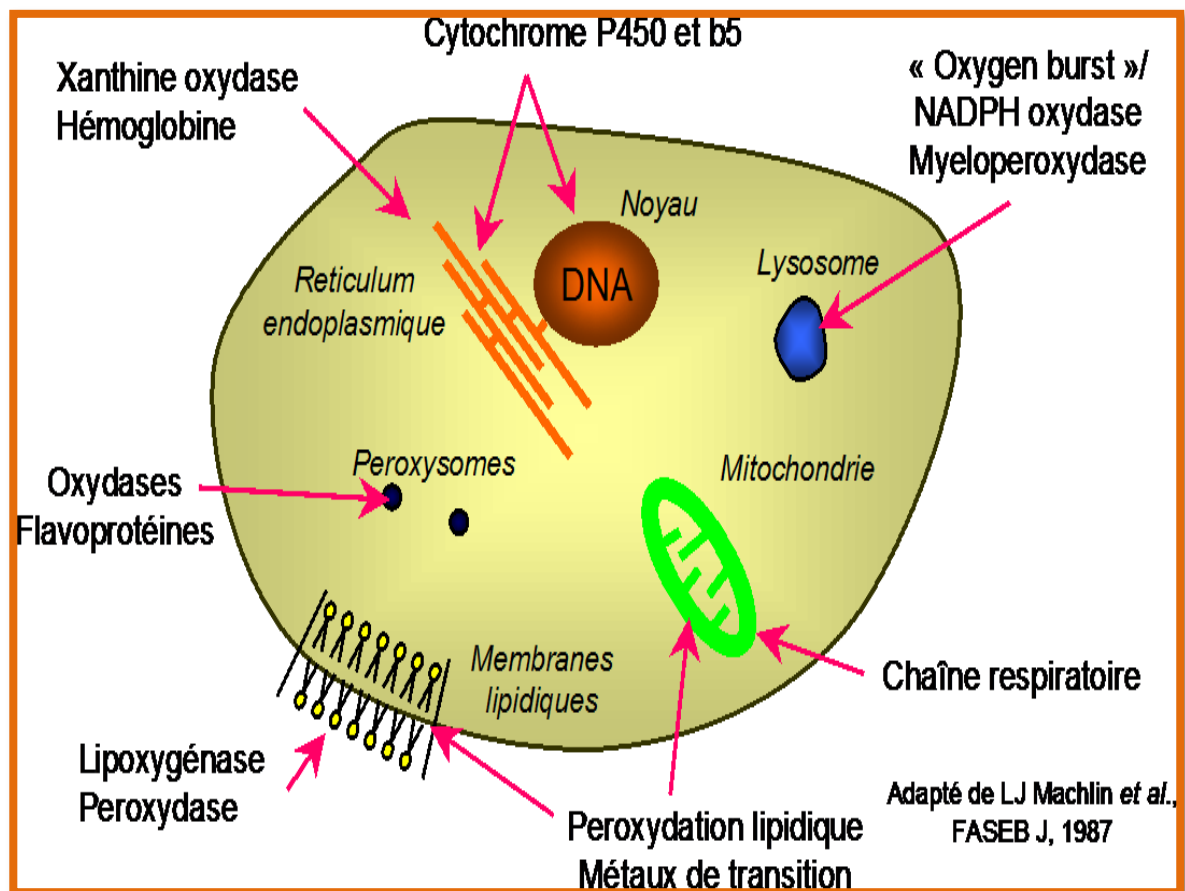


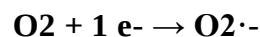
Figure 04 : Sites de production intracellulaire des ERO (Moure *et al.*, 2001).

La NAD(P)H oxydase est une enzyme membranaire qui catalyse la réduction de l'oxygène selon : $\text{NAD(P)H} + 2 \text{O}_2 \rightarrow \text{NAD(P)}^+ + \text{H}^+ + 2 \text{O}_2^{\cdot-}$

Les cytochromes P450, accepteurs terminaux d'électrons du complexe (IV) de la chaîne de transport des électrons, situés dans la membrane mitochondriale, catalysent la réaction :



Cette chaîne de transport laisse fuir une certaine proportion d'électrons, environ 2 %, qui vont réduire partiellement l'oxygène pour aboutir à la formation du radical superoxyde :



Compte tenu de l'intense activité de la chaîne respiratoire dans les organismes aérobies, cette fuite d'électrons semble devancer les activités de la NAD(P)H. De plus, dans les mitochondries, l'oxydation de coenzymes, telles que les flavoprotéines réduites, s'accompagne d'une perte de protons et d'électrons qui, par l'intermédiaire de la chaîne de transport, sont ensuite transférés à l' O_2 . La chaîne de transport des électrons est composée de nombreuses espèces moléculaires et ioniques (les flavoprotéines, plusieurs cytochromes etc...). D'autres sources peuvent également jouer un rôle dans la production de radicaux comme la xanthine oxydase qui réduit l'oxygène moléculaire en ion superoxyde, les peroxysomes qui possèdent plusieurs enzymes sources de peroxyde d'hydrogène et les lipo-oxygénases, enzymes de la voie de l'acide arachidonique qui permettent notamment la synthèse des prostaglandines, oxydent les acides gras pour donner des hydroperoxydes

Chapitre II : Stress oxydatif

d'acide gras insaturés (Delattre *et al.*, 2005).

Par ailleurs, au cours de la défense antibactérienne, les cellules phagocytaires activées par une réaction inflammatoire vont produire un grand nombre d'ERO. De plus, il y a production massive d'anion superoxyde par le mécanisme leucocytaire. C'est la flambée respiratoire. Les NO synthases, à l'origine du radical NO•, peuvent, sous certaines conditions, produire également des anions superoxydes (Delattre *et al.*, 2005; Valko *et al.*, 2006).

2.2 Production extra-cellulaire:

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme. Ces facteurs environnementaux incluant des agents cancérogènes non-génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres (Xénobiotiques, Activation des leucocytes...). Les rayonnements UV induisent la synthèse de O₂•-, OH•, ¹O₂ et d'H₂O₂ l'intermédiaire d'agents photosensibilisants (Martinez, 2004).

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂) présents dans notre mode de vie (Tabagisme, Radiations ionisantes, Champs électriques, Polluants industriels...), ainsi qu'une alimentation « chimiquée » (Raffinée, Riche en graisses saturées et en sucre, Consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (Mena *et al.*, 2009).

3. Les conséquences biologiques du stress oxydant:

seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression (**Figure 05**).

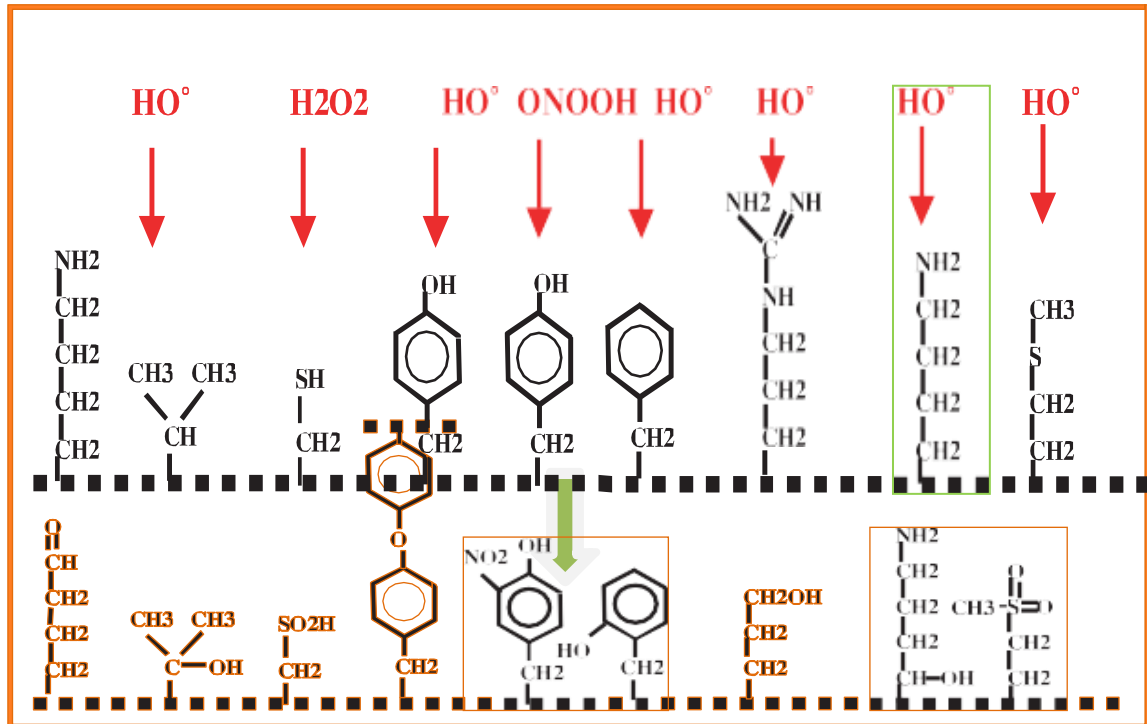


Figure 05 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire. (Favier, 2003)

4. Les maladies liées au stress oxydant:

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier 2003).

5. Antioxydantes :

5.1 Définition :

Les antioxydantes sont définies comme étant toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire (Durackova., 2008).

Ils sont fonction des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes,...) qui fournissent des antioxydantes exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydantes endogènes (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique,...).

La plupart des antioxydantes peuvent être divisés en 2 groupes, hydrophobes ou hydrophiles. Les hydrophobes constitués par les vitamines A, E, les flavonoïdes, l'ubiquinol (Coenzyme Q10), la bilirubine, la mélatonine, qui agissent essentiellement sur la protection des milieux lipidiques. Les hydrophiles comme les glutathions, l'acide urique, la vitamine C, les thiols, les protéoglycans, l'acide hyaluronique qui protègent contre l'oxydation des lipides, des protéines, des sucres, et de l'ADN dans les milieux liquides comme le sang, les liquides interstitiels et le cytosol (Halliwell, 1991, Wolinsky, 1998 ; Koolman et *al.*, 1999 ; Benitez et *al.*, 2002; Vergani et *al.*, 2004; Sayre et *al.*, 2008 ; Kirschvink et *al.*, 2008; Browne et *al.*, 2008).

5.2 Caractéristiques des antioxydantes :

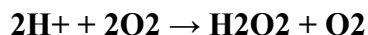
Un composé est considéré antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes (Ursini et *al.*, 1999 ; Durackova et *al.*, 2008)

1. Il doit réagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène qui sont biologiquement toxiques.
2. Le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme que le métabolite éliminé.
3. L'antioxydant potentiel doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante.
4. La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

5.3. Classification des antioxydantes:

5.3.1 Antioxydantes endogènes enzymatiques

Superoxyde Dismutase (SOD) : Les superoxydes dismutases ou SOD sont des antioxydantes enzymatiques ubiquitaires. Ces métalloprotéines représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Haleng et *al.*, 2007) :



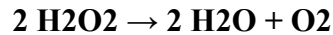
Elles sont présentes dans la majorité des organismes vivants et chez les eucaryotes. Il existe plusieurs superoxydes dismutases (SOD) qui diffèrent par leur cofacteur (Manganèse, Cuivre ou Zinc), leur structure et leur localisation cellulaire (Redler et *al.*, 2012 ; Behrend et *al.*, 2003).

5.3.1.1 Catalase (CAT) : La catalase est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde, d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques (Niki et *al.*, 2007). Elle est localisée principalement dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex ; érythrocytes) (Lindau et

Chapitre II : Stress oxydatif

Shaffer, 1993).

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



La Catalase est formée de quatre sous-unités, chaque sous-unité comporte un groupement ferriprotoporphyrine dans son site actif avec un atome de Fer à l'état Fe^{3+} et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l' H_2O_2 (Delattre *et al.*, 2005).

5.3.1.2 Glutathion peroxydase : Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Figure 06**) (Valko *et al.*, 2006).

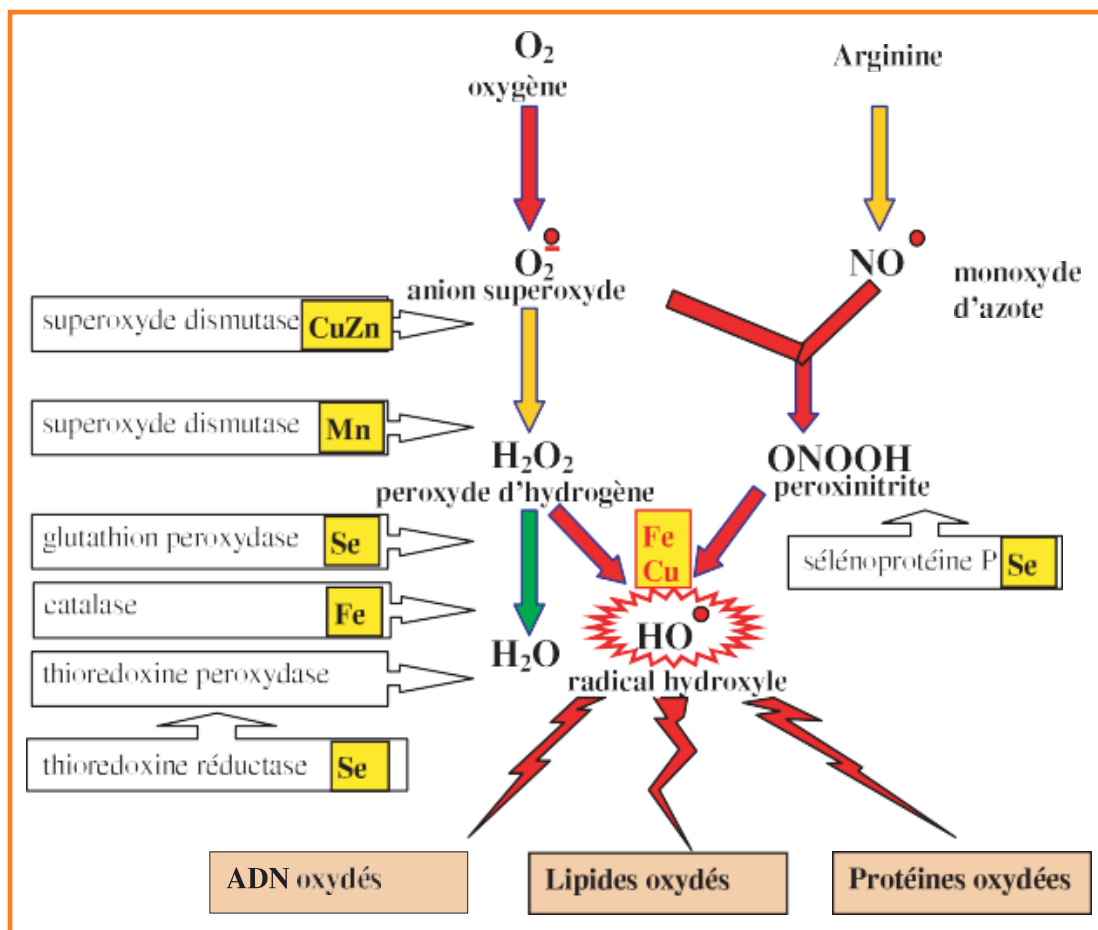
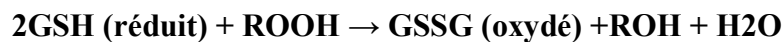
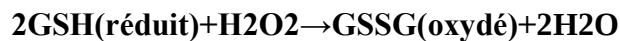


Figure 06 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier2003).

5.3.2. Antioxydantes endogènes non enzymatiques :

5.3.2.1 Glutathion : Le glutathion est un tripeptide (γ -glutamyl-cystéinyglycine) ubiquitaire produit dans différents tissus où il est présent à des concentrations de l'ordre de 1 à 10 mM

Chapitre II : Stress oxydatif

chez les mammifères. Il est présent dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries) soit sous sa forme réduite (GSH) à une concentration intracellulaire de 0,1 à 1 mM, soit sous sa forme oxydée (GSSG) à des concentrations dix fois moins importantes. Un rapport GSH/GSSG élevé est essentiel pour assurer une protection contre le stress oxydant (Valko *et al.* 2006).

5.3.2.2 Acide urique : Le tissu humain ne possède pas l'enzyme nécessaire à la dégradation de l'acide urique en allantoiné, c'est-à-dire l'urate oxydase : en conséquence, l'acide urique s'accumule comme produit final de catabolisme des purines, et est présent en quantité importante dans le plasma humain avant d'être éliminé par voie rénale. La perte de cette enzyme au cours de l'évolution pourrait avoir des effets bénéfiques puis qu'il a été démontré que l'acide urique possédait des propriétés antioxydantes (Lacolley *et al.*, 2007). A un pH physiologique l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux ($\text{OH}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{NOO}\cdot$...) (Haleng *et al.*, 2007). L'acide urique, présent sous forme urate à pH physiologique, possède des propriétés antioxydantes contre les $\text{HO}\cdot$ et $\text{RO}_2\cdot$, tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine (Delattre *et al.*, 2005).

5.3.2.3 Bilirubine : La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxy, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Algeciras-Schimmich *et al.*, 2007). La bilirubine est oxydée par certaines espèces recyclée par la biliverdine réductase (Halliwell et Gutteridge, 2007).

5.3.2.4 Acide lipoïque : C'est un antioxydant puissant qui peut régénérer d'autres antioxydants tels que les vitamines C et E (David, 2015). Il est capable de piéger le $\text{HO}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{HOCl}\cdot$ et IO_2 (Packer *et al.*, 2001), de chélater les métaux lourds, réduit la glycation et intervient dans la réparation de l'ADN. Il existe sous forme oxydée et sous forme réduite. Produit en petite quantité par le foie, il se trouve également dans certains aliments (la levure, la viande de bœuf, l'épinard, le brocoli...) (Medart, 2009).

5.3.2.5 Coenzyme Q : Le coenzyme Q est un composé hydrophobe qui se situe dans les membranes cellulaires. Il appartient à la chaîne de respiration mitochondriale et permet le transport d'électrons des complexes I et II vers le complexe III. Il est également présent dans les lipoprotéines où il a un effet antioxydant : il inhibe la peroxydation lipidique en piégeant les radicaux peroxy. Son effet anti-oxydant s'exerce aussi au niveau de l'ADN et des protéines, étant donné que le coenzyme Q est le seul antioxydant liposoluble endogène (Bentinger *et al.*, 2010).

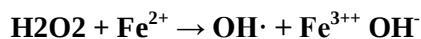
5.3.3. Les antioxydants exogènes

5.3.3.1 Vitamine C : La vitamine C ou acide ascorbique est hydrosoluble et considérée comme étant l'antioxydant naturel le plus puissant. Les aliments ayant la plus grande teneur en vitamine C sont les agrumes, les kiwis et les légumes (brocolis, chou-fleur). Présentée sous sa forme ascorbate, elle piège les radicaux peroxy en phase aqueuse avant qu'ils initient la réaction de peroxydation lipidique protégeant ainsi les membranes et les lipoprotéines. La vitamine C peut avoir un effet pro-oxydant et ainsi se lier avec des ions métalliques, dont

Chapitre II : Stress oxydatif

les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Leopoldini *et al.*, 2011).

5.3.3.5 Oligoéléments : Les oligoéléments ou les éléments-trace (zinc, sélénium, Fe³⁺ pour le réduire en Fe²⁺ qui pourra ensuite catalyser différentes réactions dont celle de Fenton (Gulcin, 2012) :



5.3.3.2 Vitamine E : La vitamine E est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (ensemble de 8 molécules dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols,).

Ce sont de bons antioxydants alimentaires. Elles préviennent l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO• (Packer, 2015). De plus, il faut noter que la vitamine C associée à la vitamine E régénère la forme réduite de l'α-tocophérol par une réaction de transfert d'hydrogène.

5.3.3.3 β carotène : Le β carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés anti oxydantes. Le β-carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles HO• et peroxydes ROO• et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet ¹O₂. En outre le β-carotène, tout comme l'α-carotène et β-cryptoxanthine, sont des caroténoïdes précurseurs de la vitamine A (ou rétinol) chez l'homme, de sorte que le β-carotène est une provitamine A (Beaubeux et Genevieve, 2011).

5.3.3.4 Polyphénol : Les composés phénoliques, et en particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisés par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » cuivre, manganèse) constituent des cofacteurs nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (**Figure 07**). D'autres constituants de l'alimentation, comme les vitamines du groupe B, le chrome ou le magnésium agissent comme des antioxydants indirects via la régulation de l'homocystéinémie (vitamines du groupe B), l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (chrome) ou la lutte contre l'inflammation (magnésium). La synthèse du glutathion, un des antioxydants le plus important de l'organisme, dépend fortement de l'apport nutritionnel en acides aminés tels que la méthionine (R, 2009).

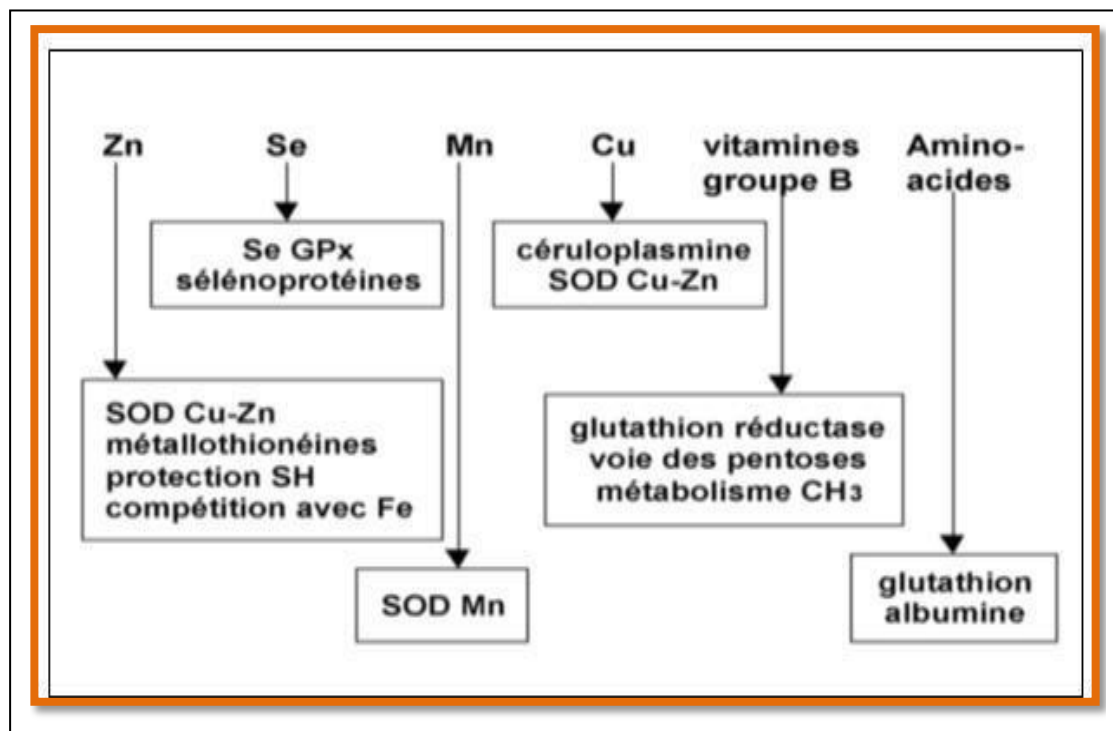


Figure 07 : Oligoéléments nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (Roussel, 2009).

5.3.3.6 Sélénium : Sélénium est un élément minéral essentiel contenu à l'état de traces dans l'organisme. Il se présente sous diverses formes chimiques dans l'alimentation. Il est activement métabolisé puis incorporé de manière originale (Roberfroid *et al.*, 2008). Le sélénium agit comme un cofacteur enzymatique de la glutathion peroxydase. Dans l'alimentation le sélénium organique se trouve essentiellement lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx. Les aliments riches en sélénium sont notamment, les noix de Brésil, les brocolis, l'ail...etc. (Haleng *et al.*, 2007).

5.3.4 Antioxydantes synthétiques:

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydantes synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydantes naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution des sources naturelles comme antioxydantes de la nourriture (Lisu *et al.*, 2003).

6.Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire:

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple : FRAP (Ferric reducing antioxidant power), ORAC (oxygen radical absorbance capacity), TEAC

(Trolox équivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2-azinobis 3 ethylbenzothiazoline 6-sulphonate) et DPPH⁺ (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) etc. Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (Georgeva *et al.*, 2010).

6.1 Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piègeurs, l'absorbance de ce dernier à 230 nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (Malgalhaes *et al.*, 2008).

6.2 Piégeage du radical superoxyde (O₂^{•-})

Cet essai évalue la capacité d'un produit à capter un radical libre, l'anion superoxyde O₂^{•-} ce radical est généré in vitro par le système hypoxanthine / xanthine oxydase. Dans cette méthode, le radical réduit le NBT²⁺ (Nitro-Blue Tétrazolium) de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur pourpre qui absorbe à 560 nm. Ainsi un composé antioxydant capable de capter l'anion superoxyde empêchera la formation du bleu de formazan et la solution restera jaune. Les absorbances obtenues permettent de calculer un pourcentage d'inhibition de la réduction du NBT²⁺ par rapport à un témoin constitué du milieu réactionnel dépourvu de composé antioxydant. On peut ensuite tracer une courbe représentant le logarithme du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de composé testé, et déterminer la IC₅₀ (concentration inhibant 50% de l'activité) du composé (Parejo *et al.*, 2002).

6.3 Piégeage du radical hydroxyle (HO•)

La capacité des substances à piéger le radical hydroxyle est souvent évaluée par le pourcentage d'inhibition de la réaction du radical OH• avec une molécule détectrice. (Clement *et* Armstrong , 1972). Les molécules détectrices utilisées dans la littérature, sont nombreuses. On peut citer le désoxyribose (Halliwell *et al.*, 1987), la dopamine (Slivka *et* Cohen , 1985), la thymine (Hicks *et* Gebisk , 1986), la 4- nitrosodiméthylaniline (Kraljic *et* Yrumbore, 1965), etc.. Le radical hydroxyle est produit par réaction entre le fer (Fe²⁺/EDTA) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence d'acide ascorbique. Le désoxyribose, par action du radical hydroxyle, va être dégradé en malon-dialdéhyde (MDA) (Cheeseman *et al.*, 1988) dont l'apparition est suivie par réaction avec l'acide thiobarbiturique (TBA). Le produit ainsi formé est détectable par une mesure d'absorbance à 532 nm. La capture du radical (HO•) par la substance à étudier, se fait par compétition avec le désoxyribose. Ainsi une diminution de la quantité du chromogène formé est observée se traduisant par une diminution de l'absorbance (Read *et* Randat, 1988).

6.4 Piégeage du radical peroxyde (ROO•) par la méthode de TRAP et ORAC

La mesure de l'activité antiradicalaire par ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity) développée par Cao *et al.*, (1993) est une méthode simple et reproductible permettant

Chapitre II : Stress oxydatif

d'évaluer la capacité antioxydante de différentes molécules. La β -PE (β Phycocérythrine) est une protéine fluorescente extrêmement sensible au stress oxydatif. En présence d'AAPH [(2,2'-azobis (2-amidinopropane) dichloride)], qui est un donneur du radical peroxy, la structure tétramérique de la β -PE est modifiée, elle se dimérise. Cette dimérisation dépendante de la concentration en radicaux peroxydes du milieu réactionnel. Et peut être suivie en mesurant la décroissance de la fluorescence de la β -PE en fonction du temps. Cette cinétique de décroissance de la fluorescence, est directement reliée à la concentration de radicaux libres présents dans le volume réactionnel. Dans le test TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Potential), l'AAPH est solubilisé en milieu aqueux avec l'antioxydant et un indicateur qui devient luminescent lorsqu'il est oxydé à 37°C, comme le luminol. La capacité des antioxydants à bloquer l'oxydation de l'indicateur est comparée à celle du Trolox (témoin) (Schlesier *et al.*, 2002).

6.5. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) (**Figure 08**) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams *et al.*, 1995). La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits (Molyneux, 2004).

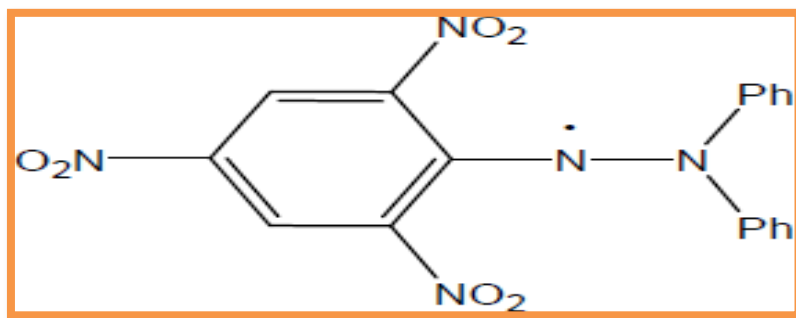


Figure 08: Structure du radical stable DPPH° (Molyneux, 2004).

6.6. Réduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Comme son nom l'indique, cette technique a été développée pour mesurer la capacité du plasma à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. Le Fe^{2+} à un pH faible forme un complexe avec la 2,4,6-tris(2 pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) de couleur bleue qui a une absorption maximale à 594 nm. Ainsi, la formation de ce complexe indiquera un pouvoir réducteur qui détermine la capacité d'un composé à se comporter comme un antioxydant. Les valeurs sont obtenues sont comparées avec l'absorbance d'un témoin qui est l'acide ascorbique usuellement (Benzieet et Strain, 1996 ; Pulido *et al.*, 2000).

6.7. Blanchissement de la bêta-carotène (β -carotene bleaching method)

Cette technique spectrophotométrique développée par (Marco , 1968), puis légèrement modifiée par (Miller , 1971). Consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs (Von gadow et al., 1997) ou sous forme d'extraits végétaux (Moure et al., 2000 ; Koleva et al., 2001) induit un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple. Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à la chromatographie sur couche mince (Prrat et Miller , 1984). Après séparation chromatographique, un mélange de β -carotène et d'acide linoléique est pulvérisé sur la plaque, celle-ci étant alors exposée plusieurs heures à la lumière du jour ou aux UV jusqu'à décoloration du fond jaune. Les bandes où la couleur jaune persiste, indiquent la présence de substances antioxydantes. Cependant, l'oxydation induite par voie thermique est non contrôlée et donc non spécifique, ce qui conduit bien souvent à une variabilité des résultats. Pour contourner ce problème, certains auteurs ont remplacé la chaleur par des agents oxydants conduisant à des résultats plus reproductibles, comme la lipoxygénase de soja (Chailou et Nazareno , 2006). Cette méthode est sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du β -carotène. Frankel , (1998) a également critiqué l'utilisation d'acides gras libres qui ne représentent pas des modèles lipidiques réalistes. Enfin, l'interprétation des données n'est pas aisée car le β -carotène est lui-même un antioxydant, sensible à l'oxygène.

Cependant, l'oxydation induite par voie thermique est non contrôlée et donc non spécifique, ce qui conduit bien souvent à une variabilité des résultats. Pour contourner ce problème, certains auteurs ont remplacé la chaleur par des agents oxydants conduisant à des résultats plus reproductibles, comme la lipoxygénase de soja (Chailou et Nazareno , 2006). Cette méthode est sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du β -carotène. Frankel , (1998) a également critiqué l'utilisation d'acides gras libres qui ne représentent pas des modèles lipidiques réalistes. Enfin, l'interprétation des données n'est pas aisée car le β -carotène est lui-même un antioxydant, sensible à l'oxygène.

6.8 Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis-[3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) :

Dans la méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS $\bullet$ (Figure 11), obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox® (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2- carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte en contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation. Le radical ABTS $\bullet$, en contact avec un donneur de H $\bullet$ conduit à l'ABTS+ et à la décoloration à 734 nm de la solution (Lien et al., 1999).

D'autres auteurs utilisent l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ou ABTS $\bullet$, à la place de son sel d'ammonium et analysent l'inhibition du radical ABTS $\bullet$. La cinétique de réaction de l'antioxydant étudié doit être examinée préalablement pour

Chapitre II : Stress oxydatif

déterminer la fin de réaction. La capacité antioxydante en équivalent Trolox® (TEAC) correspond à la concentration (m mole/l ou mg/l) de Trolox® ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester, jus de fruit par exemple comme da la **Figure 09** (Miller et Evans , 1997).

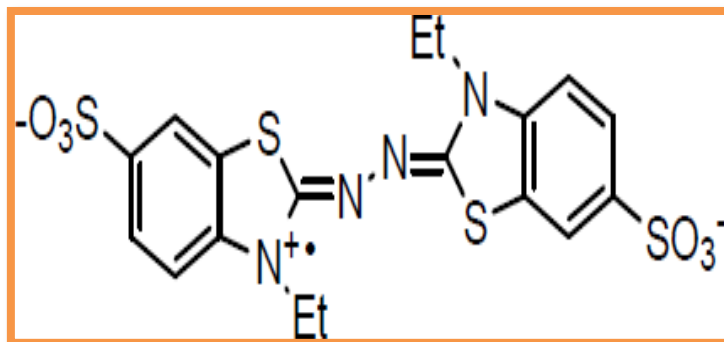


Figure 09: Structure du radical-cation ABTS•+ (Miller et Evans , 1997).

Deuxième partie

*Etudes
expérimentale*

Chapitre I

*Matériel et
Méthodes*

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I .1Matériel d'étude:

I.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est présenté par une espèce végétale halophile *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin. Cette espèce appartient à la famille des Chénopodiacées, sa taxonomie, sa phytochimie, son activité et toutes les données qui la concernent ont été signalées précédemment.

Toute la partie aérienne (tiges et feuilles) a été choisie pour la réalisation des expérimentations puisque c'est à son niveau que se trouve la majorité des substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire.

- La préparation du matériel végétal a été effectuée selon les méthodes suivantes:
 - 1) **La récolte** : Les plantes prélevées tôt le matin et au moment du débourrement sont placées dans des sacs en tissus puis transportées immédiatement pour le séchage et d'analyse.
 - 2) **Le séchage** : Les feuilles et les tiges sont soumises à un rinçage à l'eau du robinet pour éliminer les impuretés puis étendues en couches minces, à l'abri de la lumière et bonne aération .
 - 3) **Le broyage** : Une fois sèches les tiges sont soumises à un broyage puis placées dans des sacs en papier opaque jusqu'au début de l'expé (figure 10).



Figure 10 : Photo de La plante *Hammada Scoparia* après Le séchage.

I.1.2. Site de prélèvement :

Les échantillons de la plante ont été prélevés au niveau de la région de Sidi Khaled (**Figure 12**) située à 34° 22' 60.00'' Nord et 5° 0' 0.00'' Est. Le site fait partie de la wilaya de Biskra au Sud Est algérien (**Figure 11**). Ces échantillons ont été déposés, séchés et broyés pour la réalisation de notre étude.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Au niveau de site de prélèvement l'analyse des températures moyennes relatives montre que les températures maximales s'observent en été au mois de Juillet pouvant atteindre 48 à 50°C et les températures minimales au mois de Janvier et Février. De l'année 2000 jusqu'à ce jour, des faibles précipitations ont été enregistrées avec un cumul annuel maximal de 286 mm en 2004 (56.0 mm comme un maximum en 24 heures de précipitation et 78.0 mm comme un maximum en cinq jours de précipitation ont été enregistrées durant le mois de mars de la même année) (Station Météorologique de Biskra, indicatifs : 60525, DAUB).



Figure 11: Situation géographique de la wilaya de Biskra dans l'Algérie (Dsa .,2018)

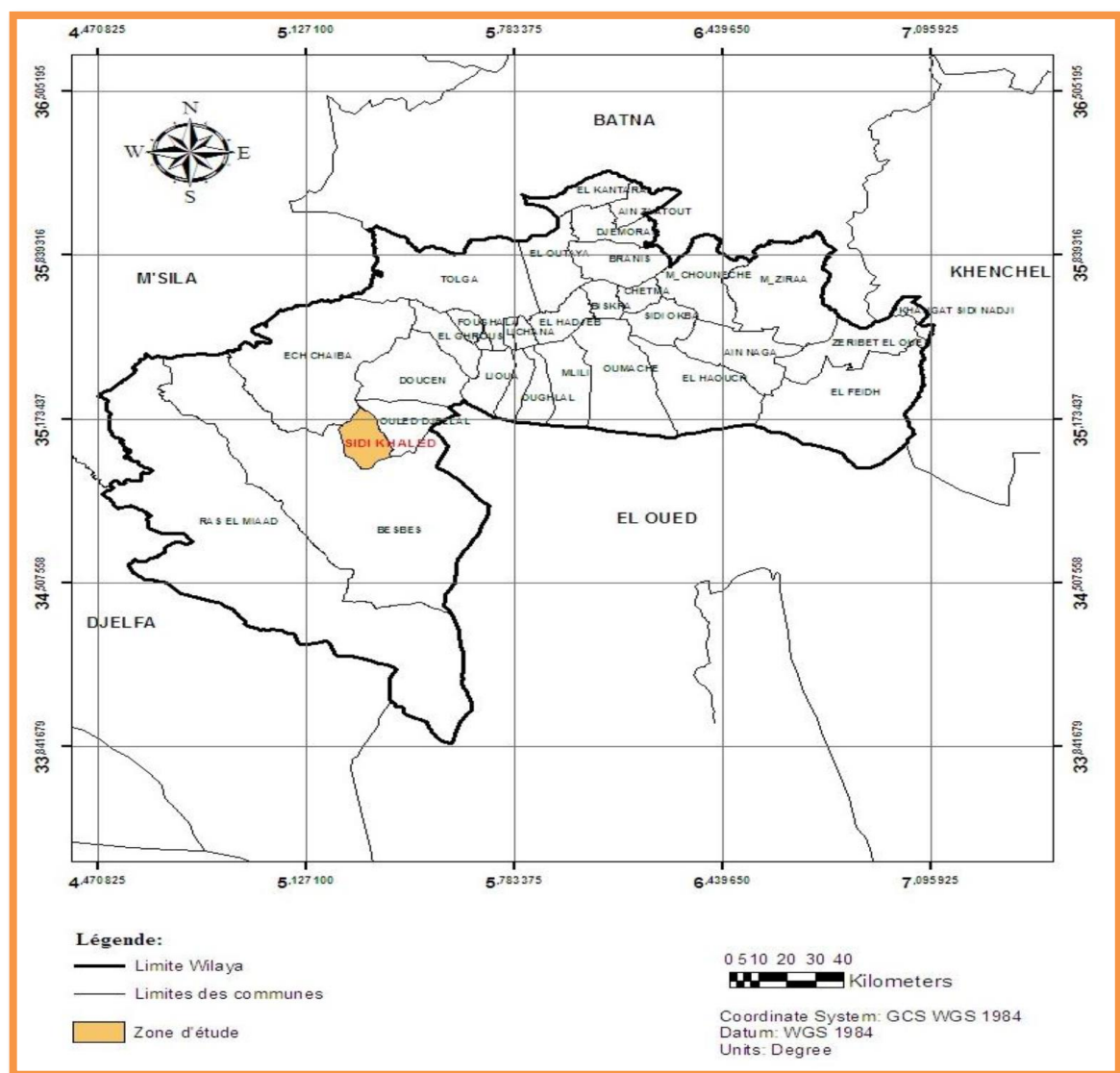


Figure 12: Localisation géographique de la zone d'étude (Daïra de Sidi Khaled, Wilaya de Biskra). (<http://decoupageadministratifalgerie.blogspot.com>).

1.2.Méthodes:

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.2.1. Préparation des extraits de *Hammada Scoparia*:

I.2.1.1. Préparation de l'extrait brut:

On trempe 100 g de la plante *Hammada Scoparia* séchée dans 500 ml d'eau distillée et la même quantité trempe dans le Méthanol pendant une durée de 24h , ensuite on procède à la filtration en utilisant du papier filtre pour obtenir notre extrait qui a été concentré dans un Evaporateur rotatif (buchi) sous pression réduite à une température de 40 °C. Enfin, nous le mettons dans l'étuve (Memmert) à température 45°C°.

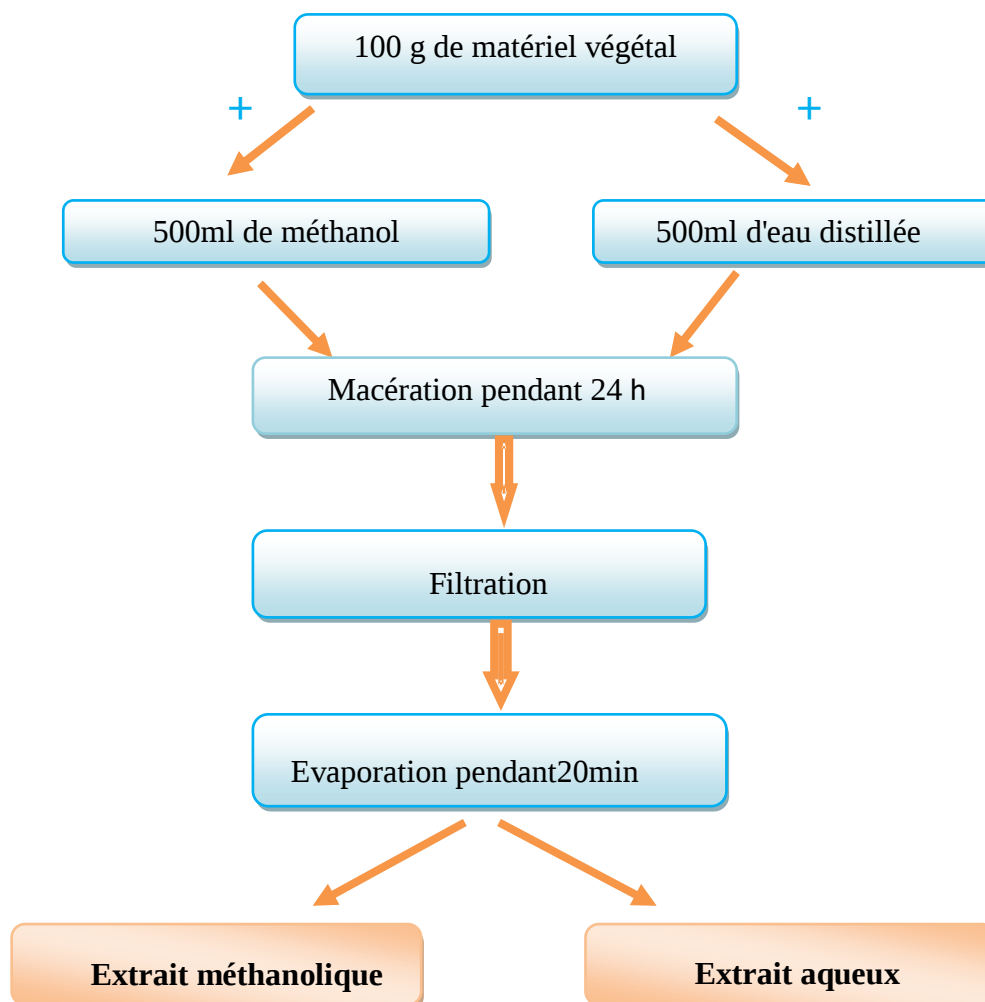


Figure13: Protocole de préparation de l'extrait aqueux et méthanolique .

I.2.2 Détermination de rendement d'extraction:

Les rendements de deux extraits obtenus à partir de la plante *Hammada Scoparia* qui ont été calculés selon la formule suivante : (Chniti, 2015)

$$(R \%) = \text{PEB/PMV} \times 100 R.$$

Chapitre I : Matériel et Méthodes

R: est le rendement en %.

PEB: Poids de l'Extrait Brut (g).

PMV: Poids de matière végétale (g) (Truong *et al.*, 2019).

1.3 Dosage des polyphénols totaux:

*L'analyse quantitative de phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par le protocole suivant, pour 125 µL de l'extrait végétal ajouter 500 µL d'eau distillée, la solution a été introduite à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis d'addition de 125 µL du réactif de Folin- Ciocalteu (FCR) agressent forte. Après 5min ,1250 µL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 7,5 g/l sont ajoutés pour favoriser un milieu pour déclencher la réaction d'oxydo-réduction ensuite complété par l'eau distillée jusqu'à un 03 ml ensuite le mélange réactionnel agité est maintenu à l'obscurité et incubé pendant 2h à température ambiante. L'absorbance de chaque solution est déterminée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. (Slinkard et Singleton 1977).

*Une courbe d'étalonnage standard (**Figure14**) a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (50 -100 – 150 -200µg/ ml), réalisée par même procédure du dosage, toutes les mesures sont répétées 03 fois.

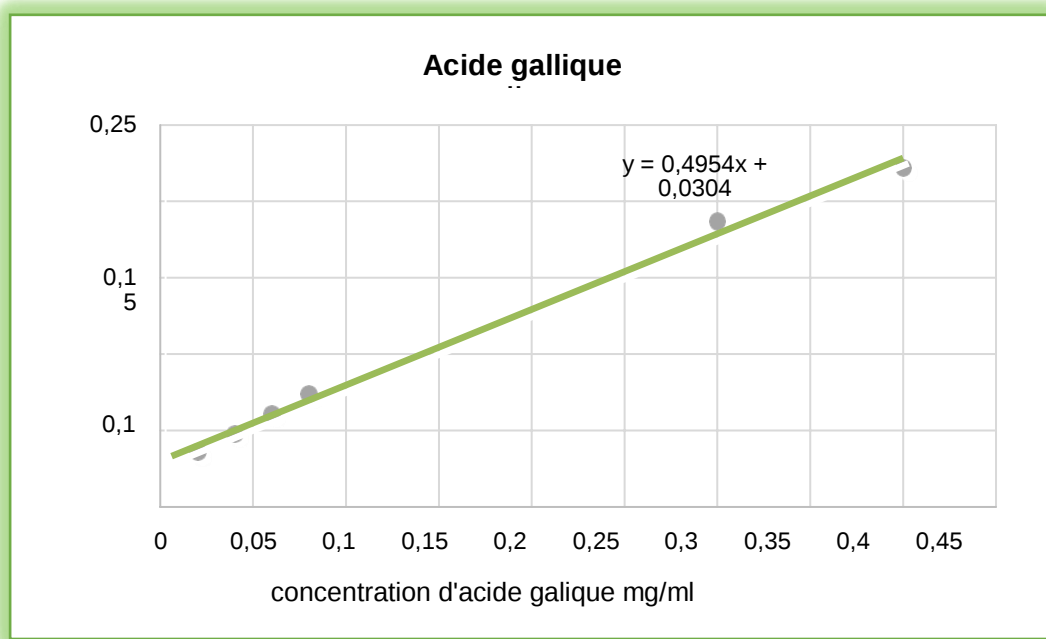


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

1.4 Dosage des flavonoïdes totaux

Une quantité de 1 ml de chaque échantillon et de standard (préparée dans le méthanol) est ajoutée à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2 % dissous au méthanol). Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée par rapport au blanc préparé de réactif au $\lambda_{\text{max}} = 430$ nanomètres (Ahn et al 2007). Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la gamme de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (**Figure15**) . Réalisée par même procédure du dosage, toutes les mesures sont répétées 03 fois, les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine / g d'extrait.

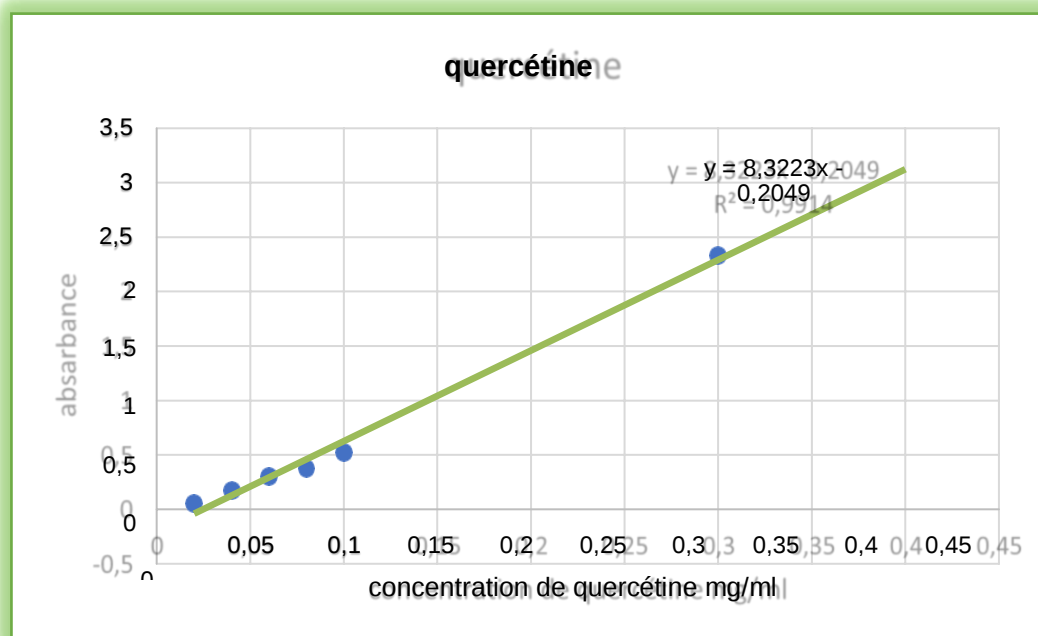


Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

I.2.4. Détermination de l'effet antioxydant *In vitro* :

I.2.4.1. Test du piégeage du radical libre (DPPH):

- **Principe du test:**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•]) possède un électron non apparié sur un atome d'azote du pont N-N. En présence des piègeurs de radicaux libres, le radical DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune mesurable à 517nm (**Figure 17**) (Bentabet et *al.*, 2014; Maataoui et *al.*, 2006), le degré de changement de la couleur est proportionnel à la concentration et à la puissance des antioxydantes, aussi cette réaction s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules testées (Mishra K. et *al.*, 2012).

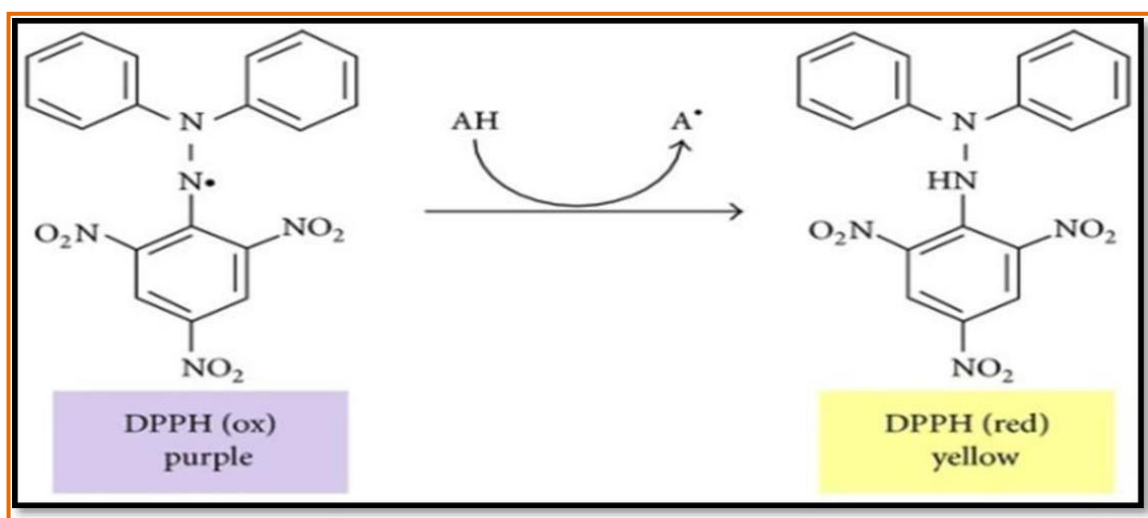


Figure 16: Réaction de test DPPH (2,2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012).

Chapitre I : Matériel et Méthodes

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Lopes - Lutz et *al.* (2008). 50µl de chaque solution des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydante standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (Bougandoura , 2013).

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I \% = [1 - (\text{Abs Échantillon} - \text{Abs Contrôle négatif})] \times 100$$

I % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif (Meddour, 2013).

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant des extraits aqueux, nous avons introduit le paramètre IC50 (Concentration Inhibitrice 50). L'IC50 est la concentration de l'échantillon testé (Acide ascorbique ou l'extrait) nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH, ils sont calculés graphiquement (Sanchez., 1998) par la formule de la régression des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés. Les résultats sont exprimés en mg/ml.

I.2.4.2 Test de la réduction du fer FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power):

Principe :

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à donner un électron (Li et *al.*, 2009) qui va réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}) dans un milieu acidifié par l'acide trichloroacétique (Luqman et *al.*, 2012 ; Sushma et *al.*, 2013). En ajoutant FeCl_3 dans le mélange ,un complexe de couleur bleue spécifique se produit (Dorman et *al.*, 2003). De ce fait, La forme réduite se traduit par le changement de la couleur jaune vers une couleur bleue (Chung et *al.*, 2006) et une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

0,25 ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 0,625 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH : 6,6) et 0,625 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 0,625 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (0,625ml) de surnageant est combinée avec 0,625 ml d'eau distillée et 0,125 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (Chlorure ferrique)

Chapitre I : Matériel et Méthodes

à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (Spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydante ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. (Oyaizi et *al.*, 1986).

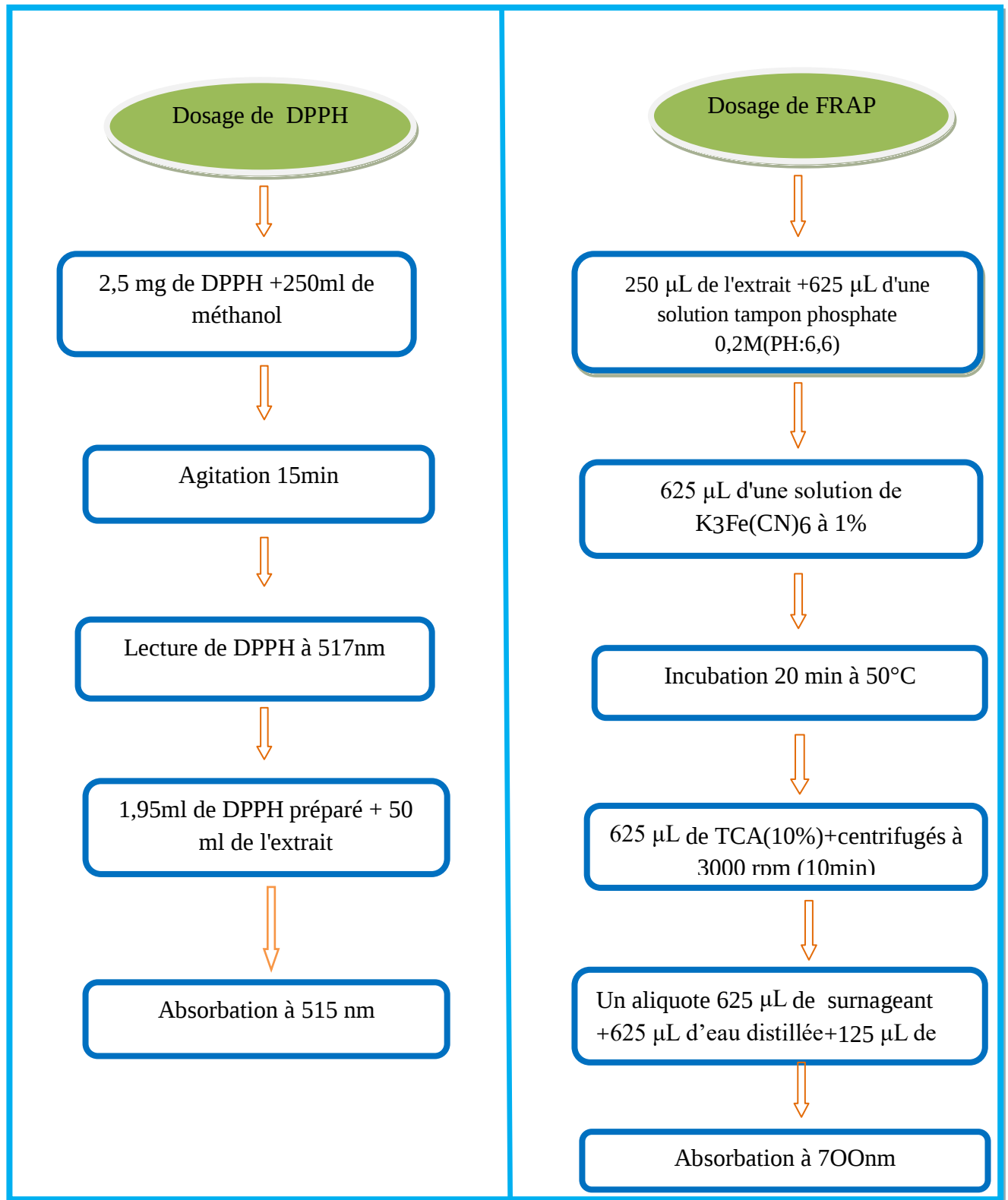


Figure17 : Protocole de dosage des DPPH et FRAP.

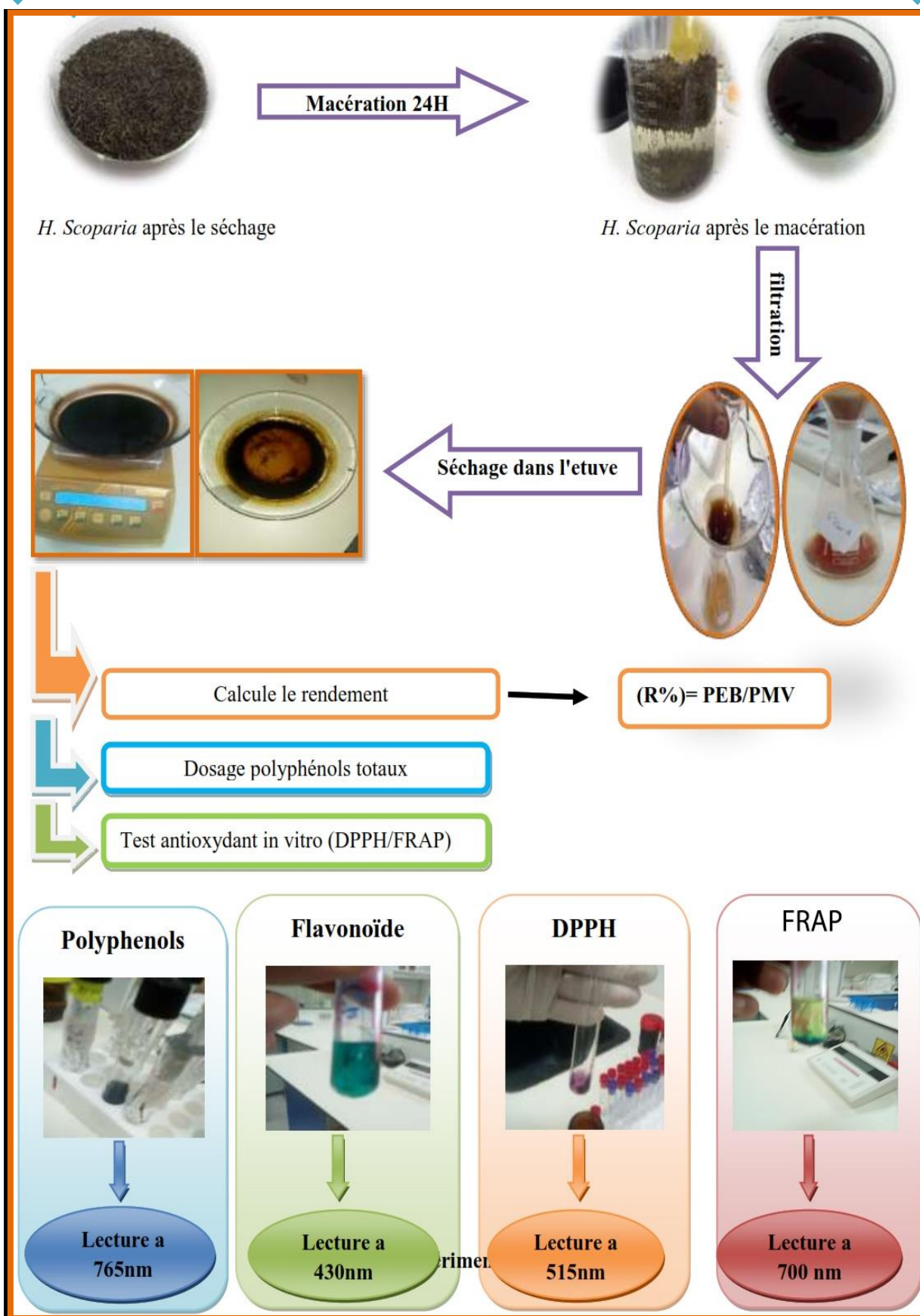


Figure18 : Plan expérimental d'étude.

Chapitre II

Résultats et Discussions

II.1. Rendement de l'extrait brut

Les valeurs obtenues des rendements des extraits bruts sont représentées dans les figures suivantes.

Extrait 1

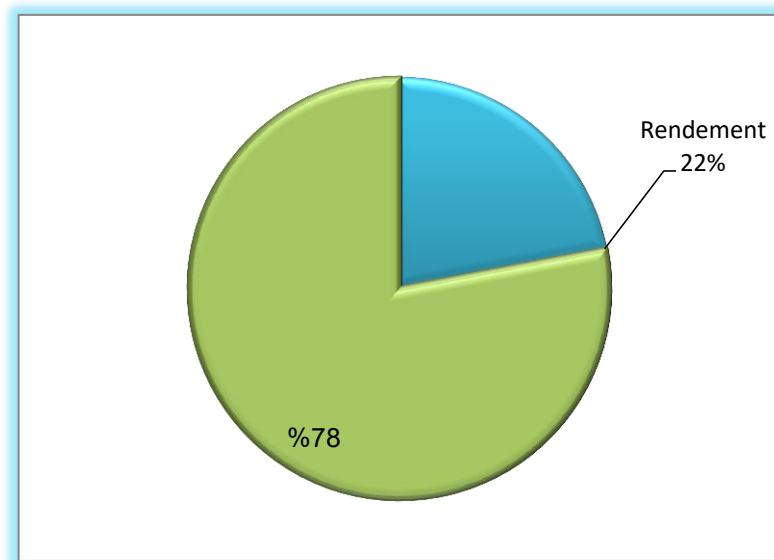


Figure 19: Rendement de l' extrait aqueux de la plant *Hammada Scoparia*

Extrait 2

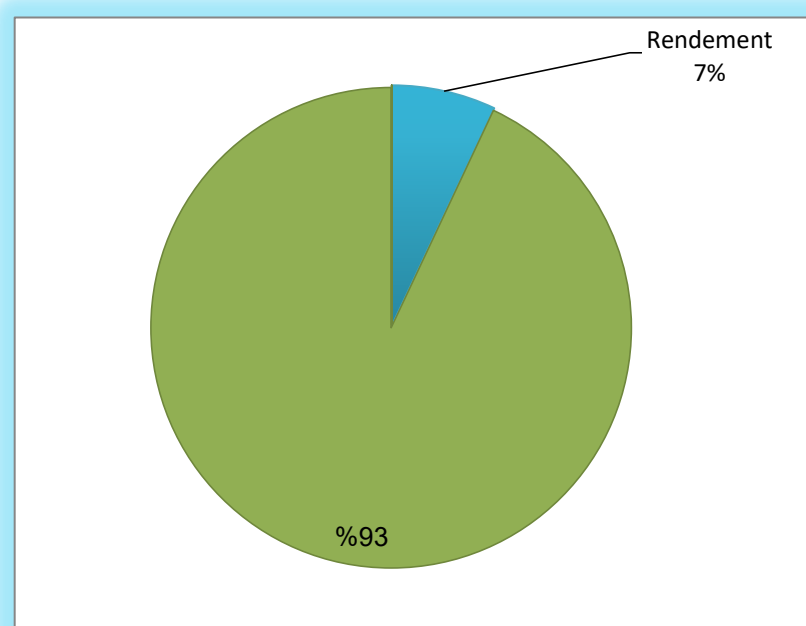


Figure 20: Rendement d'extrait brut méthanolique de la plante *Hammada Scoparia*

Chapitre II: Résultats et discussions

La préparation de l'extrait brut a donné des rendements de l'ordre de (7% ,22%) pour les deux extraits différents: (le rendement pour l'extrait aqueux) et (le rendement d'extrait méthanolique) respectivement. Dans notre étude, la méthode d'extraction suivie c'est l'infusion qui nous donne des rendements considérables. On remarque que la première extrait nous donne un pourcentage important par rapport a l'autre extrait .

Les travaux antérieurs montrent que les solvants tels que : le méthanol, l'éthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques (Sahreen et *al.*, 2010; Xia et *al.*, 2010; Bouzid et *al.*, 2011). Le méthanol et l'eau sont les solvants utilisés dans cette étude pour obtenir l'extrait brut à partir des feuilles de l'espèce végétale *Hammada Scoparia*.

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des conditions du développement et de croissance, la maturité, le conditionnement, les conditions de stockage et par les méthodes d'extraction (Zang et Hamauri , 2003) En plus de ces aspects quantitatives, quelque soit la méthode d'extraction appliquée elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bio-activité de ces principes actifs. Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

II.2.Teneur des composés phénoliques totaux

Le tableau (03) a présenté la teneur en polyphénols totaux obtenus à partir de l'extrait brut de la plante *Hammada Scoparia*, qui est calculé par l'équation $y = 0,4954x + 0,0304$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9953$, obtenue par une courbe d'étalonnage basé sur l'acide gallique comme étalon.

Tableau 03: Teneur en composé phénoliques totaux (mg EAG/g d'extrait) d'extrait de la plante *Hammada Scoparia*.

	Extrait 1	Extrait 2
Extrait brut	23.83 ± 0.046	307.7 ± 0.040

La teneur en polyphénols totaux a été effectuée par la méthode de Folin-Ciocalteu .

La spectrophotométrie UV/Visible a permis de quantifier le taux des polyphénols présents dans les deux extraits (aqueux et méthanolique) préparés à partir de la plante *Hammada Scoparia* , les résultats sont représentés dans **tableau 03**

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique (307.7 ±0.040 mg EAG/ g E) est plus riche en polyphénols que l'extrait aqueux (23.83 ±0.046 mg EAG/ g E).

La différence dans le contenu en polyphénols peut être expliqué par la différence de solubilité de ces composés dans l'eau et méthanol. En fait la solubilité des composés phénolique est

affectée par la polarité du solvant utilisé, et leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés (Mahmoudi et *al.*,2013; Garcia-Salas et *al.*,2010). En effet, on constate que le meilleur solvant d'extraction des polyphénols pour la présente étude est le méthanol. Plusieurs études ont montré que le genre *Hammada*, est considéré comme une source importante de composés phénoliques (Abdo et *al.*,2015 Bannour et *al.*,2016; Gasmi et *al.*, 2019; Benabderrahim et *al.*,2019).

Nos résultats sont confirmés par le travail de (Bakchiche et Gherib.,2014) sur la même espèce végétale, les résultats obtenus montre que la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne d'un extrait méthanolique est de l'ordre de (108,41±4,59 mg EAG/g).

De même, les résultats obtenus par (Bakchiche et Gherib.,2014) montre que l'extrait aqueux des parties aériennes contient une teneur de 4,163± 0,028 mg EAG/g MS(EAG/g E).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh et *al.*, 2008). En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques (Podsdek, 2007).

II.3.Teneur en Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été estimée à partir d'une gamme d'étalonnage effectuée par la quercétine à différentes concentrations (Equation standard de courbe : $y = 5.67x - 0.0546$). Les résultats obtenus sont ainsi exprimés en milligramme de la quercétine par gramme d'extrait sec (mg d'EQC/g d'extrait sec). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9928$. Les résultats de dosage des Flavonoïdes dans l'extrait brut de la plante *Hammada Scoparia* sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 04).

Tableau 04: Teneur des Flavonoïdes (mg d'EQC/g d'extrait sec) de l'extrait de la plante *Hammada Scoparia*.

Extrait brut	Extrait 1	Extrait 2
	7,5 ± 0,026	12.4. ±0.025

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium($AlCl_3$). Les résultats montrent que l'extrait méthanolique (12.4. ±0.025mg QE/g E) plus riche en flavonoïde que l'extrait aqueux (7,5 ± 0,026mg QE/g E).

La différence dans le contenu en flavonoïde est dûe probablement à la nature de solvant utilisé qui permet une meilleure séparation des flavonoïdes (Stanković , 2011).

L'étude réalisée par (Ben kheirara ,2018/2019) sur les feuilles et tiges de la même espèce végétale, avec des teneurs en polyphénols totaux de l'ordre (17.056 ± 0.108 mg ER/ g MVS contre uniquement 12.955 ± 0.117 mg ER/ g MVS) pour l'extraits de méthanol, ces résultats sont inférieures à nos résultats.

les teneurs en flavonoïdes sont plus faibles (0,139± 0,003mg EQ/gMS) (Belhadj Tahar et *al.*,2015)(Bakchiche et *al.*,2013) par rapport à nos résultats .

Chapitre II: Résultats et discussions

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), la période de récolte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales (Boudgouree, 2011 ; Hamia et *al.*, 2014), ainsi que les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante, la méthode d'extraction et les solvants utilisés (Tirichine , 2010; Park et Cha, 2003).

II.4.Activité anti-oxydante :

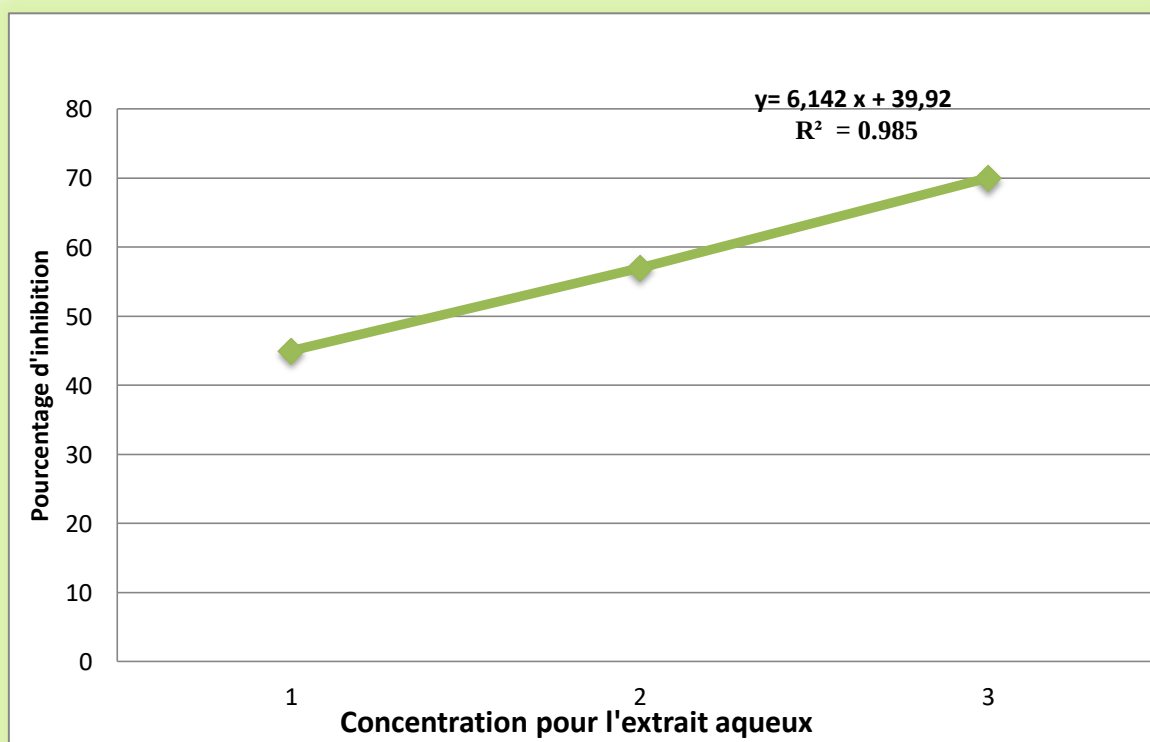
Dans notre étude deux tests différents ont été utilisés pour déterminer le pouvoir antioxydant de l'extrait brut de la plante *Hammada Scoparia* : le test de piégeage du radical DPPH, le test de FRAP (Ferric Reducing Power).

II.4.1.Teste du piégeage du radical libre DPPH

Le radical DPPH[•] est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et la simplicité de l'analyse (Yeo et Shahidi,2019).

L'activité anti-oxydante de chaque extrait est exprimée en IC₅₀, qui est déterminée graphiquement à partir des droites représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes de l'extrait . L'efficacité est estimée à partir de l'activité de l'acide ascorbique comme référence standard.

Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50 % des radicaux (IC₅₀). sont présentés dans la (figure22).



Chapitre II: Résultats et discussions

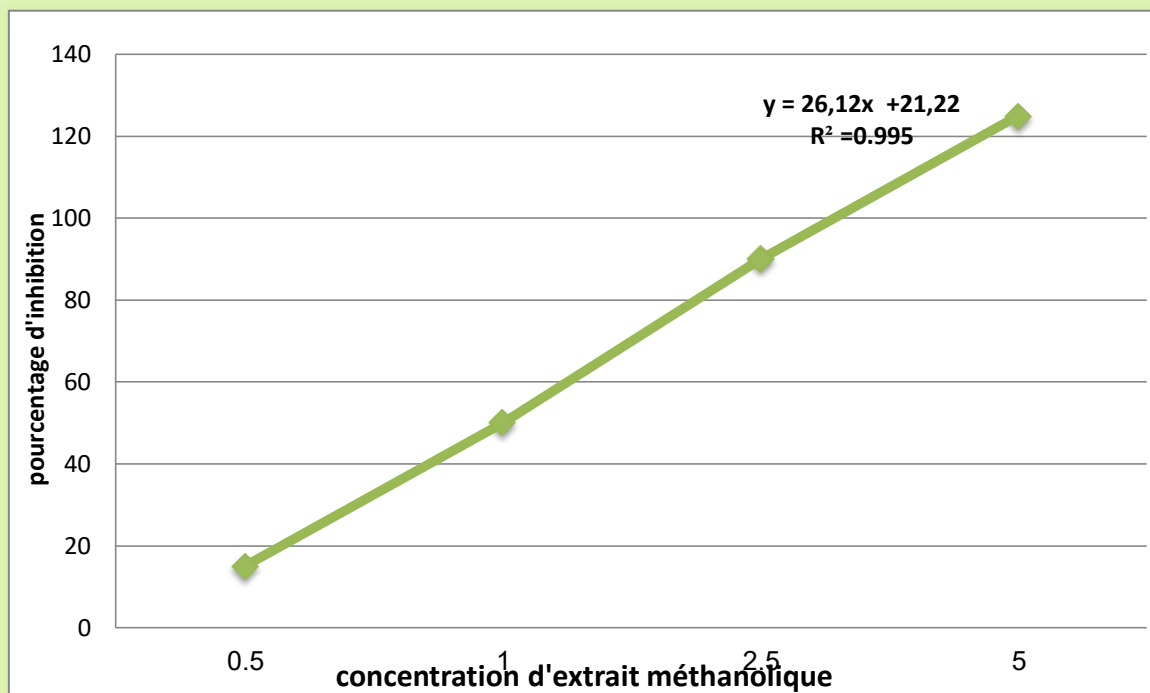


Figure 21: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de 02 extraits .

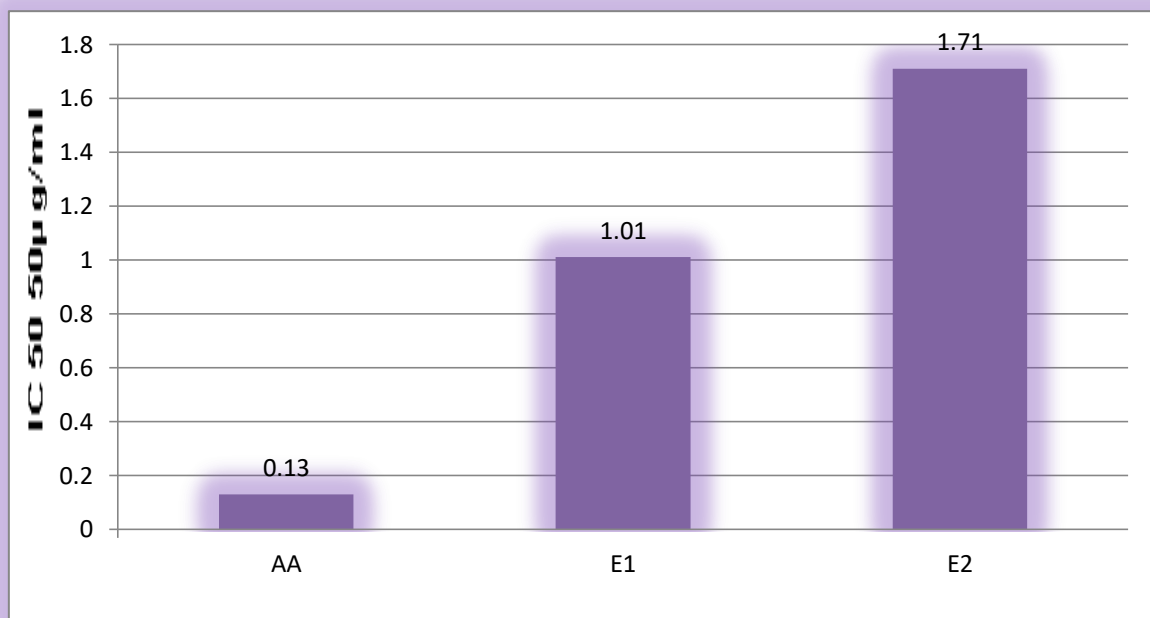


Figure 22: Valeur IC₅₀ de 02 extraits de la plante *Hammada Scoparia* et le standard Acide Ascorbique (AA)

Concernant l'effet antioxydante *In vitro* obtenu à partir le test de DPPH, révèlent que l'extrait méthanolique montre ou représente IC₅₀ qui est de 1.01 mg/ml, L'extrait aqueux confirme un IC₅₀ qui est de 1.71mg/. On remarque que l'acide ascorbique possède un IC₅₀ plus faible égale à 0,13 mg/ml En comparant les extraits et les témoins l'acide ascorbique reste le plus

Chapitre II: Résultats et discussions

efficace avec un faible IC₅₀ (figure23) , suivi l'extrait méthanolique et extrait aqueux . Les résultats obtenus montrent qu'il y a une différence très hautement significative dans les taux d'inhibition ou de piégeage du radical libre DPPH en présence des différents extraits de la plante alors La meilleure activité a été enregistrée avec les extraits bruts méthanolique et aqueux .

On explique l'utilisation de la technique DPPH par sa rapidité à donner les résultats, comme elle est employée pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits de végétaux (Yi et *al.*, 2008 ; Naba et *al.*, 2010) L'acide ascorbique est un réducteur très puissant et possède de ce fait un pouvoir antioxydante, qui est au centre de son activité biochimique .Sa structure est composée d'une fonction ène-diol en C2, celle-ci est très sensible à l'hydrolyse. Elle est responsable de l'acidité de la molécule et de son pouvoir antioxydante, L'effet antioxydante *In vitro* des substances naturels existent dans les extraits végétaux peut attribuer selon le contenu en polphénol (Nizan et Mushfiq, 2012). Une relation proportionnelle entre le contenu en polyphénol de l'extrait méthanolique) et l'effet antioxydante *In vitro* de la même extrait , ce résultat est similaire avec les travaux de (Farasat et *al.*, 2014).

II.4.2. Réduction du fer

Cette méthode a été utilisée pour mesurer la capacité des substances de notre extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . C'est une technique rapide, facile et reproductible. Les résultats de l'activité réductrice des extraits de *Hammada Scoparia* et d'acide ascorbique sont présentées dans (**Annexe 02**), nous avons constaté que la capacité réductrice esproportionnelle à l'augmentation de la concentration.

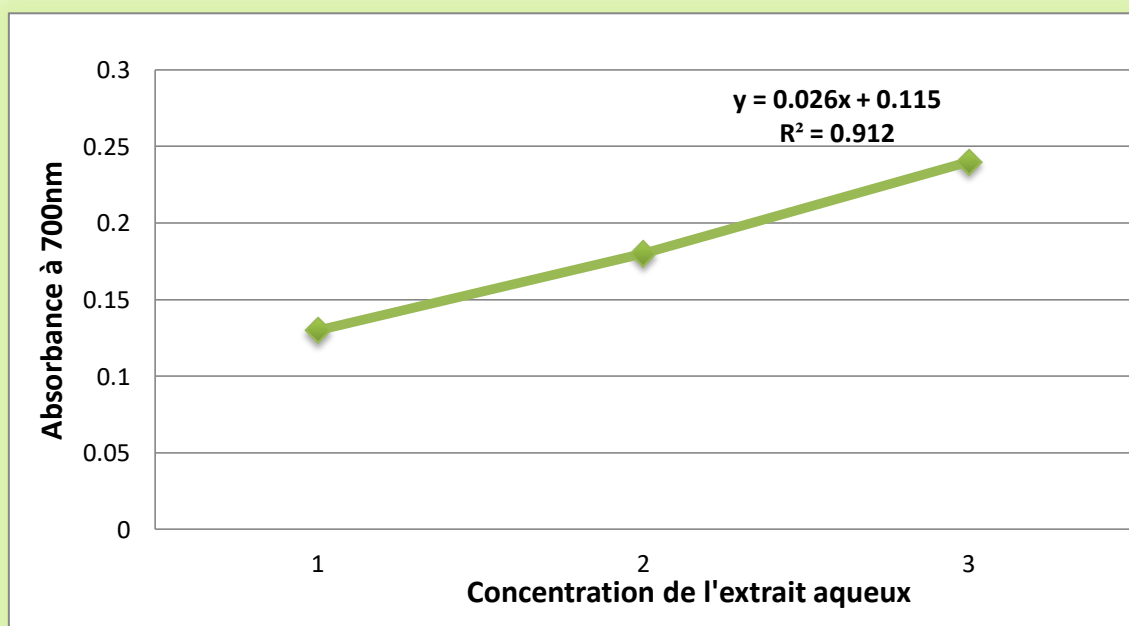


Figure 23: Courbe représentant le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de la plante *Hammada Scoparia*.

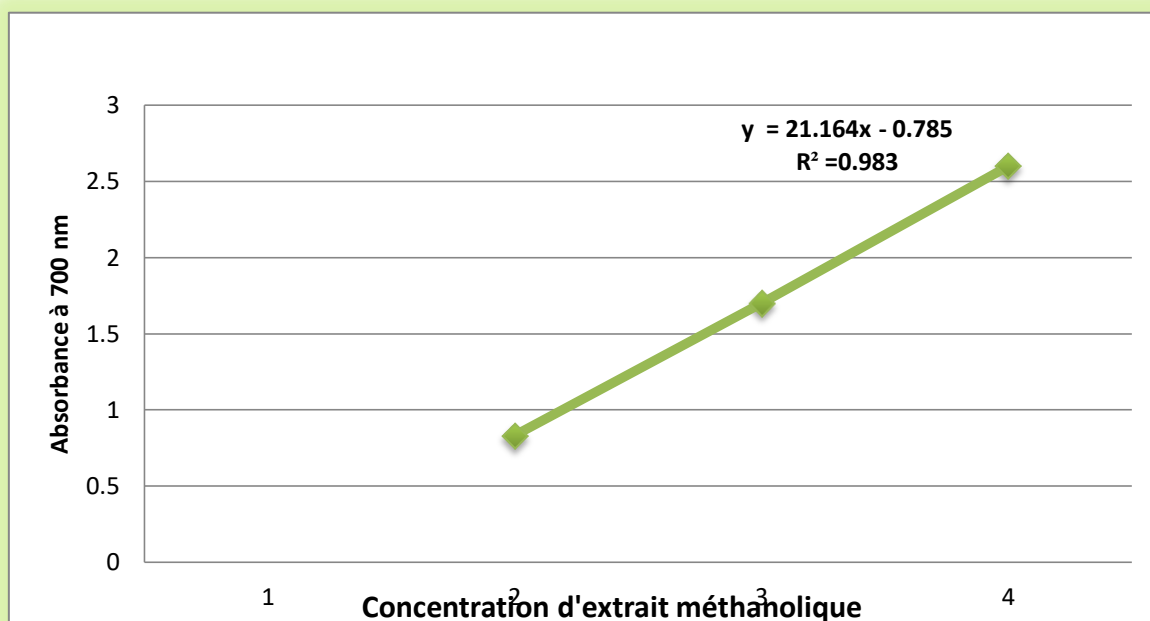


Figure 24: Courbe représentant le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de la plante *H Scoparia*.

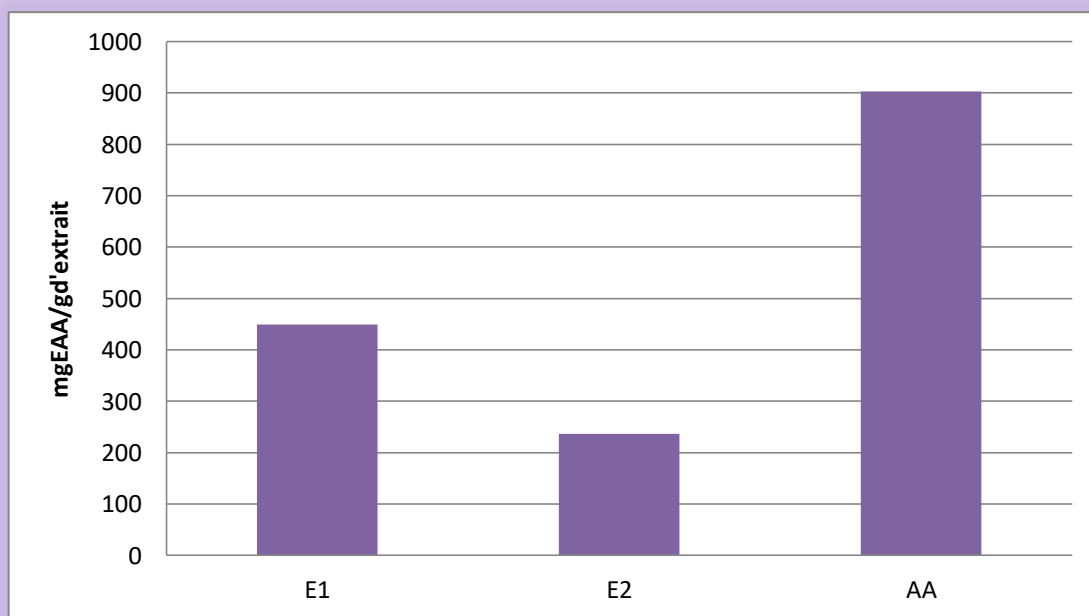


Figure 25: pouvoirs réducteurs des extraits bruts de la plante *Hammada Scoparia*.

Les propriétés antioxydantes d'un composé dépend non seulement de sa structure chimique mais aussi selon le type du radical généré qu'il peut neutraliser. L'étude réalisée par Jeong et autres, 2004 a montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son activité potentielle. Par ailleurs, Yildirim et al., 2001 indiquent qu'il y a une corrélation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des

Chapitre II: Résultats et discussions

composants de quelques plantes.

Les résultats obtenus dans la **figure (26)** montrent que l'extrait aqueux présente le pouvoir réducteur le plus importante (DO = 494) suivi par l'extrait méthanolique (DO = 236)

Nous pouvons déduire que tous les extraits de notre plante ont la capacité pour réduire le fer, mais elle inférieure à celle de l'acide ascorbique (DO = 0,903). Ces résultats comparés à ceux signalés dans de nombreux travaux antérieurs, semblent plus ou moins comparables

Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Benkherera et al. (2018/2019)** sur les extraits méthanolique et aqueux de la même espèce qui avaient des valeurs (1984.987 ± 2.566 mmole Fe^{+2} / g MVS) et (946.685 ± 1.188 mmole Fe^{+2} / g MVS) respectivement.

D'autre part, nos résultats sont meilleurs que ceux obtenus par Allaoui et al., 2016 sur l'extrait d'acétate d'éthyl de la partie aérienne de l'espèce *Hammada scoparia* de la région de Ghardaia au Sahara septentrional Algérien où un pouvoir réducteur moyen de l'ordre de $172.152 \mu\text{g}$ Eq acide ascorbique / g d'extrait a été enregistré.

Conclusion et Perspectives

Chapitre II: Résultats et discussions

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme, on les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie.

L'objet de notre travail se base sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits de la plante *Hammada Scoparia* de la région de Sidi Khaled de Biskra .

L'étude phytochimique de la partie aérienne de l'espèce *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin a révélé à travers les tests de criblage la présence des flavonoïdes, poly phénols totaux . Des rendements assez élevés ont été enregistrés en extraits bruts aqueux (22%), et en extrait méthanolique (7%) .

L'évaluation du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes a été estimée en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode d' AlCl_3 . Ces dosages nous ont permis d'obtenir les résultats suivants: les teneurs en polyphénols et flavonoïdes ont été élevées dans l'extrait brut méthanolique($307.7 \pm 0.040 \text{ mg EAG/ g E}$) et ($12.4. \pm 0.025 \text{ mg QE/g E}$), respectivement comparativement à l'extrait aqueux brut où les teneurs ont été de ($23.83 \pm 0.046 \text{ mg EAG/ g E}$) et ($7,5 \pm 0,026 \text{ mg QE/g E}$).

L'activité anti-oxydante de différents extraits a été évaluée par deux méthodes; le test de piégeage de radical libre DPPH, et le test de réduction de Fer (FRAP). Les résultats du test DPPH montrent que l'extrait méthanolique ayant la meilleure activité antioxydante par rapport à l'extrait aqueux avec une IC_{50} : $1.01 \mu\text{g/ml}$. De même, l'extrait méthanolique a été induit par les substances oxydantes et les radicaux libres avec un pourcentage d'inhibition égal à 80% à la concentration 5 mg/ml. Les résultats du dernier test (FRAP) montrent que l'extrait de méthanolique ayant le pouvoir réducteur le plus élevé par rapport à d'autres extraits de *H Scoparia* .

Au terme de ce travail, il est souhaitable d'évaluer l'activité anti-oxydante et l'étude phytochimique par d'autres méthodes, que ce soit in vitro ou in vivo, ainsi que d'effectuer d'autres tests pour évaluer d'autres activités biologiques tels que l'activité anti-inflammatoire anticancéreuse, antimicrobienne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- A. Slivka and G. Cohen, "Hydroxyl Radical Attack on Dopamine," Journal of Biological Chemistry, Vol. 260, No. 29, 1985, pp. 15466-15472 activity; Redox Report. 2(3), 161–171
- Ahn, M.-R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. Food Chemistry, 101, 1383-1392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.045>
- Algeciras-Schimnich, A., Cook, W. J., Milz, T. C., Saenger, A. K., & Karon, B. S. (2007). Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. Clinical Biochemistry, 40, 1311 – 1316.
- Aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Nature & Technologie, are related to the increase in associated non-esterified fatty acids Atherosclerosis. 160(1):223-32

B

- BAGHDADI I., BELLABIDI R., (2019). Etude de l'activité protectrice des produits naturels issus de noyau de date de l'espèce végétale "Phoenix dactylifera L." vis-à-vis l'hépatotoxicité par le tétrachlorure de carbone "CCl4" chez les rats wistar albinos. Master Académique en Sciences Biologiques. Université Echahid Hamma Lakhdar – El-OUED. P 43
- Bakchiche Boulanouar, Gherib Abdelaziz, Smail Aazzab, Custódia Gagob, M. Grac, a
- BEAUDEUX J. L., GENEVIEVE D., (2011). Biochimie médicale. Marqueurs actuels et perspectives. 2ème édition. Edition Lavoisier Chantal Arpino. P 130 , 131.
- BEHREND L., HENDERSON G. and ZWACKA R. M., (2003). Reactive oxygen species in oncogenic transformation. Biochem Soc Trans. 31(Pt 6): 1441-1444.
- BEHREND L., HENDERSON G. and ZWACKA R. M., (2003). Reactive oxygen species in oncogenic transformation. Biochem Soc Trans. 31(Pt 6): 1441-1444.
- BELGUEDJ M., (2002) -(b). Les ressources génétiques du palmier dattier. Caractéristiques des cultivars de dattier dans les palmeraies du Sud-Est Algérien Revue annuelle de L'INRAA N°1/2002. P 28-289.
- Ben Salah, H., Jarraya, R., Martin, M.-T., Veitch, N. C., Grayer, R. J., Simmonds, M -
- Benítez S, Sánchez-Quesada JL, Lucero L, Arcelus R, Ribas V, Jorba O-
- Benkrief, R., Brum-Bousquet, M., Tillequin, F. & Koch, M. (1989). Alkaloids and flavonoid from aerial parts of *Hammada articulata* ssp. *scoparia*. Annales Pharmaceutiques Françaises, 48(4), 219-224

Références bibliographiques

- Bentinger M, Brismar K, Dallner G. Mitochondrion. 2007 Jun;7 Suppl:S41-50. doi: 10.1016/j.mito.2007.02.006. Epub 2007 Mar 16. PMID: 17482888
 - Biochemistry, and role in human disease. American Journal of Medicine. 91:14
 - Bioingénieries, spécialité: Qualité et sécurité des aliments. p. 174.
 - BOIZOT N., CHARPENTIER J P., (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. N° spécial : 79-83.
 - Born in Burnie, Tasmania, Australia on 3 Feb 1901 to Alexander Armstrong and Elizabeth Horan. Clement Cecil Robert Armstrong passed away on 1972 in Fitzroy, Melbourne, Victoria, Australia.
 - Boucherit, H., Benabdeli, K. & Benaradj, A. 2017. Caractérisation floristique de la steppe a Hammada scoparia dans l'atlas Saharien oranais (Naama-Algérie). Revue Agrobiologia 7(2): 483-490. Boulos, L. 1999. La flore de l'Egypte. I. Al Hadara Publishing, Le Caire, Egypte
 - Bougandoura, N., Bebdimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits
 - BOUZIANE M., (2002). Caractérisation structural de quelques molecules organiques dans la plante: Cotula cinerea de la region d'Ouargla. Thèse de magistère. Université Ouargla. P 53.
 - BOUZIANE M., (2002). Caractérisation structural de quelques molecules organiques dans la plante: Cotula cinerea de la region d'Ouargla. Thèse de magistère. Université Ouargla. P 53.
 - BOUZID W, YAHIA M, ABDEDDAIM M, ABERKANE M C ET AYACHI A ., 2011- Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de L'Aubepine Monogyne. Lebanese Science Journal. vol 121. 59-69.
 - BOYD B., FORD C., KOEPKE M.C., GARY K., HORN E., MCANALLEY S., and
 - Bragantini F, Leger B, Dabbeni-Sala F. (2004). Antioxidant defences and
 - Brown DI , Griendling KK . Nox proteins in signal transduction . Free Radic Biol Med. 2009; ; 47 : :1239.-1253.-
 - Browne RW, Bloom MS, Schisterman EF, Hovey K, Trevisan M, Wu C, Liu A
- C**
- Cadenas, E., Davies, K.J., 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radic. Biol. Med. 29, 222–230.
 - Cao, Y., R.R.R. Rowland, T. Kogoma 1993. DNA polymerase I and the bypassing of

Références bibliographiques

RecA dependence of constitutive stable DNA replication in *Escherichia coli* *rnhA* mutants. *J. Bacteriol.* 175:7247-7253

- Castellví A, Alonso E, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J. (2002). Changes in
- CHAILLOU L, NAZARENO M. Chemical variability in propolis composition related to the arboreal environment as the sources of resins. *J Sci Food Agric.* 2009(a);89:978-983
- Cheeseman et al., 1988 Peter Cheeseman, Don Freeman, James Kelly, Matthew Self, John Stutz, and Will Taylor. Autoclass: a Bayesian classification system. In *Proceedings of the Fifth International Conference on Machine Learning*, 1988
- CHEHMA A., DJEBAR M.R., HADJAJI F. et ROUABEH L., (2005) : Etude floristique spatiotemporelle des parcours sahariens du Sud-Est algérien. *Revue Sécheresse*; 16 (4): 275-285
- Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential
- CHNITI S. (2015). Optimisation de la bioproduction d'éthanol par valorisation des refus de l'industrie de conditionnement des dattes (Université Rennes 1).
- CHOE, E., D. B. Min (2005). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods.
- Clement, J.R; Armstrong, D.A. (1972). Pulse Radiolysis of aqueous papin, *Can J. Chem.* Q,
- Clinique. *Ann Biol Clin (Paris)*. 24 avr 1997;55(3):195-208
- CODINA C., (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem.* 50 : 6882–90
- CONGO M., (2012). Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica*

D

- Davide, G. W. (2015). *Encyclopedia of Mind Enhancing, Foods, Drugs and Nutritional Substances*. Second edition. Edition Mcfarland & Company, Inc, Publishers Jefferson, North Carolina, p 166
- DELATTRE J., BEAUDEUX J.L., BONNEFONT-ROUSSELOT D., (2005). Radicaux libres et
- DOMINGUEZ H., NUNEZ M.J., CARLOS PARAJOJ., (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry.* 72(2) :145-171.
- DROGE W., (2016). Free radicals in the physiological control of cell function, *Cellular*

Références bibliographiques

Physiol Rev. 82:47-95

- Durackova Z., Djrolo F., Hounge H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M., (2008), Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress, Mitochondrial medicine, (ed) Gvozdjakova A: 19-43.

E

- El-Shazly, A. & Wink, M. (2003). Tetrahydroisoquinoline and β -carboline alkaloids from *Haloxylon articulatum* (Cav.) Bunge (Chenopodiaceae). Zeitschrift für Naturforschung. C, 58,477-480
- El-Shazly, A. & Wink, M. (2003). Tetrahydroisoquinoline and β -carboline alkaloids from *Haloxylon articulatum* (Cav.) Bunge (Chenopodiaceae). Zeitschrift für Naturforschung. C, 58,477-480 equilibrium in horses. The Veterinary Journal. 177:178–191

F

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M et Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. organs, and their biologicalactivities. C. R. Biologies, 331; 372-379.
- FARASAT M., Khavari-Nejad RA., NABAVI SM.B, NAMJOOYAM F., (2014). Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. Gulf. Iranian journal of pharmaceutical research. 13 : 163-170.
- FAVIER A., (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 17 : 501– 512.
- Fourth Edition New York, Oxford University Press. p 851.
- Frankel E.N. (1998) Lipid oxidation. The Oily Press Dundee, Scotland. Ltd., Bridgewater.
- From grapes. International Journal of Molecular Sciences, vol 11.622-646.
- Fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Lebanese Science Journal, 7(1):

G

- GEORGIEVA, S., BOYADZHIEV L., ANGELOV G. (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. Revue de génie industriel. 5 : 124-132.
- GEORGIEVA, S., BOYADZHIEV L., ANGELOV G. (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. Revue de génie industriel. 5 : 124-132.
- GRAILLE J., (2003). Lipides et corps gras alimentaires. Ed. Tec et Doc-Lavoisier. 389

Références bibliographiques

- GULCIN I., (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. Arch Toxicol 86(3): 345-391.
- Gutteridge JM, Halliwell B. Antioxidants: molecules, medicines, and myths. Biochem Biophys Res Commun. 2010;393(4):561–564. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.071
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends Biol Sci, 15, 129 – 135

H

- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., CHaPelle J.P., (2007), Le stress oxydant, Rev Med Liège, 62: 628-663.
- HALENG J., PINCEMAIL J., DEFRAIGNE, J. O., CHARLIER C., & Chapelle J. P., (2007). Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège. 62 : 628 – 638.
- Halliwell B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source -
- HALLIWELL B., & GUTTERIDGE J. M. C., (2007). Free Radicals in biology and medicine.
- HALLIWELL B., 1989. Free radicals. reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. Br J Exp Pathol. 70:737-757.
- Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N.E., Birache, M., Haddad, M., Saidi, M.,
- HENNEBELLE T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Chimie Organique et Macromoléculaire Docotrat. 303p.
- Hicks, M; Gebicki, J.M. (1986). Rate constants for reaction of hydroxyl Radicals with tris,
- Homeostasis of reactive oxygen species in different human mitochondrial DNA depleted cell lines. Eur J Biochem. 271:3646–3656
- Hubert, J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des
- Humaines, Thèse pour obtenir le titre de docteur de l'institut national polytechnique de

I

- Introduction. Radiation Research 145(5): 523-531.

J

- Jeong, S.-M., Kim, S.-Y., Kim, D.-R., Jo, S.-C., Nam, K. C., Ahn, D. U., & Lee, S.-C. (2004). Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(11): 3389-3393
- Journal of Food Science 70(9): R142-R159

Références bibliographiques

K

- Kierszenbaum A.L. 2006. Histologie et biologie cellulaire, une introduction à l'anatomie
- Kirschvink N, de Moffarts B, Lekeux P. (2008). The oxidant/antioxidant-
- Koleva II, Van Beek TA, Linssen JPH, de Groot A, Evstatieva LN (2002)
- Koolman J, Rohm KH. (1999). Atlas de Poche de Biochimie. Flammarion:Paris-
- Ksouri, R., Ksouri, W. M., Jallali, I., Debez, A., Magné, C., Hiroko, I. & Abdelly, C. (2012). Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. Critical Reviews In Biotechnology, 32(4), 289-326.

L

- L. (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso. P 42.
- Lacolley p., babuty d., boulanger c., ghaleh b., loirand g., pinet f-
- Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F., & Samuel, J.L. (2007). Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. Edition John Libbey Eurotext, Paris, p 312, 316, 317.
- L'activité antioxydante des extraits du Rhanterium adpressum. Annales des sciences et
- LECHEB F., (2010). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. Thèse Magister. Université M'HAMED BOUGARA. Boumerdès. 114 p
- LEOPOLDINI M., RUSSO N., TOSCANO M., (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. Food Chem.125(2):288-306.
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working
- Lien CY, Chen YS (2010). The Relationships between Green Consumption Cognition and Behavioral Intention for Consumers in the Restaurant Industry. Proc. 2010 IEEE Int. Conf. Indus. Eng. Eng. Manage. (IEEM): Macao. pp. 748-752
- LINDAU-SEHPARD B., & SHAFFER J., (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. Free Rad Boil Med. 8: 15 – 581.
- LINDAU-SEHPARD B., & SHAFFER J., (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. Free Rad Boil Med. 8: 15 – 581.
- LISU W., JUI-HUNG Y., HSIAO-LING L., MING-JIUAN W., (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumage and Blossom (Nelumbo nucifera Gertn).
- LISU W., JUI-HUNG Y., HSIAO-LING L., MING-JIUAN W., (2003). Antioxidant

Références bibliographiques

effect of methanol extracts from Lotus Plumage and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). Journal of food and drug analysis. 11: 60-66

- Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P. 2008. Screening of
- Lukman, A. I., Gong, B., Marjo, C. E., Roessner, U. and Harris, A. T. 2011. Facile synthesis, stabilization, and anti-bacterial performance of discrete Ag nanoparticles using *Medicago sativa* seed exudates. Journal of Colloid and Interface Science 353(2): 433- 4
- LWT-Food Science and Technology , 28: 25-30, 1995

M

- Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali, S. 2006. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de Maiza K., Brac De la Perrière.A. et Hammiche V., 1993. Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. Actes du 2^e colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11^e Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg
- MARTINEZ M. T., (2004). Valorisation d'hydrolysats de co-produits de crevettes. Étude de l'activité antiradicalaire et antioxydante. Fractionnement des substances actives. Effet de la glycation. These Doctorat. P188
- Martinez, T. F. ; Moyano, F. J. ; Diaz, M. ; Barroso, F. G. ; Alarcon, F. J., 2004. Ruminal degradation of tannin-treated legume meals. J. Sci. Food Agric., 84 (14): 1979-1987
- MAZAT J.P., RANSAC S., (2010). Le complexe bc1 de la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne selon l'hypothèse du cycle Q de Mitchell. La preuve par une approche stochastique. Med Sci (Paris). 26 : 1079-86
- MCANALLEY B., (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. Glycoscience& Nutrition. 4 (6):7.
- mechanism of natural polyphenolic antioxidants. Food Chemistry, 125,
- Médart, J. (2009). Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative. 2ème édition. Edition de Boeck Université, p 51 , 52.
- MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N., AYACHI A., (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *capparis spinosa* l. Lebanese Science Journal. 14 (1) : 52p
- MENA S., A. ORTEGA ET J. M. ESTRELA., (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 674(1- 2): 36-44.
- Mena, H. ; Santos, J. E. P. ; Huber, J. T. ; Tarazon, M. ; Calhoun, M. C., 2004. The effects of varying gossypol intake from whole cottonseed and cottonseed meal on lactation and blood parameters in lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 87 (8): 2506-2518

Références bibliographiques

- Micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé
- Miguel. 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils.
- MILLER N J ; SAMPSON J ; CANDEIAS L P ; ET AL., (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. FEBS Lett. 384 : 240-2.
- Miller N. J., and Rice-Evans C. (1996). Spectrophotometric determination of antioxidant
- MILLER N.J., et RICE-EVANS C.A., (1997). The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink, Food Chem. 60: 331-337.
- Mishra, L. K. (2012). Effect of phosphorus and zinc fertilization on biochemical composition of wheat. The Bioscan, 7(3), 445-449
- Mohammedi Z. (2005) Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen
- Molyneux, P. (2004) The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26, 211-219.
- MORELLE J., (2003). L'oxydation des aliments et la santé. Ed. Nouvelle imprimerie laballery. Paris. 250 p.
- Moure a., cruz j. m., franco d., manuel dominguez j., sineiro j.,12
- Moure a., cruz j. m., franco d., manuel dominguez j., sineiro j.,

N

- Niki, I., Reynaert S. W., Aesif T. M., Amy B., Emiel F. M., Wouters C. G., IRVIN. of oxidative stress during the menstrual cycle. Biomarkers. 13(2):160-83
- Nizan I., Mushfiq M., (2012). Antioxidant activity of five different solvent extracts of the edible fruits of Ficus racemosa. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine. 12 : 189-195

O

- Oils. Phytochemistry, 69 :1732-1738
- Oyaizu, M. (1986) Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. Japan Journal of Nutrition, 44, 307-315. <http://dx.doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Ozenda, P. 1991. Flore de Sahara. Editions du CNRS, Paris. Ozenda, P. 1958. Flore du

Références bibliographiques

Sahara Septentrional et central, CNRS, Paris.

P

- PACKER K.J., (2015). Protective role of vitamin E in biological systems, Am. J. Clin.Nutr. 53: 1050S.
- Packer, L., Kraemer, K., & Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. Nutrition, 17 (10), 888 – 895
- PAREJO I; VILADOMAT F; BASTIDA J; ROSAS-ROMERO A; FLERLAGE N; BURILLO J; CODINA C., (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. J Agric Food Chem. 50 : 6882–90
- PAREJO I; VILADOMAT F; BASTIDA J; ROSAS-ROMERO A; FLERLAGE N; BURILLO
- PARK H. J., & CHA H. C., (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. Korean journal of biological society. 7 : 327-330.
- Pathologique. Ed., Boeck, Université rue des Minimes, 39, Bruxelles. Kusuoka.
- Pouget, M. 1980. Les relations sol-végétation dans les steppes Sud-Algéroises. Trav. Doc. ORSTOM: 116: 1-555.
- Protein modification in neurological disease. Ann Ist Super Sanità. 41(2):143164
- Pulido, R., L. Bravo et F. Saura-Calixto (2000). "Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay." Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(8): 3396-3402.

Q

- Quézel, P. & Santa, S. 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS Paris

R

- Radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions. 160: 1-40
- REDLER R. L. and DOKHOLYAN N. V., (2012). The complex molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Prog Mol Biol Transl Sci. 107: 215-262.
- Richard MJ, Belleville F, Chalas J, Ceballos-Picot I, Vitoux D, Boyer MJ, et al. Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie

Références bibliographiques

- ROBERFROID M. B., COXAM V., & DELZENNE N. M., (2008). Aliments fonctionnels. 2ème édition. Edition Lavoisier TEC & DOC. P 209, 215
- ROBERFROID M. B., COXAM V., & DELZENNE N. M., (2008). Aliments fonctionnels. 2ème édition. Edition Lavoisier TEC & DOC. P 209, 215
- Roberfroid, M. B., Coxam,V., & Delzenne, N. M. (2008). Aliments fonctionnels. 2ème édition. Edition Lavoisier TEC & DOC, p 209, 215
- Rodrigues Magalhaes, A. L.; K. Zorzi, K. , 2008. Residue from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) processing in the rations for milking cows: intake, digestibility, milk production and composition and feeding efficiency. Rev. Bras. Zoot., 37 (3): 529-537
- ROUSSEL A M., (2009). Qui manque d'antioxydants et comment le savoir ? Cahiers de nutrition et de diététique. P 7.

S

- S. & Damak, M. (2002). Flavonol triglycosides from the leaves of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin. Chemical And Pharmaceutical Bulletin, 50 (9), 1268-1270
- SAHREEN S., KHAN M R ET KHAN R A., (2010). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. Food Chemistry.Vol (122): 1205-1211
- SAHREEN S., KHAN M R ET KHAN R A., 2010-Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. Food Chemistry.Vol (122): 1205-1211.
- SAMUEL J.L., (2007). Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. Edition John Libbey Eurotext. Pari. p312, 316, 317
- Sanchez-Moreno C., Food Science and Technology International 8 (3) (2002) 121-137
- Sayers, B. M . 1973. «Analysis of heart rate variability». Ergonomics, vol. 16, no 1, p. 17-32-
- Sayre LM, Moreira PI, Smith MA, Perry G. (2005). Metal ions and oxidative-
- **Schlienger, J.-L. (2014).** Diabète et phytothérapie: les faits. Médecine des Maladies Métaboliques, 8(1), 101-106.
- Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative
- Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1977) Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28, 49-55.
- Stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Ed. Tec et Do., Lavoisier. Paris. 547 pages.

Références bibliographiques

- Study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 13: 8-17

T

- Taga, M.S., Miller, E.E. & Pratt, D.E. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* 61, 928–931 (1984). <https://doi.org/10.1007/BF02542169>
technologie, 6(1) : 33-39.
- TIRICHINE H. S., (2010). Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud Est algérien. Thèse de Magister en Biologie. Université d'Oranes-Es Senia. Oran. Algérie. 88 p.
- Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et
- TOUTAIN G., (1979). *Eléments d'Agronomie saharienne* I.N.R.A. Editions des Allées des zones arides. Paris. 273p
- Tricine and hepes buffers, *FEBS Lett*, 92-94

U

- Ursini, F., Heim, S., Kiess, M., Maiorino, M., Roveri, A., Wissing, J., Flohé, L., 1999. Dual Function of the Selenoprotein PHGPx During Sperm Maturation. *Science* 285, 1393-1396.

V

- VALKO M., RHODES C.J., MONCOL J., IZAKOVIC M., ET MAZUR M., (2006). Free
- Vergani L, Floreani M, Russell A, Ceccon M, Napoli E, Cabrell A, Valen-
- Viarengo, A., Pertica, M., Canesi, L., Accomando, R., Mancinelli, G., Orunesu, M., 1989. Lipid peroxidation and level of antioxidant compounds (GSH, vitamin E) in the digestive glands of mussels of three different age groups exposed to anaerobic and aerobic conditions. *Mar Environ Res* 28, 291-295
- Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF (1997). Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathon linearis*), α-tocopherol, BHT and BHA. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 632-638.

W

- W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. W. Berset
- Wactawski-Wende J. (2008). Analytical and biological variation of biomarker-
- WARDMAN P., ET L P., CANDEIAS., (1996). Fenton ch
- Wolinsky I. (1998). *Nutrition in Exercise and Sport*. 3th edition. New You CRC Press
- XIA E Q., DENG G F., GUO Y J AND LI H B., 2010-Biological activities of

Références bibliographiques

polyphenols

X

- Xia, L., Jia, S., Huang, S., Wang, H., Zhu, Y., Mu, Y., Kan, L., Zheng, W., Wu, D., Li, X., Sun, Q., Meng, A., Chen, D. (2010). The Fused/Smurf Complex Controls the Fate of Drosophila Germline Stem Cells by Generating a Gradient BMP Response. *Cell* 143(6): 978-990.

Y

- Yeo J, Shahidi F (2019) Critical re-evaluation of DPPH assay: presence of pigments affects the results. *J Agric Food Chem* 67:7526–7529 87
- Yi W., Ren Z. A., Lu W., Yang J., Shen X. L., Li Z. C., ... & Zhao, Z. X. (2008). Superconductivity at 55 K in iron-based F-doped layered quaternary compound Sm [O_{1-x}F_x] FeAs. arXiv preprint arXiv:0804.2053.
- Yousfi, M. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et
- YVONNE M. W., & JANSSEN-HEININGER., (2007). Catalase over expression fails to attenuate allergic ai of Immunology. 178: 3814 – 382

Z

- Zang D., Hamauru Y., 2003- Phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant properties of grebe, red and yellow bell peppers, *J. Food, Agric. Environ.* Vol 1.22-27

Annexe

Annexe 01

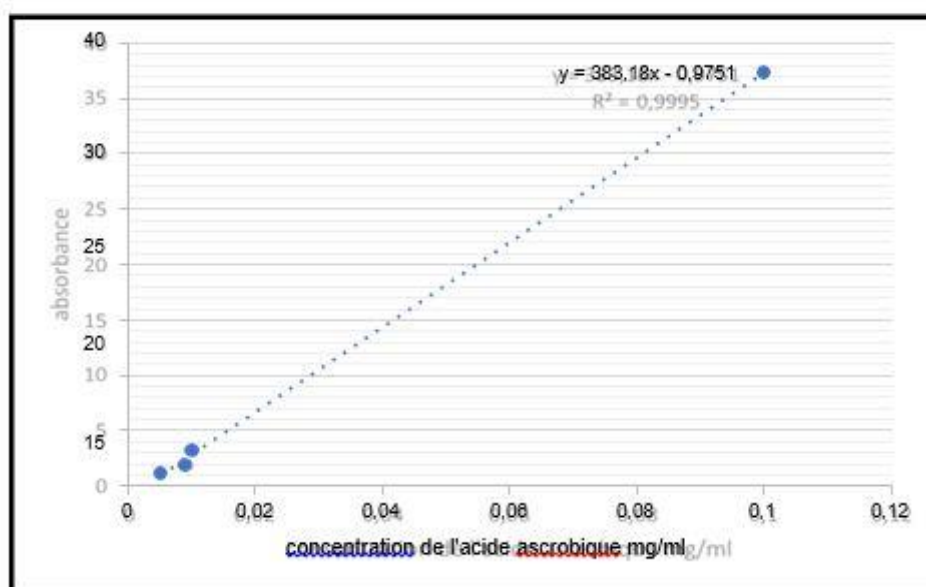


Figure27 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (test DPPH).

Annexe 02

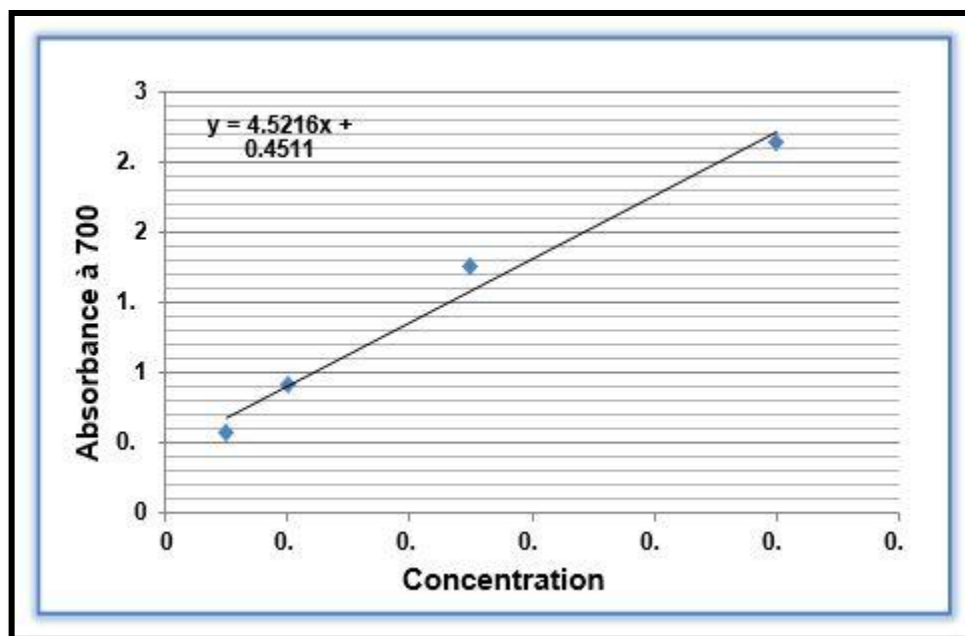


Figure28 : Courbe représentant le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

Annexe 03



Evaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-210)



Balance analytique



Centrifugeuse



Etuve (buchi)



Spectrophotomètre