



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE,**  
**DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

**Filière : Sciences Alimentaires**

Option : *Nutrition et Pathologie*

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante de**  
***Tamarix africana Poiret.***

Présenté par : *Melle KADID AMINA ZAHRA*

**Soutenu le 30 / 06 / 2022 devant le jury composé de :**

<b>Présidente</b>	<b>Melle BADID Naima</b>	<b>MCA</b>	<b>université de Tlemcen</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>Mme BELYAGOUBI BENHAMMOU</b> <b>Nabila</b>	<b>professeur</b>	<b>université de Tlemcen</b>
<b>Encadrante</b>	<b>Mme CHEKROUN BECHLAGHEM Nadjat</b>	<b>MCB</b>	<b>université de Tlemcen</b>

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2021-2022**

# **Remerciement**

*Tout d'abord Nous remercions, Allah qui nous a donné la force et le courage afin de parvenir à élaborer ce modeste travail.*

*Merci à moi-même avant tout*

*Nous dédions ce travail à nos familles et mes amis, berceaux de notre culture. Sans elles nous ne serons pas ce que nous sommes Aujourd'hui. Nous remercions nos parents pour leurs soutiens tout au long de notre Cheminement scolaire*

*Mes remerciements les plus sincères vont à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Je tiens, tout particulièrement, à témoigner à mon encadrante Mme. **CHEKROUN Nadjat***

*Témoigner ma profonde gratitude à mon encadrante pour l'honneur qu'elle a fait en acceptant de diriger ce mémoire et J'adresse également mes remerciements à Mme **BELYAGOUBI Nabila** pour son aide, ses orientations et pour avoir accepté d'examiner ce travail*

*Également Mme. **BADID Naima** pour avoir fait l'honneur de présider le jury*

*Je remercie tous les travailleurs au **Laboratoire de recherche de produit naturel-Tlemcen-***

*A mes amis, j'adresse un grand merci pour leur soutien et leurs aides.*

**Merci**

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail avec mon grand amour et mon entière gratitude la plus*

*Profonde à :*

*Mes très chers parents, Mon Père **AHMED** en témoignage et en gratitude de leur patience et leurs soutien permanent et illimité durant toutes mes années d'étude, et leurs sacrifices et réconfort moral d'étude, et leurs sacrifices et réconfort moral et ma mère **ZAHIA** qui m'a tenu depuis mes premiers pas et qui continue toujours de me conseiller et de m'orienter.*

*Mes remerciements sans limite, que Dieu les protège et le garde*

*Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis*

*Pour mon éducation et ma formation.*

*Votre prière et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Ma sœur **ILHEM***

*Mon frère : **ABED EL RAHIM***

*Tous mes ami(e)s est sur tout sans orientation, sans expression*

*Le plus proche de mon cœur et toute ma famille.*

*Tous ceux qui m'aiment.*

*Tous ceux que j'aime*

**KADID AMINA ZAHRA**

## *Résumé*

Afin de valoriser les plantes médicinales de notre pays, nous avons étudié une espèce appelée "*Tamarix africana Poiret.*". C'est une halophyte qui tolère des concentrations élevées en sels donc elle est riche en composants chimiques dotés d'activités biologiques intéressantes.

Notre travail comprend d'abord la quantification des composés phénoliques suivi de l'évaluation de l'activité antioxydante. Pour cela des extraits dichlorométhane et acétone des feuilles et des tiges sont préparés. Le dosage des polyphénols est effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu ensuite l'activité antioxydante est réalisée par quatre techniques complémentaires qui sont : la capacité antioxydante totale, le piégeage de radical libre DPPH, le test de blanchiment B- carotène, et la réduction du fer.

Les fortes teneurs en polyphénols ( $61.0189 \pm 0.223$  mg EAG/ g ES) ont été enregistrées dans l'extrait acétone des feuilles.

L'évaluation du pouvoir antioxydant montre que l'extrait acétone des tiges de *T. africana* possède une forte capacité antioxydante totale ( $779.373 \pm 0.741$  mg EAA/g ES) alors que l'extrait dichlorométhane des tiges présente la capacité réductrice la plus importante ( $EC_{50} = 0.793 \pm 0.021$  mg/ ml). Les extraits présentent des propriétés antioxydantes moins importantes que l'acide ascorbique.

**Mots clés :** *Tamarix africana*, phénols totaux, activité antioxydante.

## ***Abstract***

In order to enhance the medicinal plants of our country, we studied a species called "*Tamarix africana* Poiret." A halophyte tolerates high concentrations of salt so it is rich in chemical components with interesting biological activities.

Our work included first the quantification of phenolic compounds followed by the evaluation of antioxidant activity. For this purpose, dichloromethane and acetone extracts of leaves and stems were prepared. The determination of polyphenols was carried out by the method of Folin-Ciocalteu then the antioxidant activity was carried out by four complementary techniques, which are the total antioxidant capacity, the trapping of free radical DPPH, the  $\beta$ -bleaching test carotene, and iron reduction.

High values of polyphenols ( $61.0189 \pm 0.223$  mg EAG/g ES) were recorded in the acetone extract of the leaves.

The evaluation of antioxidant potency showed that the acetone extract of the stems of *T. africana* has a strong total antioxidant capacity ( $779.373 \pm 0.741$  mg EAA/g ES) while the dichloromethane extract of the stems has the most important reducing capacity ( $EC_{50} = 0.793 \pm 0.021$  mg/ml). The extracts have less important antioxidant properties than ascorbic acid.

**Keywords:** *Tamarix africana*, total phenols, antioxidant activity.

## المخلص

من أجل تعزيز النباتات الطبية في بلدنا، درسنا نوعاً يسمى '*Tamarix africana Poiret*' إنه هالوفيت يتحمل تركيزات عالية من الأملاح لذا فهو غني بالمكونات الكيميائية ذات الأنشطة البيولوجية المثيرة للاهتمام.

يتضمن عملنا أولاً التحديد الكمي للمركبات الفينولية متبوعاً بتقييم النشاط المضاد للأكسدة. لهذا الغرض يتم تحضير مستخلصات ثنائي كلورو الميثان والأسيتون من الأوراق والسيقان. يتم تحديد البوليفينول بطريقة Folin-Ciocalteu ثم يتم تنفيذ النشاط المضاد للأكسدة من خلال أربع تقنيات تكملية وهي: القدرة الإجمالية لمضادات الأكسدة، ومحاصرة الجذور الحرة DPPH ، واختبار كاروتين التبييض B ، وتقنية ارجاع الحديد.

تم تسجيل نسبة عالية من البوليفينولات  $0.223 \pm 61.0189$  ملغ (EAG/g ES) في مستخلص الأسيتون من الأوراق.

وبين تقييم الفعالية المضادة للأكسدة أن مستخلص الأسيتون من سيقان *T. africana* لديه قدرة إجمالية قوية على مضادات الأكسدة ( $0,741 \pm 779,373$  ملغ (EAA/g ES) في حين أن مستخلص ثنائي كلورو الميثان من السيقان لديه أهم قدرة تخفيض ( $EC50 = 0,793 \pm 0,021$ ) ملغم/مل. (المستخلصات لها خصائص مضادة للأكسدة أقل فعالية من حمض الأسكوربيك).

**الكلمات المفتاحية:** *Tamarix africana* ، المركبات الفينولية، نشاط المضاد للأكسدة .

# *Table des matières*

<b>Remerciement</b> .....	II
<b>Dédicace</b> .....	III
<b>Résumé</b> .....	IV
<b>Abstract</b> .....	V
<b>المخلص</b> .....	VI
<b>Liste Des Figures</b> .....	VIII
<b>Liste Des tableaux</b> .....	VIII
<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Matériel et méthodes</b> .....	6
<b>I. Matériel végétal</b> .....	7
1. Choix du matériel végétal.....	8
2. Identification des plantes étudiées.....	8
3. Station d'étude.....	8
4. Préparation des échantillons.....	9
<b>II. Préparation des extraits et dosage des composés phénoliques</b> .....	10
1. Préparation des extraits.....	11
2. Dosage des phénols totaux.....	11
<b>III. Etude du pouvoir antioxydant des différents extraits du Tamarix africana</b> .....	13
1. Capacité antioxydant totale (CAT).....	14
2. Réduction de fer (FRAP).....	14
3. Piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	15
4. Test de blanchiment $\beta$ -carotène.....	16
5. Analyse statistique.....	17
<b>Conclusion</b> .....	18
Références bibliographiques.....	20

## *Liste Des Figures*

Figure 1 : <i>Tamarix africana</i> .....	3
Figure 2 Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude .....	9
Figure 3 Réduction du radical DPPH par un antioxydant .....	16

## *Liste Des tableaux*

Tableau 1 : Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude .....	8
---	---

# *Introduction générale*

Une plante médicinale est une plante qui est utilisée pour ses propriétés curatives. Cela signifie qu'au moins une partie de celle-ci peut être utilisée pour le traitement. Les humains utilisent ces plantes depuis au moins 7 000 ans et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité dépend de leurs composés, qui varie d'un type à l'autre, et ce sont tous des principes actifs différents. Ils constituent un trésor économique important.

Les plantes représentent un réservoir extraordinaire de nouvelles molécules préventives et curatives.

Selon l'**Organisation mondiale de la santé (2009)**, environ 6 377 espèces végétales sont utilisées en Afrique, dont plus de 4 000 espèces sont des plantes médicinales, représentant 60% de la médecine traditionnelle africaine, « *La médecine traditionnelle combine un ensemble de connaissances, de compétences et de pratiques basé sur des théories et des croyances et sur les expériences que différentes cultures utilisent pour maintenir la santé et prévenir, diagnostiquer, atténuer ou traiter les maladies physiques et mentales* ».

Il faut savoir que dans les secteurs cosmétique, pharmaceutique et agroalimentaire, une part importante des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle. De même, selon l'**Organisation mondiale de la santé (2008)**, plus de 80 % de la population mondiale utilise des plantes médicinales pour traiter diverses maladies

Les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés phénoliques qui ont différentes activités biologiques, y compris des activités antioxydants et antibactériennes (**Ghazi et al., 2013**).

Les espèces extrémophiles algériennes, utilisées pour leurs propriétés ethnopharmacologiques et peuvent être utilisées comme de bons candidats pour une application industrielle. En Algérie, il existe un grand nombre de ces plantes médicinales. *Tamarix africana* constitue une de ces plantes. Etant halophyte, elle est intrinsèquement tolérante au sel et pourrait être utilisée dans des applications économiques comme nouvelle source d'antioxydants naturels notamment dans les compléments alimentaires (**Ksouri et al., 2007 ; Meot-Duros et al., 2008**).

*T. africana* appartient à la famille des tamaricacées. C'est une famille de plantes dicotylédones, comprend 125 espèces qui sont généralement réparties dans les différentes régions du monde et notamment l'Europe, USA, l'Asie et l'Afrique (**Sultanova et al., 2001**).

Ce sont des arbres ou arbustes à fleurs régulières, regroupées en 3 genres : *Reaumuria* L, *Myricaria* Desv, et *Tamarix* L (**Younous et al., 2005**).

Le genre *Tamarix*, fréquent des sols salés, dont dix à quinze espèces sont locales (**Quézel et Santa, 1963**), se caractérise par des feuilles réduites squamiformes aciculaires ou annulaires avec une inflorescence en grappes denses réunies en général au sommet des tiges avec fleurs roses ou blanches (**Quézel et Santa, 1963**). Les feuilles sont très petites mais visibles, alternes, ovales lancéolées, acuminées, scarieuses au bord et à l'extrémité, élargies à leur base, embarrassantes mais n'entourant jamais complètement le rameau. Les racines sont, en général, très développées ; leur bois contient des vaisseaux à gros calibre (**Ozenda, 2004**).



**Figure 1 : *Tamarix africana* (Merzouga, 2018).**

Cette espèce est classée selon l'APG II, d'après **Dupont et Guignard (2007)** et **Quézel et Santa (1963)**, comme suit :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-Embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicots
- Ordre : Caryophyllales
- Famille : Tamaricacées
- Genre : *Tamarix*
- Espèce : *Tamarix africana* Poiret.

**Synonymes** : *T. macrostachya* (Coss.) Trab., *T. anisomera* Trab., *T. Kabylica* Trab., *T. angustata* Trab. (Quézel et Santa, 1963).

### Noms vernaculaires

- En français : Tamaris d'Afrique, Tamarix d'Afrique
- En arabe : Tarfa (Quézel et Santa, 1963), Athal.

Les travaux photochimiques rapportés sur les espèces de Tamarix ont montré que les principaux constituants chimiques sont des composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques (Bahramsoltani *et al.*, 2020). Tous les extraits étaient sensiblement dépourvus d'alcaloïdes, suivis de la présence de tanins. de plus, différentes parties de la plante ont signalé des flavonoïdes, des stéroïdes, des glycosides cardiaques et des dérivés de l'acide ellagique et de l'acide gallique (Mustafa Akhlaq, 2011 ; Barakat et Nada, 1996 ; Chekroun *et al.*, 2019 ; Nawwar *et al.*, 2012 ; Mahfoudhi *et al.*, 2014 ; Nawwar *et al.*, 2009 ; Majumder et Paridhavi, 2013).

Pour l'usage traditionnel, *T. africana* a un effet curatif. Elle est utilisée comme laxative et expectorante (Chopra *et al.*, 2000). Elle traite le rhumatisme, la diarrhée, les hémorroïdes (Younos *et al.*, 2005). Cet arbre sert pour traitement de la leucodermie, les troubles de la rate et les maladies oculaires, dans certains cas de cancer, la perte de cheveux (Khabtane et Rahmoune, 2010). En Algérie, les feuilles de Tamarix africana sont utilisées en thérapie comme décoction ou infusion pour traiter les troubles gastroduodénaux (Khenouf *et al.*, 2003).

Plusieurs Travaux antérieurs ont été réalisés sur les espèces de Tamarix. Divers activités biologiques tell que l'effet antimicrobien et antioxydant sont recherchées (Khabtane *et al.*, 2017 ; Chekroun *et al.*, 2019 ; Martib sénchez *et al.*, 2019) .

Plusieurs études ont été réalisées sur des espèces du genre *Tamarix*. *T. ramosissima* et *T. hispida* ont noté des effets antioxydants (Sultanova *et al.*, 2001) et antibactériens (*T. gallica*) (Lafhal *et al.*, 2010). Diverses utilisations médicinales et activités biologiques des espèces de Tamarix ont été décrites (Sharma et Parmar, 1998 ; Sultanova *et al.* 2001 ; 2004 ; Saïdana *et al.*, 2008 ; Abouزيد *et al.*, 2009 ; Mohammedi et Atik, 2012). Nombreuses études sont faites sur les effets antibactérien et antioxydant de différentes parties des espèces de *Tamarix* (Parmar *et al.*, 1994 ; Saïdana *et al.*, 2008 ; Ksouri *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2009 ; Khabtane *et al.*, 2017 ; Chekroun *et al.*, 2019).

Le but de notre travail est d'étudier une plante médicinale halophyte *Tamarix africana*. Un dosage de composés phénoliques est fait et suivi de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits acétone et dichlorométhane des feuilles et des tiges de cette plante, visant à élargir les perspectives de valorisation des produits naturels.

# *Matériel et méthodes*

# *I. Matériel végétal*

### 1. Choix du matériel végétal

Il est plus judicieux de choisir des plantes qui ont été peu ou pas étudiées chimiquement. Cependant, si la famille ou le genre a déjà été étudié, il sera plus facile de trouver des procédés analytiques, d'identifier rapidement les composés déjà connus et de trouver des traceurs qualitatifs et quantitatifs (Lhuilier, 2007).

Notre espèce a été récoltée de la région de Beni saf, Ain Témouchent à environ 45 km de la ville de Tlemcen, Algérie le 29 décembre 2021.

### 2. Identification de la plante étudiée

Après le prélèvement, l'espèce a été identifiée par Docteur **Hassani F.**, membre du laboratoire d'Ecologie et de Gestion des Ecosystèmes Naturels au département de Biologie et Environnement, de l'Université de Tlemcen, Algérie. Un spécimen de la plante a été classée et déposée au le laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) sous le numéro suivant :

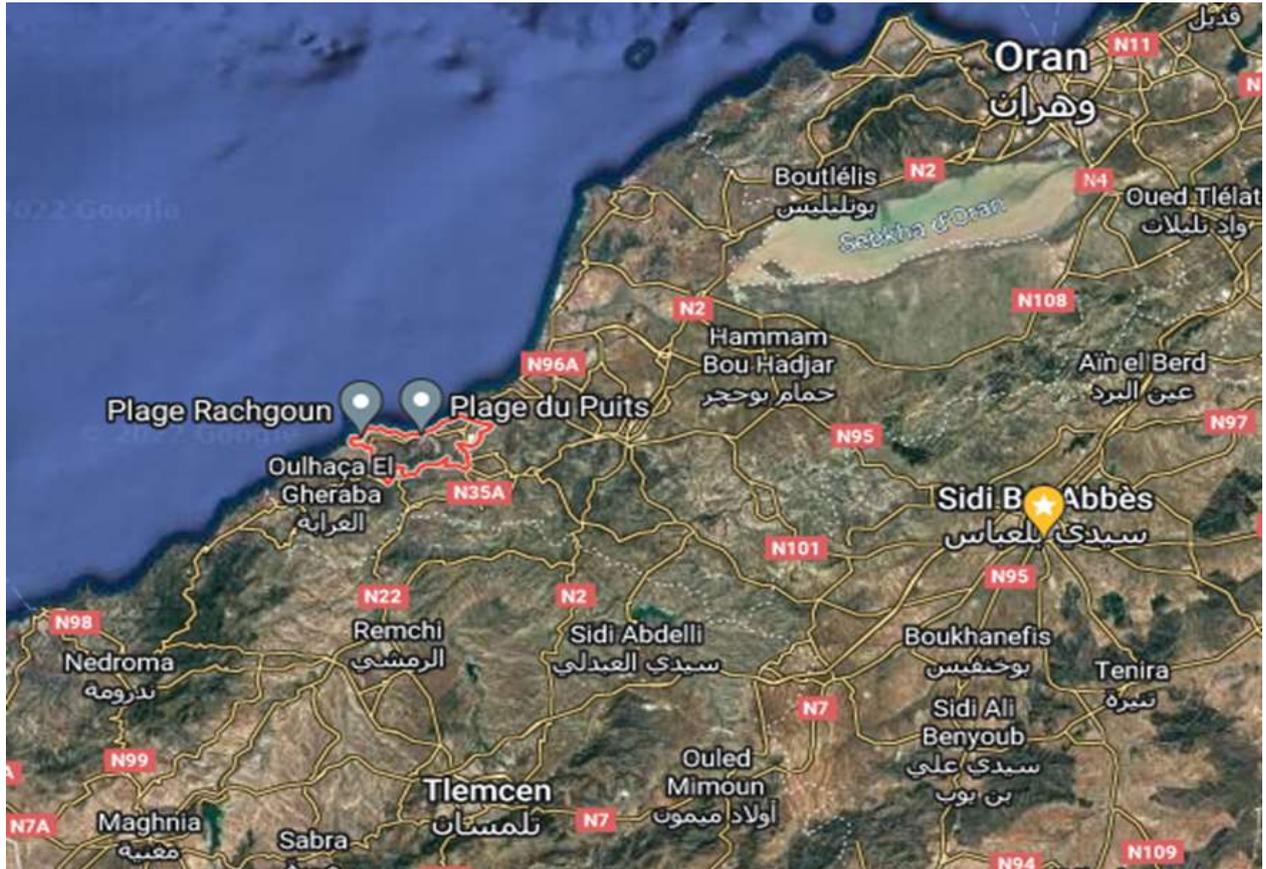
•*Tamarix africana* Poiret. : L-2038.

### 3. Station d'étude

Les paramètres géographiques de notre station d'étude sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 1 : Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude**

Situation	Altitude	Latitude (N)	Longitude (O)
Route de Benisaf Temouchent	22 m	35 ° 16'	1 ° 2



**Figure 2** Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude

Source: *Map of the geographical location of the oasis- benisaf of T.africana*

#### 4. Préparation des échantillons

Après la récolte, les feuilles et les tiges de *T. africana* sont d'abord séparées, nettoyées, et séchées, coupées en fins morceaux et bien conservés pour les utilisations ultérieures.

## ***II. Préparation des extraits et dosage des composés phénoliques***

Le dosage des polyphénols et l'évaluation des activités biologiques constituent le point de départ des recherches scientifiques sur les plantes notamment et la découverte de molécules naturelles à forte activité antioxydante. Notre travail suit le même chemin.

### 1. Préparation des extraits

Une quantité de 6 g de chaque partie (feuilles et tiges séparées) est macérée dans 60 ml de solvants dichlorométhane et acétone séparément pendant 24 heures avec agitation. Les mélanges sont ensuite filtrés avec du papier filtre de diamètre 150 nm. Après filtration, la solution obtenue est évaporée à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif de type **HAHVAPOR R-200 à 50°C**. Les extraits secs ont été pesés et récupérés avec du 2 ml de Diméthyle Sulfoxyde (DMSO) et puis stockés dans des tubes à hémolyse à + 4 °C jusqu'à leur utilisations.

- **Calcul du rendement**

Les rendements des extraits sont obtenus selon la formule suivant :

$$R (\%) = ((PE - P0) / P) \times 100$$



Où : **R** : Rendement exprimé en % ;

**PE** : Poids du ballon après évaporation ;

**P0** : Poids du ballon avant évaporation ;

**P** : Masse de la poudre

### 2. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux dans les extraits de *T. africana* a été effectué par une méthode adaptée par **Singleton et Rossi (1965)** avec le réactif du Folin-Ciocalteu. Une quantité de 200 µl pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais. Le mélange (1 ml du **Folin-Ciocalteu** dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5 %) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min.

L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre **SPECORD R 200**.

Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique a été préparée. Les teneurs exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) de l'extrait sec (**mg EAG/ g ES**).

***III. Etude du pouvoir  
antioxydant des différents  
extraits du Tamarix africana***

Dans notre étude, l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de nos extraits dichlorométhane et acétone des feuilles et des tiges, a été réalisée par quatre méthodes complémentaires : la capacité antioxydante totale (**CAT**), le piégeage du radical libre **DPPH**, le blanchiment du  **$\beta$ -carotène**, et la réduction de fer (**FRAP**).

### 1. Capacité antioxydant totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto *et al.* (1999)**. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène Mo (V)  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (acide sulfurique 0.6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4mM). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique et l'acide gallique par gramme de extrait sec (**mg EAA/ g ES**). Les expériences sont répétées 3 fois.

### 2. Réduction de fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

Ce test a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu (1986)**. En effet, les différentes concentrations des extraits dans l'eau distillée (1 ml) sont mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min. Après, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. A la fin, 2.5 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de  $\text{FeCl}_3$  (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif.

La concentration IC<sub>50</sub>, qui est définie comme la concentration des antioxydants nécessaires pour réduire 50 % de la concentration initiale du ferricyanure de potassium, est un indice utilisé pour comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des extraits.

### 3. Piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•). Ce dernier est un radical stable de couleur violacée qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515 à 520 nm (**Bandoniène et al., 2002 ; Pavlov et al., 2002 ; Gazi et al., 2004**). Le DPPH• est décoloré en jaune lorsque l'électron célibataire s'apparie ; c'est à dire il est réduit à la forme d'hydrazine en acceptant un atome d'hydrogène (**Sanchez, 2002**). Cette décoloration est représentative de la capacité de l'extrait à piéger ce radical libre indépendamment de toutes activités enzymatiques (**Djeridane et al., 2006**).

L'effet des extraits du *T. africana* sur le DPPH• est mesuré par la procédure décrite par **Sanchez et Larrauri (1998)**. Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait exprimées en mg/ ml est ajouté à 1.950 ml de la solution éthanolique du DPPH (0.025 g/l) fraîchement préparée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le contrôle négatif est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl de l'éthanol avec 1.950 ml d'une solution éthanolique du DPPH à la même concentration utilisée.

Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (I \%)} = [(A_c - A_E) / A_c] \times 100$$

Où : **A<sub>c</sub>** : absorbance du contrôle négatif ;

**A<sub>E</sub>** : absorbance de l'échantillon.

La variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits nous a permis de calculer la concentration efficace (Efficient Concentration value : EC 50). Cette dernière est définie comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale du radical DPPH à 50 %.

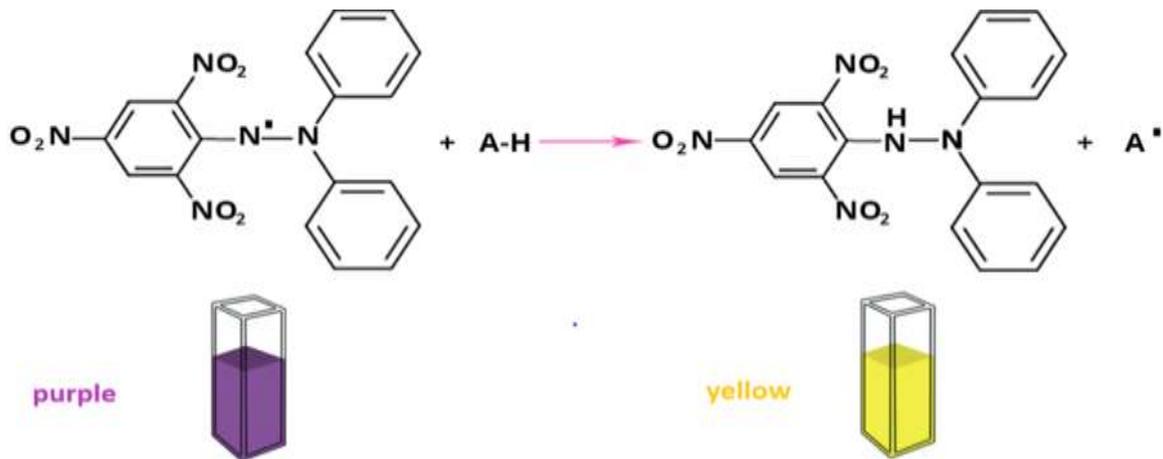


Figure 3 Réduction du radical DPPH par un antioxydant

#### 4. Test de blanchiment $\beta$ -carotène

Le  $\beta$ -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique (Bougatf *et al.*, 2009). Cependant, dans le test du blanchiment du  $\beta$ -carotène, la présence des 11 paires de doubles liaisons rend le  $\beta$ -carotène extrêmement sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes qui sont formés à partir de l'oxydation d'acide linoléique dans un système émulsion aqueux en résultant le blanchiment du  $\beta$ -carotène (Unten *et al.*, 1997). La présence des antioxydants comme les polyphénols réduit l'ampleur de la destruction du  $\beta$ -carotène en neutralisant les hydroperoxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système.

Le test du blanchiment du  $\beta$ -carotène utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de nos plantes est celui du Sun et Ho (2005). Une quantité de 2 mg du  $\beta$ -carotène est dissoute dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution dans une fiole contenant préalablement 200 mg de Tween 20 et 20  $\mu$ l d'acide linoléique. Cette solution est évaporée au rotavapeur jusqu'à la disparition de l'odeur du chloroforme. Puis, un volume de 100 ml de l'eau oxygénée diluée à 20% est ajouté dans la fiole et le mélange résultant est agité vigoureusement. Dans des tubes à vis, l'émulsion  $\beta$ -carotène/acide linoléique de 4 ml est additionnée à 200  $\mu$ l des solutions éthanoliques de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse BHA à différentes concentrations. Après une agitation proprement dite, l'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à  $t = 0$  min contre le blanc contenant l'émulsion sans  $\beta$ -carotène. Les tubes bien fermés sont placés dans un bain marie à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à  $t = 120$  min. Pour le témoin positif, l'échantillon est remplacé par le BHA. Le témoin négatif est constitué par 200  $\mu$ l du méthanol

au lieu de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse. Tous les échantillons sont répétés en deux essais. L'activité antioxydante (%) des extraits est évaluée par la méthode de blanchiment du  $\beta$ -carotène en employant la formule suivante :

**% Inhibition =  $(A_{e120} - A_{c120} / A_{c0} - A_{c120}) \times 100$**  avec :

**A<sub>e120</sub>** : Absorbance de l'échantillon après incubation de 120 min ;

**A<sub>c0</sub>** : Absorbance du contrôle négatif à temps 0 ;

**A<sub>c120</sub>** : Absorbance du contrôle négatif après incubation de 120 min.

La valeur **EC 50** est définie comme étant la concentration des antioxydants correspondant à 50 % d'inhibition. Elle est calculée en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait.

## **5. Analyse statistique**

Les données expérimentales du dosage et l'évaluation de l'activité antioxydante obtenues sont exprimées par une moyenne  $\pm$  l'écart type. Le coefficient de corrélation ( $R^2$ ) de l'activité antioxydante est déterminé en utilisant les programmes Origin 6 et l'Excel 2003.

# *Conclusion*

L'objectif principal de notre travail est de réaliser la valorisation de la plante médicinale halophyte *Tamarix africana* pour une utilisation en médecine traditionnelle.

Notre travail a consisté à quantifier les composés phénoliques et par la suite d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits des feuilles et des tiges dans le dichlorométhane et l'acétone séparément obtenus par macération. Les teneurs les plus élevées de l'ordre de  $61.018 \pm 0.223$  mg **EAG/ g ES** puis  $44.989 \pm 0.634$  mg **EAG / g ES** dans l'extrait acétone des feuilles et des tiges simultanément.

Ensuite l'évaluation de l'activité antioxydante est mesurée en utilisant le pouvoir antiradicalaire et réducteur des extraits de *T.africana*. En terme de capacité antioxydante totale, les extraits de tige des deux solvants ( $568.272 \pm 18.042$ ) mg **EAA/g ES** avaient une activité antioxydante élevée ( $186.541 \pm 4.126$ ) mg EAA/ES.

En revanche le test du pouvoir réducteur du fer a montré que les extraits les plus actifs sont ceux des feuilles en acétone (TFAC) et des tiges (TTAC). Par contre le test DPPH• a montré une activité plus élevée dans les extraits de dichlorométhane. Enfin l'inhibition de l'oxydation du  $\beta$ -carotène était significativement faible pour l'extrait des tiges de dichlorométhane.

Ces résultats restent préliminaires ce qui nécessite d'autres études approfondies.

# Références bibliographiques

- Abouzid, S.F., Ali, S.A., Choudhary, M.I. (2009). A new ferulic acid ester and other constituents from *Tamarix nilotica*. *Chem. Pharm. Bull.* 57 : 740–742.
- antimicrobial activities of halophytic species. *J. Ethnopharmacol.* 116 : 258–262.
- Bandoniene, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D. (2002). Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH methods. *Eur. Food Res. Technol.* 214 : 143–147.
- Barakat H.H., Nada S.A. Chemical and Biological Investigations of the Constitutive Phenolics of Two Egyptian Folk-Medicinal Plants; A Novel Phenolic from the Galls of *Tamarix aphylla*. *Nat. Prod. Sci.* 1996 ; 2 : 96–101.
- Bougatef, A., Hajji, M., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food. Chem.* 114 : 1198–1205.
- Chekroun-Bechlaghem. N., Belyagoubi-Benhammou. N., Belyagoubi. L., Gismondi. A., Nanni. V., Di Marco. G., Canuti. L., Canini. A., El Haci. I. A., Atik Bekkara. F. (2019). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Tamarix africana*, *Arthrocnemum macrostachyum* and *Suaeda fruticosa*, three halophyte species from Algeria. *Plant Biosys.* 1724-5575.
- Chopra RN . Nayar SL. Chopra IC (2000) Glossary of Indian Medicinal plants.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing Phenolic compounds. *Food Chem.* 97 : 654–660
- Dupont, F., Guignard, J.L. (2007). Abrèges botanique systématique moléculaire. (Eds14) révisée, Masson.
- Gazi, M.R., Kanda, K., Yasuda, M., Kato, F. (2004). Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor* pak. *J. Biol. Sci.* 7 : 1365–1370.
- Ghazghazi.H., Chedia,A., Abdererazak,M. et Brahim,H. 2013. Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbial. Hyg. Alim.* 73(25) : 37-41

- Khabtane, A., Rahmoune, C. (2010). Contribution à de l'étude de l'effet du biotope sur la et historique des tamaris (*Tamarix* sp., Tamaricaceae) et leurs usages actuels en Afganistan. *Phytothérapie*. 6 : 248–251.
- Khabtane, A., Zeraib, A., Aouidane, L., Kara Ali, W., Belguidoum, F.Z., Rahmoune, C. (2017). In vitro evaluation of the antimicrobial activity and the antioxidant activity of the flavonoids extracted from the flowers of the *Tamarix africana* Poir. *Int. J. Biosci.* 11 :417–426.
- Khennouf. S.. Benabdallah. H.. Gharzouli. K.. Amira. S.. Ito. H.. Kim. T.H.. Yoshida. T..Gharzouli. A. (2003). Effect of tannins *Quercus suber* and *Quercus coccifera* leaves on ethanol-induced gastric lesions in mice. *J. Agric. Food Chem.* 51 : 1469–1473.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol. Biochem.* 45 : 244–249
- Lafhal, M., Benahmed, M., Louaar, S., Zallagui, A., Duddeck, H., medjrroubi, K., Akkal, S. (2010). Antimicrobial Activity of *Tamarix gallica* L. Extracts and Isolated Flavonoids. *Adv. Nat. Appl. Sci.* 4 : 289–292
- Lhuillier, A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *Agauria polyphylla* Baker (ericaceae), *Tambourissa trichophylla* baker (monimiaceae) et *Embelia concinna* baker (myrsinaceae). Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France. p 200.
- Mahfoudhi A.. Prencipe F.P.. Mighri Z.. Pellati F. (2014). Metabolite profiling of polyphenols in the tunisian plant *tamarix aphylla* (L.) Karst. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 99:97–105. doi: 10.1016/j.jpba.2014.07.013.
- Majumder P.. Paridhavi M. (2013). A comprehensive ethno-phyto-pharmacological review on novel Indian medicinal plants used in polyherbal formulations. *Int. J. Phytomed.* 5 : 394–414.
- Meot-Duros, L., Le Floch, G., Magné, C. (2008). Radical scavenging, antioxidant and
- Mohammedi, Z., Atik-Bekkara, F. (2012). HPLC-UV Analysis and Antioxidant Potential of Phenolic Compounds from Endemic Shrub of Arid Environment *Tamarix pauciovulata* J. Gay. *J. Life Sci.* 6 : 883–891
- Mustafa Akhlaq A.M. (2011). New phenolic acids from the galls of *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *Int. Res. J. Pharm.* 2 : 222–225.

- Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. (Eds 3), CNRS, Paris. p 512, 662.
- Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Koleva, I., Ilieva, M. (2002). Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures. *Z Naturforsch C*. 57 : 640–644.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*. 269 : 337–341.
- Quézel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition CNRS, Paris richesse floristique et variabilité morphologique chez le *Tamarix* sp. dans les zones arides
- Saidana, D., Mahjoub, M.A., Boussaada, O., Chriaa, J., Cheraif, I., Daami, M., Mighri, Z., Helal, A.N. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of volatile compounds of *Tamarix boveana* (Tamaricaceae). *Microbiol. Res*. 163 : 445–455.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci. Technol. Int*. 4 : 391–399.
- Sharma, S.K., Parmar, V.S. (1998). Novel constituents of *Tamarix* species. *J. Sci. Ind. Res*. 57: 873–890.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A.Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphor molybdic phospho tungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic*. 16 : 144–158.
- Sultanova, N., Makhmoor, T., Abilov, Z.A., Parween, Z., Omurkamzinova, V.B., Atta-urRahman., Iqbal Choudhary, M. (2001). Antioxidant and antimicrobial activities of *Tamarix ramosissima*. *J. Ethnopharmacol*. 78 : 201–205.
- Sultanova, N., Makhmoor, T., Abilov, Z.A., Parween, Z., Omurkamzinova, V.B., AttaurRahman., Iqbal Choudhary, M. (2001). Antioxidant and antimicrobial activities of *Tamarix ramosissima*. *J. Ethnopharmacol*. 78 : 201–205.
- Sultanova, N., Makhmoor, T., Yasin, A., Abilov, Z.A., Omurkamzinova VB, Atta-ur-Rahman, Choudhary M.I. (2004). Isotamarixen - a new antioxidant and prolyl endopeptidaseinhibiting triterpenoid from *Tamarix hispida*. *Planta Med*. 70 : 65–67.

- Sultanova. N. Makhmoor. T.Abilov. Z.A. Parween. Z Omurkamzinova. V.B. Atta-urRahman. Iqbal Choudhary. M. (2001). Antioxidant and antimicrobial activities of *Tamarix ramosissima*. *J. Ethnopharmacol.* 78 : 201–205.
- Sun, T., Ho, C.H. (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem.* 90 : 743–749.
- Unten, L., Koketsu, M., Kim, M. (1997). Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on  $\beta$ -carotene. *J. Agr Food. Chem.* 45 : 2009–2019.
- Wang, B., Ren, S., Li, G., Guan, H. (2009). Studies on antitumor steroids and flavonoids from *Tamarix chinensis* Lour. *Chin. Pharm. J.* 44 : 576–580.
- Younos. C.. Soulimani. R.. Seddiqui. N.. Baduri. O.. Dicko. A. (2005). Etude ethnobotanique et historique des tamaris (*Tamarix* sp.. Tamaricaceae) et leurs usages actuels en Afganistan. *Phytothérapie.* 6 : 248–251.

## Résumé

Afin de valoriser les plantes médicinales de notre pays, nous avons étudié une espèce appelée "*Tamarix africana Poiret*". C'est une halophyte qui tolère des concentrations élevées en sels donc elle est riche en composants chimiques dotés d'activités biologiques intéressantes.

Notre travail comprend d'abord la quantification des composés phénoliques suivi de l'évaluation de l'activité antioxydante. Pour cela des extraits dichlorométhane et acétone des feuilles et des tiges sont préparés. Le dosage des polyphénols est effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu ensuite l'activité antioxydante est réalisée par quatre techniques complémentaires qui sont : la capacité antioxydante totale, le piégeage de radical libre DPPH, le test de blanchiment B- carotène, et la réduction du fer.

Les fortes teneurs en polyphénols ( $61.0189 \pm 0.223$  mg EAG/ g ES) ont été enregistrées dans l'extrait acétone des feuilles.

L'évaluation du pouvoir antioxydant montre que l'extrait acétone des tiges de *T. africana* possède une forte capacité antioxydante totale ( $779.373 \pm 0.741$  mg EAA/g ES) alors que l'extrait dichlorométhane des tiges présente la capacité réductrice la plus importante ( $EC50 = 0.793 \pm 0.021$  mg/ml). Les extraits présentent des propriétés antioxydantes moins importantes que l'acide ascorbique.

**Mots clés :** *Tamarix africana*, Phénols totaux, Activité Antioxydante.

## Abstract

In order to enhance the medicinal plants of our country, we studied a species called "*Tamarix africana Poiret*." A halophyte tolerates high concentrations of salts so it is rich in chemical components with interesting biological activities.

Our work included first the quantification of phenolic compounds followed by the evaluation of antioxidant activity. For this purpose, dichloromethane and acetone extracts of leaves and stems were prepared. The determination of polyphenols was carried out by the method of Folin-Ciocalteu then the antioxidant activity was carried out by four complementary techniques, which are the total antioxidant capacity, the trapping of free radical DPPH, the  $\beta$ -bleaching test carotene, and iron reduction.

High values of polyphenols ( $61.0189 \pm 0.223$  mg EAG/g ES) were recorded in the acetone extract of the leaves.

The evaluation of antioxidant potency showed that the acetone extract of the stems of *T. africana* had a strong total antioxidant capacity ( $779.373 \pm 0.741$  mg EAA/g ES) while the dichloromethane extract of the stems had the most important reducing capacity ( $EC50 = 0.793 \pm 0.021$  mg/ml). The extracts had less important antioxidant properties than ascorbic acid.

**Keywords:** *Tamarix africana*, Total phenols, Antioxidant Activity

## المخلص

من أجل تعزيز النباتات الطبية في بلدنا، درسنا نوعاً يسمى "*Tamarix africana Poiret*" إنه هالوفيت يتحمل تركيزات عالية من الأملاح لذا فهو غني بالمكونات الكيميائية ذات الأنشطة البيولوجية المثيرة للاهتمام.

يتضمن عملنا أولاً التحديد الكمي للمركبات الفينولية متبوعاً بتقييم النشاط المضاد للأكسدة. لهذا الغرض يتم تحضير مستخلصات ثنائي كلورو الميثان والأسيتون من الأوراق والسيقان. يتم تحديد البوليفينول بطريقة Folin-Ciocalteu ثم يتم تنفيذ النشاط المضاد للأكسدة من خلال أربع تقنيات تكملية وهي: القدرة الإجمالية لمضادات الأكسدة، ومحاصرة الجذور الحرة • DPPH، واختبار كاروتين التبييض B، وتقنية ارجاع الحديد.

تم تسجيل نسبة عالية من البوليفينولات ( $61.0189 \pm 0.223$  ملغ EAG/g ES) في مستخلص الأسيتون من الأوراق.

ويبين تقييم الفعالية المضادة للأكسدة أن مستخلص الأسيتون من سيقان *T. africana* لديه قدرة إجمالية قوية على مضادات الأكسدة ( $779.373 \pm 0.741$  ملغ EAA/g ES) في حين أن مستخلص ثنائي كلورو الميثان من السيقان لديه أهم قدرة تخفيض ( $EC50 = 0.793 \pm 0.021$  ملغم/مل). (المستخلصات لها خصائص مضادة للأكسدة أقل أهمية من حمض الأسكوربيك.

**الكلمات المفتاحية:** *Tamarix africana*، المركبات الفينولية، نشاط المضاد للأكسدة