



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Kasdi Merbah Ouargla
Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière
Département de Chimie

Réf :

Thèse

Présentée par

M^{elle}: GUETTOCHE SAMIRA

En vue de l'obtention du diplôme de
DOCTORAT EN SCIENCES

Option : **CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUE**

THEME

**Etude phytochimique d'*Atriplex halimus* et la détermination de son
activité biologique (Région Ouargla Algérie)**

Soutenue publiquement le : 10/04/2021

Devant le jury composé de

<i>Pr : DOUADI Ali</i>	<i>President</i>	<i>Université Kasdi Merbah d'Ouargla</i>
<i>Dr : ZENLHRI Louiza</i>	<i>Rapporteur</i>	<i>Université Kasdi Merbah d'Ouargla</i>
<i>Pr : SALHI Nesrine</i>	<i>Examineur</i>	<i>Université Kasdi Merbah d'Ouargla</i>
<i>Dr : REBIAI Abdelkarim</i>	<i>Examineur</i>	<i>Université Hama Lakhdar d'el Oued</i>
<i>Pr : BECHKI Lazhar</i>	<i>Examineur</i>	<i>Université Ghardaïa</i>
<i>Pr: OUAHRANI Mohamed Rhida</i>	<i>Examineur</i>	<i>Université Hama Lakhdar d'el Oued</i>

Dédicace

Avant de dédier ce travail je tiens d'abord à remercier le tout puissant qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail

Je dédie ce travail à la mémoire du Professeur Sakhri Lakhdar l'encadreur de cette thèse qui nous a quittés après son décès en 2019. Je prie Dieu le tout-puissant pour qu'il lui accorde le repos éternel.

Je dédie ce travail à mes parents

A mes sœurs Fatima, Noura, Houria, Hafsa, Sara

A mes frères Mohamed, Noureddine, Yacoube, Brahime

Mon oncle coté de ma mère Chikh

A mes proches amis

A mes collègues

A tous les membres de ma famille

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse s'est déroulé au laboratoire de Génie des Procédés de la Faculté des Sciences Techniques, Université Kasdi Merbah Ouargla en collaboration avec le laboratoire de INRAP de Tunisie. J'ai trouvé au laboratoire INRAP un cadre propice à la recherche et bonne condition de travail. Que ZATOOR Amira et BEN CHABANE Hadia en soient remerciés.

Professeur SAKHRI Lakhdar

﴿ رحمه الله واسكنه فسيح جنانه ﴾

J'ai initié ce travail avec monsieur SAKHRI Lakhdar professeur à l'Université Kasdi Merbah d'Ouargla. Le professeur nous a quittés pendant janvier 2020. Je remercie chaleureusement mon directeur de thèse Monsieur le Professeur Sekhri Lakhda, et lui exprime mon immense reconnaissance de m'avoir encadré avec gentillesse et bienveillance, ainsi que pour ses qualités pédagogiques et l'enthousiasme communicatif dont il avait su faire preuve. C'est à la fois un privilège et une expérience exceptionnelle d'avoir pu bénéficier de ses conseils.

Que dieu le tout puissant le loge en Paradis

C'est avec émotion que j'achève ce travail avec Madame Louiza ZENKHRI, Docteur à l'Université Kasdi Merbah d'Ouargla, avec qui j'éprouve une grande sympathie et une sincère reconnaissance. C'est grâce à son soutien, sa confiance et compétence que ce travail a pu aboutir après le décès de mon encadreur.

J'exprime ma profonde gratitude à monsieur DOUADI Ali professeur à l'Université Kasdi Merbah d'Ouargla qui me fait l'honneur de présider ce jury.

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur BECHKI Lazhar, Professeur à l'Université de Ghardaïa, Monsieur OUAHRANI Mohamed Rhida, Professeur à l'Université Hama Lakhdar d'el Oued, Monsieur REBIAI Abdelkarim Professeur à l'Université Hama Lakhdar d'el Oued et Madame SALHI Nesrine Professeur à l'Université Kasdi Merbah d'Ouargla, pour avoir accepté de juger ce travail. Leur présence à ce jury est un honneur.

Un grand merci pour mes collègues et amis qui ont contribué par leur soutien et amitié, chacun à sa façon à la progression de mon travail dans une ambiance toujours amicale et stimulante (Benzahi Khadidja et Bencaci Samira, Charbi Rokia).

J'adresse un grand remerciement aux assistants de laboratoire INRAP à Tunisie, pour leurs aides, leur disponibilité pour leurs nombreux conseils et la bonne humeur et gentillesse

et le temps qu'ils ont pu consacrer pour m'aider dans les analyses, l'identification des flavonoïdes qui ont fait l'objet de ce travail.

Mes remerciements les plus respectueux vont à monsieur Ahmed Tabchouche, pour son soutien et disponibilité au laboratoire.

Un grand remerciement à mes amies et collègues enseignants de laboratoire de Valorisation et Promotion des ressources sahariennes de la Faculté des Mathématique et des Sciences de la Matière, pour les bons moments passés ensemble.

Je termine par remercier toute ma famille pour avoir cru en moi et d'être toujours à mes côtés de moi.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de valorisation des extraits de la plante médicinale *Atriplex halimus*, de la région d'Ouargla sud-est de l'Algérie, connu par son utilisation traditionnelle pour des fins thérapeutiques.

L'estimation quantitative des flavonoïdes et polyphénols totaux par la méthode des tests préliminaires a montré que les extraits sont riches en ces composés. Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant trois solvants : le dichlorométhane, acétate d'éthyle et le butanol.

Les résultats des tests de reconnaissance des ions par la technique de flamme et d'ICP-AES montrent que la plante est caractérisée par un statut ionique avec des teneurs élevées en sodium et potassium et une faible teneur en calcium.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur six souches bactériennes selon la méthode de diffusion des disques, la concentration de l'activité inhibitrice manifestée pour les trois extraits sur les bactéries : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterococcus faecium* ATCC 19434, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus B*, et *Candida albicans* ATCC 10231. L'activité maximale et le diamètre de l'inhibition maximale ont été trouvés 19.75 mm pour une concentration 15 µl ; avec l'extrait de dichlorométhane.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante en utilisant le test de DPPH^{*}, de piégeage des radicaux libres pour les extraits de dichlorométhane, acétate d'éthyle et butanol a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle a un effet antioxydant plus élevé que les autres extraits. La capacité anti-oxydante EC₅₀ a été estimée respectivement : 23.20 mg/ml, 11.75 mg/ml et 57.16 mg/ml.

Mots clés : Flavonoïdes, *Atriplex halimus*, activité antibactérienne, activité antioxydante, extraction.

Abstract

This work is inscribed in the frame of valorization extracts of medicinal plant (*Atriplex halimus*), of Ouargla area South-East the Algéria, which is known for its therapeutic effect.

The quantitative estimation of total flavonoids and polyphenols by the preliminary tests has shown that the extracts are rich in these compounds. The organic extracts were obtained by maceration using three solvents: dichloromethane, ethyl acetate and butanol.

The result of ion recognition tests by the flame and ICP-AES method ascend that the plant is characterized by an ionic status with high contents in sodium, potassium and low contents in calcium.

Antimicrobial activity was determined using six bacterial strains according to the disk diffusion assay, the bacterial activity against all the tested bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739, *salmonella typhimurium* ATTC 14028, *enterococcus feacium* ATTC 19434, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *streptocoque B*, and *candida albicans* ATCC 10231, where the maximum activity was recorded against *Enterococcus feacium* and the maximum inhibition diameter of 19.75 mm with the EtOH/water extract at concentration 15 µl ; whereas the dichloromethane .

The antimicrobial efficiency was determined on five bacterial strains according to the disk diffusion method; the concentration of the inhibitory efficiency is manifested for the three extracts on the bacteria: *Escherichia coli* ATCC 8739, *salmonella typhimurium* ATTC 14028, *enterococcus feacium* ATTC 19434, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, and *candida albicans* ATCC 10231. The maximum activity held for *Enterococcus feacium* and the diameter of maximum inhibition is found 15.50 mm for a concentration of 5 µl, with dichloromethane extract.

Anti-oxidant activity evaluation using DPPH free radical scavenging test for dichloromethane, ethyl acetate and butanol extracts showed that éthyle acétate has antioxidant effect higher than other extracts. The EC50 estimated for extracts dichloromethane , ethyl acetate and butanol was respectively 23.20 mg/ml, 11.75 mg /ml et 57.16 mg /ml.

Key words: Flavonoid, *Atriplex halimus*, antibacterial activity, antioxidant activity, extraction.

ملخص

يعرف نبات القطف بأنه نبتة طبية تنتمي إلى عائلة السرمقيات *chenopodiaceae*، تنتشر هذه النبتة في الصحاري والمناطق الجرداء وخاصة في منطقة البحر الأبيض المتوسط تتواجد بصفة خاصة في جنوب الجزائر . بالنسبة لهذا العمل تم الحصول على المستخلصات العضوية لهذه النبتة بواسطة النقع وذلك باستعمال ثلاث مذيبات عضوية، الديكلوروميثان اسيتات الايثيل و البوتانول ثم تم تحديد المحتوي الفينولي الكلي عن طريق الاختبارات الأولية الذي يؤكد وجود نسبة معتبرة من الفلافونويدات.

التحليل لمعرفة التركيب الايوني او المعدني عن طريق تقنية الشعلة و ICP-AES يدل على ان النبتة تتميز بتركيبه ايونية بمقدار عالي في نسبة الصوديوم والبوتاسيوم ونسبة ضعيفة نوعا ما في مقدار الكالسيوم.

حددت النشاطية المضادة للميكروبات ونصف القطر الأعظمي للتثبيط لستة سلالات بكتيرية بطريقة الأقراص، بأخذ تركيز 15 µg كتركيز فعال للمستخلصات الثلاثة، فكانت النتائج كالتالي:

Escherichia coli ATCC 8739 12.5mm; *enterococcus faecium* ATTC 19434 19.75mm;

Staphylococcus aureus ATCC 6538 mm11.5 ; *streptocoque B*, 13.5 mm ;

candida albicans ATCC 10231, 14.25mm.

قدرت النشاطية المضادة للاكسدة باستعمال طريقة تقنية ارجاع الجذور الحرة DPPH فوجد مستخلص اسيتات الايثيل هو الأكثر فعالية من بين الخلاصة المدروسة و ان قيمة الفعالية المضادة للاكسدة EC₅₀ بالنسبة للمستخلصات الديكلوروميثان اسيتات الايثيل و البوتانول علي الترتيب كما يلي: 23.20 mg/ml l، 11.75 mg /ml، 57.16 mg /ml.

الكلمات المفتاحية: الفلافونويدات، القطف، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للاكسدة، استخلاص.

Tableau de matière

Remerciements	
Introduction générale	1
Chapitre I : ETUDE THEORIQUE	
I-1 Description botanique de l' <i>Atriplex halimus</i>	4
I-1-1 Taxonomie	4
I-1-2 Morphologie de l' <i>Atriplex halimus</i>	5
I-1-3 <i>Objectif et problématique</i>	7
I-1-4 Localisation géographique	7
I-1-5 Utilisation traditionnelle de l' <i>Atriplex halimus</i>	8
I-1-6 La composition chimique d' <i>Altriplex halimus</i>	8
I-2 Etude bibliographique de l' <i>Altriplex halimus</i>	9
I-3 Description des polyphénols et flavonoïdes	15
I-3-1 Générale sur les composés phénoliques	14
I-3-2 Flavonoïdes	15
I-3-3 Les tanins	15
I-3-3-1 Les catégories des tanins	15
I-3-3-2 Les propriétés biologiques	16
I-3-3-3 Utilise en voix externe	16
I-3-3-4 Utilise en voix intérieur	16
I-3-4 Les Alcaloïdes	16
I-3-4-1 Les propriétés biologiques	17
I-3-5 Les saponosides	17
I-3-5-1 L'activité biologique	17
I-3-6 Les stéroïdes et les terpènes	17
I-3-6-1 Les propriétés biologiques	18
I-4 Etude sur les flavonoïdes	18
I-4-1 Découvert des flavonoïdes	19
I-4-2 Localisation et distribution des flavonoides	19
I-4-3 Propriétés physico-chimiques	20
I-4-4 Structure des flavonoïdes	20
I-4-4-1 Classification chimique	20
I-4-4-2 Structure importants des flavonoïdes	21
I-4-4-3 Biogenèse	23
I-4-4-4 Dosage	24
I-4-5 Propriétés biologique et antioxydant des flavonoides	24
I-4-5-1 Propriétés pharmacologiques	24
I-4-5-2 Propriétés anti-inflammatoires et immunologiques:	25
I-4-5-3 Propriétés antivirales et antibiotiques	25
I-4-5-4 Propriétés antinéoplasiques	26
I-4-5-5 Propriétés antifongique	26
I-4-5-6 Propriétés hépato protecteur	26
I-4-5-7 Propriétés hypotensions	26
I-4-5-8 Propriétés antioxydants	26
I- 4-5-9 Propriétés pro-oxydantes	33

I-5 Notification sur les antibiotiques et souche bactériennes utilisées	33
I-5-1 Les antibiotique	33
I-5-2 Mécanisme d'action antimicrobien	34
I-5-2-1 L'inhibition de synthèse de mure cellulaire	34
I-5-2-2 Inhibition des fonctions de membrane des cellules	34
I-5-2-3 Inhibition de synthèse de protéine	34
I-5-2-4 Inhibition des acides nucléaire	34
I-5-3 Importance germes connus conduit aux maladies	35
I-5-3-1 Escherichia coli	36
I-5-3-2 Salmonella typhimuirium	36
I-5-3-3 Staphylococcus aureus	37
I-5-3-4 Entérocooccus feacium	38
I-5-3-5 Streptocoque	39
I-5-3-6 Candida albicans	39
I-5-4 Les maladies affectées des races bactériennes utilisées dans l'étude antibactérienne	40

CHAPITRE II
TECHNIQUES D'ETUDE ET
CONDITIONS EXPERIMENTALES

II-1 Matériels et méthodes	43
II-1-1 Matériels	43
II-1-1-1 Récolte de la plante	43
II-1-1-2 Le séchage de plante	44
II-1-1-3 Le broyage	44
II-1-1-4 Le stockage	44
II-1-1-5 Solvants	44
II-1-1-5 Réactifs	45
II-1-1-6 Appareillages	46
II-2 Extraction des huiles	47
II-2-1 Les propriétés physiques et chimiques des matières huileuses	47
II-2-1-1 Les propriétés physiques des huiles	47
II-2-1-1-1 La densité spécifique	48
II-2-1-1-2 Indice de réfraction	48
II-2-1-2 Les propriétés chimiques des huiles	49
II-2-1-2-1 Le nombre d'acide	49
II-2-1-2-2 Nombre de saponification	49
II-2-1-2-3 Nombre d'ester	50
II-3 Les tests préliminaires sur la plante <i>d'Atriplex halimus</i>	50
II-3-1 Test des flavonoïdes	51
II-3-2 Test des flavonoïdes libres	51
II-3-3 Test des flavonoïdes glycosides	51
II-3-4 Test des alcaloïdes	51
II-3-5 Test des cardénolides	52
II-3-6 Test de Tanins	52
II-3-7 Test des stérols non saturée et des terpènes	52

II-3-8 Test des saponosides	52
II-3-9 Test des stéroïdes	53
II-3-10 Test des quinones	53
II-3-11 Test des hétérosides cyanogènes	53
II-3-12 Test des anthocyanes	53
II-3-13 Test des coumarines	54
II-4 Extraction des flavonoides	54
II-4-1 L'extraction des huiles par macération	54
II-4-2 Extraction par éthanol-eau	54
II-4-3 L'extraction par dichlorométhane	54
II-4-4 L'extraction par acétate d'éthyle	55
II-4-5 L'extraction par butanol	55
II-5 Test de reconnaissance des ions	57
II-5-1 Test de flamme	57
II-5-2 test de TCP-AES (inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy) le spectrométrie d'émission atomique par torche plasma	58
II-5-3 Le système de détection	58
II-6 Analyses antibacteriennes	58
II-6-1 L'activité biologique des extraits phénoliques de plante <i>Atriplex halumas</i>	59
II-6-2 Etude de l'effet antibactérienne des extraits de plante <i>Atriplex halimus</i> par la méthode de diffusion des disques	59
II-6-2-1 Préparation des disques	59
II-6-2-2 Préparation de milieu alimentaire	59
II-6-2-3 Préparation de suspension bactériale	59
II-6-2-4 Méthode d'implantation	59
II-6-2-5 Distribution des disques	60
II-6-2-6 Processus d'incubation	60
II-6-2-7 Détermination des résultats	60
II-6-3 La sensibilité de bactéries étudiées sur quelque antibiotique	60
II-6-3-1 Ampicilline	60
II-6-3-2 Nystatine	61
II-7-Tests effet antioxydant pour les extraits polyphenolique	61
II-7-1 Test de l'ABTS ou TEAC	61
II-7-2 Teste DPPH	62
II-8 Etude chromatographique des extraits	64
II-8-1 Chromatographie en phase gazeuse split /splitless	64
II-8-2 Mode de détection par la spectrométrie de masse	65
II-8-3 Préparation des échantillons	66

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

III-1 Résultat de rendement de l'extraction des huiles	68
III-2 Evaluation des propriétés physique et chimique	69
III-2-1 Evaluation des propriétés physiques des huiles	69
III-2-2 Propriétés chimiques des huiles	69
III-3 Contenu des tests préliminaire	70

III-4 Teneur d'extraction par éthano/eaul	72
III-5 Résultats des tests des reconnaissances des ions	73
III-6 Résultats des effets antibactériens	75
III-6-1 Effet antibactérienne des trois extraits	75
III-6-2 Changement de valeurs du diamètre d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits	77
III-6-2-1 Test antimicrobien de l'extrait de dichlorométhane	78
III-6-2-2 Test antimicrobien de l'extrait d'acétate d'éthyle	80
III-6-2-3 Test antimicrobien de l'extrait de butanol	82
III-7 Résultats de Test DPPH	86
III-7-1 Test antioxydant de l'extrait 1	86
III-7-2 Test antioxydant de l'extrait 2	86
III-7-3 Test antioxydant de l'extrait 3	87
III-7-4 Test en équivalent de trolox	87
III-7-5 Capacité antioxydant	88
III- 8 Analyse chromatographique en phase gazeuse couplé à la masse des extraits de plante <i>Atriplex halimus</i>	89
III-8-1 Identification des composées phénoliques de l'extrait de l'hexane par CPG-MS	90
III-8-2 Identification des composées phénoliques de l'extrait de dichlorométhane par CPG-MS	91
III-8-3 Identification des composées phénoliques de l'extrait d'acétate d'éthyle par CPG-MS	92
III-8-4 Identification des composées phénoliques de l'extrait de butanol par GPC-MS	93
III-8-5 Formule chimique probable des composées organiques déterminées dans CPG-MS	94
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVE	102
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des tableaux

N° de Tableau	Titre	Page
Tableau I-1	<i>Taxonomie de l'Atriplex halimus</i>	4
Tableau I-2	<i>Composition minérale d'un Atriplex Halimus</i>	9
Tableau I-3	<i>Bibliographe des composées isolées de la plante Atriplex halimus</i>	13
Tableau I-4	<i>Général classification des composés phénolique</i>	15
Tableau I-5	<i>Source alimentaire des flavonoïdes</i>	22
Tableau I-6	<i>Races de la bactérie et quelque maladie affectée</i>	41
Tableau II-1	<i>Paramètres correspondants au ierain Hassi ben abdelah Ouargla</i>	44
Tableau II-2	<i>Liste des solvants utilisés</i>	44
Tableau II-3	<i>Constantes physico-chimiques des solvants</i>	45
Tableau II-4	<i>Descriptif des réactifs utilisés pour cette étude</i>	45
Tableau II-5	<i>Bactéries et antibiotiques utilisés dans l'analyse</i>	46
Tableau III- 1	<i>Rapport de rendement d'extraction en deux solvants</i>	68
Tableau III-2	<i>Propriétés physique des huiles extraites d'Atriplex halimus</i>	69
Tableau III-3	<i>Propriétés chimique des huiles extraire d'Atriplex halimus</i>	69
Tableau III- 4	<i>Taux d'existence pour l'analyse préliminaire de la plante Atriplex halimus</i>	71
Tableau III-5	<i>Rendement et quelque propriétés caractérisés aux extraits obtenus par macération et extraction eau/éthanol</i>	72
Tableau III-6	<i>Teneur en Na, K, Ca dans la plante d'atriplex halimus de flamme et ICP-AES</i>	74
Tableau III-7	<i>Teneur de Na, K et Ca de nigelle</i>	74
Tableau III- 8	<i>Valeurs des diamètres d'inhibition des trois extraits</i>	76
Tableau III- 9	<i>Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait 1</i>	78
Tableau III-10	<i>Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait 2</i>	80
Tableau III- 11	<i>Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait 3</i>	82
Tableau III-12	<i>Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction de variation de concentration des trois extraits pour cinq les souches bactériennes</i>	84
Tableau III- 13	<i>Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition pour l'extrait 1</i>	86
Tableau III-14	<i>Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition pour l'extrait 2</i>	86
Tableau III-15	<i>Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition pour l'extrait 3</i>	87
Tableau III 16	<i>Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition en équivalence de trolox.</i>	87
Tableau III- 17	<i>Valeurs de capacité antioxydant des trois 'extraits</i>	88
Tableau III-18	<i>Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait de l'hexane par CPG-MS</i>	91
Tableau III-19	<i>Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait de dichlorométhane par CPG-MS</i>	92
Tableau III-20	<i>Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait d'acétate d'éthyle par CPG-MS</i>	93
Tableau III-21	<i>Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait de butanol par CPG-MS</i>	93
Tableau III-22	<i>Catégorie des composés organiques distinguées au spectre GPC-MS</i>	94
Tableau III-23	<i>Structure développée des composés organiques distingués au spectre CPG-MS</i>	96

Liste des figures

N ^o de Figure	Titre	Page
Figure I-1	<i>Feuilles et fleurs de l'Atriplex halimus</i>	4
Figure I-2	<i>Image plan de racine, branche, fleur, et graine d'Atriplex Halimus</i>	6
Figure I-3	<i>Distribution de l'Atriplex halimus dans l'Algérie</i>	7
Figure I-4	<i>Squelette de base des flavonoïdes</i>	18
Figure I-5	<i>Structure d'auron (2-benzyliden-coumarone)</i>	19
Figure I-6	<i>Structure important des flavonoïdes</i>	22
Figure I-7	<i>Structure de génine (glucone)</i>	23
Figure I-8	<i>Structure de chalcon</i>	24
Figure I-9	<i>Structure de coumarine</i>	24
Figure I-10	<i>Piégeage des reactive oxygén species par les flavonoïdes (ROS)</i>	27
Figure I-11	<i>Structure de quercétrine</i>	28
Figure I-12	<i>Atomes dépend à la réaction de chelation</i>	28
Figure I-13	<i>Structure du anthocyanosides montrant les nombres d'atome hétéroside des flavonoïdes</i>	29
Figure I-14	<i>Structure de catéchine et du catéchol</i>	29
Figure I-15	<i>Structure du trolox (3,3-dihydroxy-2,5,7,8-tetraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylic acide)</i>	30
Figure I-16	<i>Structure de tocophérol</i>	30
Figure I-17	<i>Structure du morine</i>	31
Figure I-18	<i>Structure de Kaémpférol</i>	31
Figure I-19	<i>Structure de lutéoline .</i>	32
Figure I-20	<i>Position essentiel d'activité antioxydant et biologique des flavonoïdes</i>	32
Figure I-21	<i>Photo microscopique de bacterie escherichria coli</i>	36
Figure I-22	<i>Photo microscopique de bactérie salmonella tyhimiuruim</i>	36
Figure I-23	<i>Photo microscopique de bactérie staphylococcus aureus</i>	37
Figure I-24	<i>Photo microscopique de bactérie enterococcus feacium</i>	38
Figure I-25	<i>Photo microscopique de bactérie streptocoque</i>	39
Figure I-26	<i>Photo microscopique de bactérie candida albicans</i>	39
Figure II-1	<i>Atriplex halimus au niveau de terrain de hassi ben abdelah-Ouargla</i>	43
Figure II-2	<i>Schéma technique de méthode d'extraction de plante</i>	56
Figure II-3	<i>2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl(di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl)iminoazanium)</i>	62
Figure II-4	<i>Décoloration caractéristique de DPPH[•] réduisent</i>	63
Figure III-1	<i>Images de zone d'inhibition des trois extraits</i>	76
Figure III-2	<i>Images des zones d'inhibitions des différentes concentrations de l'extrait 1</i>	78
Figure III-3	<i>Comparaison de concentration inhibitions de l'extrait 1</i>	79
Figure III-4	<i>Images des zones d'inhibitions des différentes concentrations de l'extrait2</i>	80
Figure III-5	<i>Comparaison de concentration inhibitions de l'extrait 2</i>	81
Figure III-6	<i>Images des zones d'inhibitions des différentes concentrations de l'extrait3</i>	82
Figure III-7	<i>Comparaison de concentration inhibitions de l'extrait 3</i>	83
Figure III-14	<i>Indices de capacités antioxydants EC₅₀</i>	88

Liste des abréviations

C₆ : Phénols simples
C₆-C₃-C₆ : Flavonoïdes, Isoflavonoïdes
KOH:Hydroxide de potassium
NH₄OH:Hydroxide d'ammonium
FeCl₃: Trichlorure de fer
MgSO₄:Sulfate de magnésium
NaSO₄ : Sulfate de sodium
H₂SO₄: Acide sulfurique:
D : Densité
m : Masse
m/z : Masse /charge
v/v : Volume /volume
N : Normalité
I_A : Nombre d'acide
I_S : Nombre de saponification
I_E : Nombre d'ester
n_D²⁰ : Indice de réfraction à 20 °C
θ : Température de l'laboratoire
Extrait 1: Extrait de dichlorométhane
Extrait 2 : Extrait d'acétate d'éthyle
Extrait 3: Extrait de butanol
δ (ppm) Déplacement chimique exprime en ppm
λ max : Longueur d'onde maximal d'absorbance λ
tr : Temps de rétention
h: Heur
MS: Matière sèche
MAT: Matière azote totale
CG: Cellulose globale
DPPH':2,2-diphénylpicrylhydrazyl
Trolox : L'acide 3,4-dihydro-6 hydroxy-2,5,7,8 tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2 carboxylique
TEAC : Trolox equivalent antioxidant capacity
EC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %
Kpa : Kilo pascalle
Ψ_m : Moment dipolaire
mM: Concentration milli mole
MHI : Muller Hinton agar
UFC : Standard Mc Farland
Abs : Absorbance
UV : Ultraviolet
I% : Pourcentage inhibitrice
ADN : Acide désoxyribonucléique
ARN : Acide ribonucléique
AFNOR : Association Française de normalisation
TCP-AES: Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy
CPG-MS : Chromatographie sur phase gazeuse, couplé à la masse
HPLC: Chromatographie liquide à haute performance
2D-RMN: Résonance magnétique nucléaire en deuxième dimension
RMN-H¹: Résonance magnétique nucléaire proton
RMN-C¹³: Résonance magnétique nucléaire carbone 13
RPCC: Isolation of natural products by centrifugal preparative chromatography

INRAP: Institut Nationale de Recherche et d'Analyse physico-chimique

Esch-coli: *Escherichia coli*

Salm-typ: *Salmonella typhimurium*

Strap-aur: *Staphylococcus aureus*

Ente-fea: *Enterococcus faecium*

Cand-alb: *Candida albicans*

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leur propriété thérapeutique sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de plante. Actuellement, le développement de la résistance microbiennes aux antibiotiques et antioxydants synthétique ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales.

Des nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes terpènes ect. plusieurs espèces de ce genre de plante sont utilisées en médecine traditionnelle. Parmi les espèces les plus connues en trouve l'*Atriplex halimus* : Cette plante largement utilisées pour traiter les troubles digestifs, les brûlures, les toux grippales, les bronchites et les tumeursect. La composition chimique de cette plante en sels minéral et produits azotés a déjà été déterminé dans des études antérieures.

Le genre *Atriplex* représente une ressource fourragère importante dans les régions arides et semi-arides. Elles constituent un excellent fourrage pour le cheptel et ovins, notamment en raison de disette, en raison de leur rusticité.

L'espèce *Atriplex Halimus* est typiquement méditerranéenne, valorisé d'une manière écologiquement durable aussi bien dans le milieu littoral que celui des régions arides.

Le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier les activités antimicrobienne et anti-oxydant de trois extraits organiques de la plante *Atriplex halimus*, consiste à extraire les molécules bioactif de cette plante (*Atriplex halimus*) récolté du désert algérien.

Ce travail est divisé en trois chapitres, le premier concerne une étude théorique sur l'*Atriplex halimus*, les polyphénols et les flavonoïdes, les bactéries et antibiotiques.

Dans le deuxième chapitre on se dirige vers l'étude de conditions expérimentales et techniques d'analyses.

Le troisième chapitre est consacré à la discussion des résultats obtenus. L'étude est effectuée en plusieurs parties. La première partie de ce travail consiste à faire une extraction

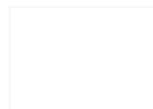
des huiles de cette plante par l'appareil des soxhlet multipoint, puis de déterminer les propriétés physique et chimique de la matière huileuse, les teste préliminaire et le contenu en métaux.

Dans une deuxième partie ; Les activités biologiques des composes polyphenolique des trois extraits bruts, en considérant que les flavonoïdes sont le but dans les tests effectuer

Les activités antioxydants des trois extraits bruts sont évalué et la molécule témoin serait évaluée : le trolox.

Enfin, nous avons réalisé une étude concernant la détection des composés polyphénols, exactement les flavonoïdes par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse.

CHAPITRE I
Etude théorique



I-1 Description botanique de l'*Atriplex halimus*

L'*Atriplex* a plusieurs noms communs attribués indifféremment : pourpier de mer, arroche marine, arroche des sables, sea orache, méditerranéen salta bush ou shrabby orache et en arabe G'atef ou Raghl. Les espèces d'*Atriplex* sont nombreuses. On peut en citer : *Atriplex halimus*, *Atriplex nummularia*, *Atriplex lentiformis*, *Atriplex amnicola*, *Atriplex canescens*, ...ect. Par leur richesse en protéines [1], plusieurs espèces d'*Atriplex* constituent des fourrages de bonne qualité. Où de nombreuses plantations ont été effectuées sur le littoral de la Méditerranée dans notre travail nous somme intéressé à la variété d'*Atriplex halimus* tableau I-1.

I-1-1 Taxonomie

L'*Atriplex halimus* ce classe comme suit

Tableau I-1 : Taxonomie de l'*Atriplex*

Classification	
Règne	plante
sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotylédones ou Magnoliopsida
Sous-classe	Caryphylliadae
Ordre	Caryphyllales
Famille	Chenopodiaceae (amaranthaceae)
Genre	<i>Atriplex</i>
Espèce	<i>Atriplex halimus</i> (<i>Atriplex halimus</i> L)

La figure I-1 représente la photo de la plante *Atriplex halimus*



Figure I-1 : Feuilles de plante d'*Atriplex halimus*

I-1-2 Morphologie de l'*Atriplex halimus*

Atriplex halimus est un arbrisseau halophyte (qui pousse en terrain salé) de 1,5 m à 2 m de haut. Avec son réseau très dense de rameaux dressés à partir du sol, il forme des buissons très touffus, impénétrables. Sa croissance est rapide et il peut s'étendre grâce à ses rejets souterrains [2].

Le feuillage est persistant. Les feuilles sont petites, alternes, pétiolées, de forme ovale à rhomboïdale, entières, de couleur gris argenté sur les deux faces. Les tiges et les feuilles sont recouvertes de petites écailles qui donnent un aspect velouté. L'arroche marine est une espèce trimonoïque (figure I-1), c'est-à-dire qu'un même individu peut porter à la fois des fleurs unisexuées mâles, unisexuées femelles et bisexuées.

Sur un même individu, deux types de fleurs sont observables, dans des conditions climatiques méditerranéennes.

L'*Atriplex halimus* a été souvent citée comme une espèce très polymorphe, probablement en relation avec sa grande amplitude écologique et à sa reproduction allogame dominante, ce polymorphisme se manifeste au niveau de la morphologie des structures végétales qu'au niveau des structures reproductives, la forme des feuilles d'*Atriplex halimus* peut correspondre à celle d'autres espèces du même genre,

Il se manifeste au niveau de la dimension et la forme des feuilles des arbres fructifères et des graines, ainsi qu'un polymorphisme dans la production de la biomasse ce polymorphisme semble être une chénopodiacée [3].

Du point de vue morphologique les chénopodiacées sont caractérisées par des racines profondes et pénétrantes destinées à absorber la plus grande quantité d'eau possible et des feuilles alternées, petites et farineuses ou recouvertes de poils lobés de manière à réduire les pertes en eau dues à la transpiration. La plante adulte est très ramifiée, ayant un aspect blanc argenté à tige dressée d'une couleur jaunâtre ou velouté, fleurs hermaphrodites ou mâles à 5 tépales et fleurs femelles à 2 préfeuilles. L'*Atriplex halimus* fait partie de 10 % d'Angiospermes qui développent des fleurs unisexuées monoïques,

Les racines blanchâtres s'orientent horizontalement pivotées en surface atteignent 3 à 5 fois la longueur de tige.

La plante ramifiée presque 3m diamètre à rameaux terminés par des grappes allongées et un peu ramifiées.

Dotés d'une biomasse aérienne assez importante peut atteindre 1 à 3 m élevé, cette espèce peut atteindre 4 m d'hauteur voir figure I-2.

La période de la fructification le mois d'avril jusqu'en novembre, possède la voie photosynthétique C₄.

L'espèce de l'*Atriplex halimus* présente deux sous espèces

- **La sub sp halimus** s'étend des zones semi arides aux zones humides, facilement identifiable grâce à son port droit caractéristique à branches fructifères très courtes et recouvertes de feuilles [4].
- **La shweinfuthii** très répandue dans les zones arides et désertiques, présent un port broussailleux enchevêtré avec des branches fructifères nues au sommet, fortement lignifiées et pointues [4].

On représentant dans la figure I-2 les photos des branches, fleurs, grains et racine *d'Atriplex halimus* grandi à la région d'Ouargla



Racines *d'Atriplex halimus*



Fleurs *d'Atriplex halimus*



Branches *d'Atriplex halimus*



Graines *d'Atriplex halimus*

Figure I-2 : Image plan de racine, branche, fleur, et graine *d'Atriplex halimus*

I-1-3 Objectif et problématique

Nous avons constaté dans les travaux ultérieurs concernant la plante *Atriplex halimus* en Algérie, un ensemble de travaux correspond la tolérance à la salinité et quelques études sur l'activité antioxydant. Cette plante change ses propriétés et composition chimique en fonction ou elle pousse en Algérie. Malgré ces usage médicaux traditionnels. La varitée atriplex halimus de la région d'Ouargla n'a pas été étudié.

Pour ces raison nous avons pensé à étudier la phytochimie de plante *Atriplex halimus* poussé au désert de Ouargla en Algérie, estimant ses principe active tester au laboratoire et l'autre de profite les bons résultats de traitement de la médecine traditionnelle arabe, en vue d'utilisation pharmaceutique en avenir.

I-1-4 Localisation géographique

Atriplex halimus est originaire d'Afrique (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Égypte, Kenai, Tanzanie, Mozambique, Namibie, Afrique du Sud et Madagascar)[5,6]. Il a été acclimaté autour du bassin méditerranéen [7,8] puis introduit avec succès sur le littoral atlantique. Il est actuellement réparti sur le littoral de la Méditerranée, de l'Atlantique, de la Manche. Il croît à proximité de la mer, sur les dunes fixées et les fourrés. Il est souvent planté pour former des haies et par fois subspontané (figure I-3).

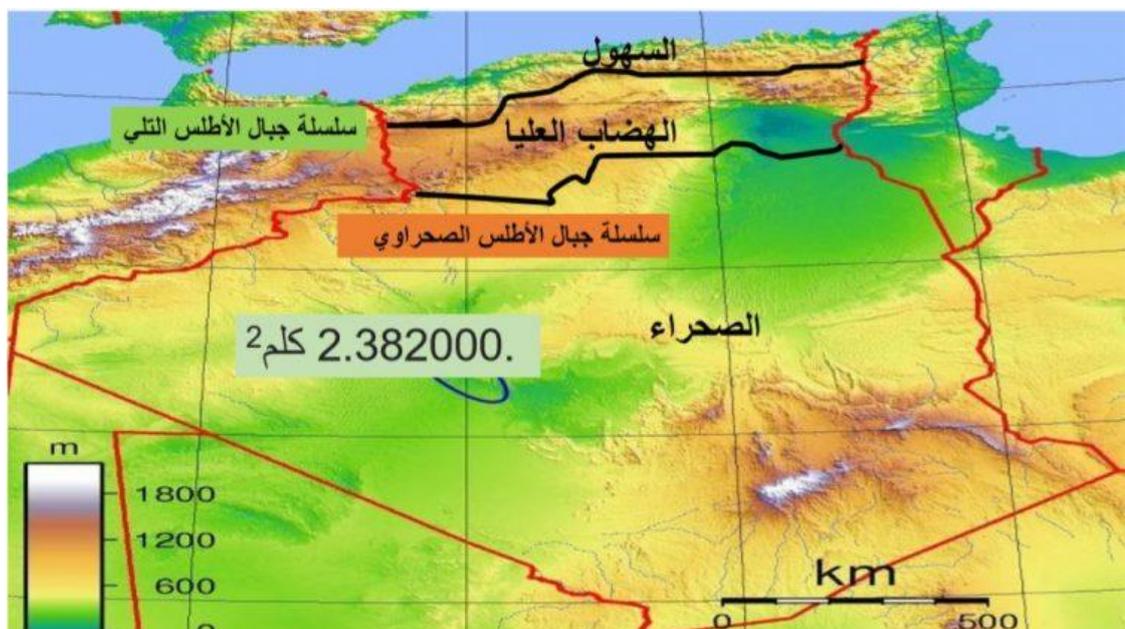


Figure I-3 : Distribution de l'*Atriplex halimus* dans l'Algérie

I-1-5 Utilisation traditionnelle de l'*Atriplex halimus*

Au Maroc, en Algérie et en Tunisie, la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Les pharmacopées régionales s'inspirent principalement de la médecine arabe classique et de l'expérience locale des populations en matière de soins. Elles reflètent à la fois l'histoire des Maghrébins et les spécificités de leur environnement naturel. Aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions médicales et la vie des habitants de cette région du monde, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne [9,10].

Dans les travaux menés par S. Hadjadj et al (2017) sont cité un ensemble d'usage traditionnel dans la région d'Ouargla de la plante en question. Elle est préconisé à sec en adition avec soit du miel, sel gemme avec miel, huile, lait ou beurre local (Dhan), pour les symptômes suivant : Catarrhe stomacal, constipation, diarrhée, gaz, ballonnement, kyste hydatique, fibrome, hypertension. Antiseptique, brulures, diabète, fièvre, jaunasse, anémie, maladie cardiaque, otites, rhumatisme, toux, obésité, tumeur, fatigue, diurétique, vermifuge, urine involontaire, vomissement, blessures et ulcères, angines et goitres, maladie des vésicules biliaires, calmant, fortifier la gencive, stérilité, prostate, chute du placenta, lithiase rénale, hypercholestérolémie [11] .

I-1-6 La composition chimique d'*Atriplex halimus*

- **La composition organique**

La composition organique d'*Atriplex halimus* est dépend de plusieurs paramètres, tels que le climat, l'âge de plante et la saison. Cette matière végétale est très riche en protéines, fibres, en vitamine A, C et D et saponines, alcaloïdes et flavonoïdes [1].

Pourcentage en matière sèche (MS) est de 34.2%

Pourcentage en matière azoté totale (MAT) est de 15.1% par rapport au (MS)

Pourcentage en cellulose brute (CB) est de 15.4% par rapport au (MS)

- **La composition minérale**

Citons dans le tableau I-2 le teneur en composition minérale de la plante *Atriplex halimus* [1].

Tableau I-2 : composition minérale d'un *Atriplex halimus*

Espèce minérale	Teneur en g/kg
Calcium (Ca)	21.5
Phosphore (P)	1.92
Magnésium (Mg)	20.3
Sélénium (Se)	22
Zinc (Zn)	103
Manganèse (Mn)	395

I-2-Etude bibliographique de l'*Atriplex halimus*

L'Atriplex halimus est une plante qui se nourrit dans les cotées et le place de désert. Elle se trouve aux coter des zones désert comme une plante sauvage care elle se nourrir et grandir toute seule sans la réparation de l'agriculture le ferme de terre elle se trouve au l'année de mois de mars à septembre. Elle se grandir malgré le phénomène catastrophique de la nature care elle se résiste la haute température de sécheresse beaucoup cette plant connus comme une plante indispensable à la ville de nordé d'Afrique et les villes méditerranéenne (Algérie, Tunisie et Maroc) elle se trouve aussi au désert de l'Amérique aussi elle se trouve au le golf arabienne aussi peut se trouve au payée de l'Europe, mais par des mauvaises quantités. On peut dire, elle peut être négligeable.

Dans les déserts algérienne elle se trouve à la bonne quantité malgré la haute température ile se grandir aux terre Sali.

Tolérance d'*Atriplex halimus* à la salinité

Les plantules d'*Atriplex halimus* cultivées dans un mélange trouble-sable en présence de CaCl_2 se comportent différemment par rapport au stade de germination, en effet pour une concentration de 8 g/l, il observé une stimulation de la croissance des plantules, il peut être donc utilisée dans la protection des sols contre l'érosion, la valorisation des sols salés pour la production fourragère dans les milieux steppique. Ces résultats montrent que ce végétal peut être cultivé dans des milieux salés steppiques inadaptés à la majorité des espèces végétales cultivées [12]. Quelque plante possède des processive halophyte qui cause grace au rôle de ses glande saline dans les feuille ou elle peut facilement éliminer et éloigner une quantité supplémentaire avec aussi des accumulateurs des sels [13]. Car les sophistique mécanismes des balance osmotique la force des celles de ces plante halophyte sous les conditions des stress saline, comprenant un range des composé fonctionnel tel que le proline, glycine, betaine, et saccharose [14].

En Algérie étude sur *Atriplex halimus* rend les problèmes de salinité exige l'introduction d'une végétale résistante adapté à condition réhabilitation d'un sol dégradés [15]. Ainsi une grande importance doit être attribuée aux espèces du genre *Atriplex*, notamment *Atriplex halimus* qui, grâce à leur caractère xérohalophytique, supportent les conditions climatiques et pédologiques des régions arides et semi-arides [16]. *Atriplex halimus* ; offre une bonne démarche quant à son utilisation dans les programmes de réhabilitation des sols dégradés. D'où l'intérêt de leur étude ou un protocole de callogénèse est initié en étudiant l'influence de plusieurs facteurs sur l'introduction de callogénèses chez *Atriplex halimus* [17]. L'aménagement de ces régions arides en vue d'une amélioration de production de la production de fourrage des parcours passe d'abord par une meilleure connaissance de la biologie et de l'écologie de *Atriplex halimus* [18].

Les graines d'*Atriplex halimus* sont une grande tolérance au stress salinité par rapport aux autres genres des plantes d'atriplex, c'est pour ça qu'on la trouve beaucoup à la population littoral et aux terrains salines. Elle se trouve même dans les sols non salés, ou le taux d'inhibition de la germination varie de 350 à 700 mM de NaCl dans les sols saponines, ou la concentration optimale de germination, varie de 50 à 200 mM de NaCl qui favorise la photosynthèse et la synthèse de sucre. Autre analyse comparative de détermination de l'effet biochimique de cette plante quand elle est dans un milieu salé ou dans l'eau non salé. Le mécanisme déroulé de la réponse à la salinité suggérée, que dans l'eau il apparaît une accumulation de sucrose et glucose fructose et l'éthylène de 15%. L'accumulation relative de l'oxygène spécifique apparaît engagée à la peroxydation membranaire et cause la dégradation de chlorophylle, par contre le milieu salé il apparaît une accumulation de proline qui affecte contre l'oxydation et la régulation de niveau de carbone et le nitrogène de la plante *Atriplex halimus* [19].

La caractérisation de phylloplante de surface des feuilles d'*Atriplex halimus*, en utilisant la méthode colorimétrique mesure de total suspension de envelopper les feuilles est de 0.42mg/cm², après avoir les séchées et dessiccation le déterminées de teneur en humidités 50 µl à 0.2 cm² des gouttes dans les feuilles sèches, en utilisant la technique fluorescence microscopique similaire de acridine orange. Donne une réponse du surface des feuilles au bactérie contient proximité de 10⁴ par cm² de bactéries à la valeur de seuil de l'humidité au hiver donc on conclure que la plante *Atriplex halimus*, les bactéries de genre orange, bactéries symbiose inoffensive vivent au surface des feuilles malgré l'existence élevée des sels minéraux [20].

La population culturel des espèces *d'Atriplex halimus* possède des chromosomes morphologie l'étude sur les numéros de chromosome nucléaire distingue trois numéros de chromosome très abondante, le diploïde, le tétraploïde et le polyploïde son existence dépend à la condition climatique et à la qualité du sol. L'arbuste chenopodiaceae *d'Atriplex halimus* celle la plus vivace est de l'ordre de carbone C₄, trouvée beaucoup dans les sols aride, semi-aride ou très-aride, le diploïde trouvée toujours au côté de bassin méditerranéen, le tétraploïde ça existence dépend à la condition climatique dure et de plus un sol plaquée de plâtre, le polyploïde est des arbustes polyphylétique très aride, accord génétiquement par divers forme écosystèmes qui contribuer la nature [21].

Tolérance *d'Atriplexhalimus* au froid et toxicité

L'Atriplex halimus est capable de résisté à des températures élevée et à la lumière intense en raison mutuelle. Les surfaces des feuilles fassent une reflation de lumière suplimentaire par les cristaux des sels. L'étude des conditions climatique adaptée pour grandir la plante *d'Atriplex halimus* montre que la température optimale est de 35 °C, ce qui concernant la lumière, les champs des radiations actives est plus de 2200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Le PH de sol adoptée est alcaline varie de 7 à 11, avec une conductivité électrique de sol ECs $\geq 4 \text{ ds.m}^{-1}$, [22].

L'adaptation d'osmolyte aux différentes concentrations minérales de *L'Atriplex halimus* avec une température basse, ont examiné la tolérance de cette plante au froid, l'étude a été effectuée à la population *d'Atriplex halimus* dans divers terrain en Tunisie, dans des conditions climatiques d'hiver à la condition de bas température et l'humidité et la tombe de neige. Il est remarqué des trace de la glace sur les feuilles de la plante d'où le taux d'humidité attend 60% dans un milieu de concentration osomolyte de 92.7 milliéquivalent /kg de Na soluble, Les résultats de ce test montre que la tolérance au froid *d'Atriplex halimus* à de valeur de 8 °C de température, peuvent augmenter de -14 à -22 °C dans un milieu d'eau désionisée, montrant les essais de congélation [23].

L'Atriplex halimus peut accumule sur ces feuilles un taux varie de 5.45 à 6.64 mg /kg d'arsenic dans 30 jours dans un sol contient vers 111 mg/kg de arsenic citant que un sol ordinaire contient un taux d'arsenic de 12.7 mg/kg. [24].

Utilisation diverse *d'atriplex halimus*

La capacité de croissance et de production de biomasse *d'Atriplex halimus* et très importante .L'accroissement moyen annuel en biomasse totale avoisine les 58%, permet son

rôle productrice d'unités fourragères, et l'amélioration de matière verte et d'un enracinement profond, des caractéristiques physiques et biologiques des terres menacées par la désertification, en plus permet un point fourrage et une source d'énergie renouvelable pour le chauffage et la cuisson [25]

Grace à la résistance de la plante *Atriplex halimus* au climat dur et sa capacité de grandir dans les sols dégradés. Des bandes de fibre polymère sont préparées, elles comprennent la hémicellulose de *Atriplex halimus* qui est estimée par une quantité de 36% de masse de matière sèche, la bio-composition de la matière de thermoplaste de bande est la fibre naturelle formée de *Atriplex halimus* sont en groupe alternativement pour construire des fortes bandes, résulte un plastique commode et une matière bien attachée [26].

Des analyses de valeur fourrage, d'appétence et de production de phytomasse, montrent l'intérêt que *Atriplex halimus* est dans les régions arides et semi-arides méditerranéennes

La plupart des plantes halophytes produisent des polyphénols et des composés bio-actifs qui peuvent être utiles comme un déjeuner naturel ou un remède traditionnel, ou conservateur des aliments, le travail d'importante recherche montre que les teneurs en flavonoïdes de la plante *Atriplex halimus* dans les feuilles et les tiges sont différentes, ces flavonoïdes peuvent être utilisés comme des antioxydants. Les autres composés tels que les peptides, les acides organiques, et la proline donnent leur activité à la plante *Atriplex halimus* pour jouer le rôle d'un antioxydant et antimicrobien [27]

Effet indésirable de la plante *Atriplex halimus*

La consommation de la plante *Atriplex halimus* ne cause aucun dommage au corps humain. Mais lorsqu'elle est fertilisée avec des engrais anormaux, la substance de tannate se concentre plus et cette substance est présente dans les feuilles ; les graines sont toxiques car elles contiennent des saponines, mais l'absorption de cette substance est minime ; la plante contient un pourcentage élevé d'oxalate. Pour cette raison les personnes souffrant de problèmes rénaux ne doivent pas se multiplier, cette substance se compose généralement d'une combinaison de calcium et d'oxalate, ce qui endommage les reins [28]

Bibliographie des composés isolés à partir de la plante *Atriplex halimus*

La plante est connue comme une plante médicinale traditionnelle. Il a été mentionné dans divers revues de littérature la présence des molécules bioactives jouant le rôle d'antioxydant et/ou antimicrobienne contre les micro-organismes pathogènes. Ces molécules sont responsables de la tolérance aux toxines, au sel, au froid, et de l'accumulation de proline. Des études chimiques et biologiques de quelque métabolisme secondaire ont pu isoler plusieurs composés que nous avons groupés dans le tableau I-3. L'identification de ces composés s'effectue par plusieurs méthodes et techniques d'analyse telles que : (RPCC), spectrométrie UV, RMN- ^1H , RMN- ^{13}C , 2D-RMN, HPLC.

Les tests DPPH effectués pour ces composés montrent que les composés 1 et 8 ont un effet antioxydant plus actif que les autres.

Tableau I-3 : Bibliographie des composés isolés de la plante *Atriplex halimus*

N°	Catégorie	Caractère	Composé	réf
1	Atrépléxosides ($\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{20}$)	Poudre jaune	3'-o-methylquercetin-4'-o- β -apiofuranoside-3-o-(6''-o- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside).	[29]
2			3'-o-methylquercetin-4'-o-(5'''-o- β -oxylopyranosyl- β -apiofuranoside-3-o-(6''-o- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside).	
3			3,4-dimethoxyphenyl-1-o- β -D-glucopyranoside	
4			3, 4,5-trimethoxy phenyl-1-o- β -D-glucopyranoside.	
5			20-hydroxyecdysone.	
6			3 α -hydroxysulfonyloxy-5 α , 6 α -epoxy-7-megastigmen-9-one.	
7			4'-o-methylquercetin-3-o-(6''-o- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside).	
8			5-o-methylquercetin-3-o-(6''-o- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside).	
9	flavonoïdes		Isorhamentin-3-o-glucopyranoside,	[30]
10			Rutin-4'-diméthyl éther	
11			Kaempferol-3,7-dirhinnoside-4'-méthoxide, iso-orietin	
12			4'-méthoxy-7-glucoside-5-hydroxyisoflavone	
13			Naringenin-4'-o-rhamnopyranoside	
14			Hespéridine	

15	Acides aminés		Acide aspartique	[30]
16			Acide glutamique	
17			Proline	
18			Thréonine	
19			Méthionine	
20			Isoleucine	
21			Tyrosine	
22			Histidine	
23			Arginine	
24	Acides gras		Acide palmitoléique	[30]
25			Acide stéarique	
26			Acide myristique	
27	Acides phénoliques		p-hydroxy acide benzoïque	[30]
28			Acide chlorogénique	
29			Acide cinnamique	
30			Acide ferulique	
31			Acide salicylique	
32	carbohydrates		n-eicosane	[30]
33			n-hexacosane	
34			n-octacosane	
35			Squalene	
36	Sucres libres		Raffinose	[30]
37			Fructose	
38			Glucose	
39			Galactose	
40			Ribose	
41	alcaloïdes		Pipérine	[30]
42			Éphédrine	

43			Berberine	
44			Palmatine	

I-3-Description des polyphénols, flavonoïdes et autres composés

I-3-1-Généralité sur les composés phénoliques et autres composés

Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle substitué sur un cycle aromatique, on compte à l'heure actuelle pas loin de 8000 composés [31], Tableau I-4.

Tableau I-4 : Général classification des composés phénolique

Formule brute	Catégorie
C_6	Phénols simple
C_6-C_1	Acide hydrobenzoïque
C_6-C_3	Acide hydroxycinamique, coumarine
C_6-C_4	Naphtoquinones
$C_6-C_2-C_6$	Stibéne, xanthone
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes
$(C_6-C_1)_n$	Isoflavonoïdes
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes
$(C_6-C_3)_n$	Lignines
$C_6-C_2-C_6$	Tanins condensés, catchols

I-3-2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composées appartenant à la famille des polyphénols de formule fondamentale $C_6-C_3-C_6$ trouvée dans tous les hauts organes des plantes [31].

I-3-3 Les tanins

Les tanins sont des composée phénolique a une masse moléculaire précisé entre 500 g/mol et 3000 g/mol en plus des réactions phénolique on peut trouver des réactions de précipitation des alcaloïdes et des gels et des protéines [32].

I-3-3-1 Les catégories des tanins

a-Tanins soluble dans l'eau ou tanins hydrosoluble

les tanins hydrosoluble sont des composés polyester résultent de réaction de sucre avec l'acide phénolique, souvent (le sucre, est le glucose et l'acide phénolique et l'acide gallique) dans le cas des tanins gallique ou bien l'acide hexahydroxidiphenique (HHDP) dans le cas des acide ellagique.

b- Les tanins condensés ou proanthocyanidols

L'élément principal de ce polymère et Flavont-3-ol lié à travers la liaison carbone-carbone souvent elle prend la position 4-8 ou la position 4-6. Ces tanins ne reforment pas du sucre dans leurs structures.

I-3-3-2 Les propriétés biologiques

Les utilisations de médicament qui comprend les tanins et très précisée par conséquence elle se liee avec sa tendance aux molécules protéiniques.

I-3-3-3 Utilisation en voix externe

Les tanins ne s'épuisent pas sur les couches extérieure de la peaux ou au membrane muqueuse, ils ont une bon protection et peuvent même protéger la couche interne, ils ont une activité au niveaux de petite veine superficielle, ils éliminent le perte des fluide et les obstacle des agression extérieur et travaille aussi pour renouveler les tissus dans le cas des brulure ou les blessure [33,34] .

I-3-3-4 Utilisation en voix intérieur

Les tanins se distinguent par les activités suivante ; anti-diarrhée, anti-bactrienne, antifongique, anti-pourriture, anti –inflammatoire, travaille à faire les tissues constrictions que diminue les sécrétions ou saignement, insecticide et aussi peut avoir une équilibre de circulation sanguine [33,34].

I-3-4 Les Alcaloïdes

Le terme alcaloïde est définie pour la premier fois par W .Meisner à 1819 sur des produits naturelles à un comportement basique, au jour d'huit on donne le nom alcaloïde au produits azotiques basique venant de plantes, généralement son des composés de multi structure comporte une fonction d'amine. Ces fonction d'acide aminé souvent à des propriétés toxique dans le cas pure, par contre on des activités pharmaceutique importante.

Les alcaloïdes en une masse moléculaire varie entre 100 à 900 g/mol , les plus part des alcaloïdes non oxygénée son des composées liquides au température ambiante , les autre alcaloïdes oxygénés son des composées solide cristallisées décompose au température 200 °C , les alcaloïdes son des composées incolores on la propriété de polarisée la lumière , son solubilités dépend au degré d'acidité dans les solvants [33,34] .

I-3-4-1 Les propriétés biologiques

Certain alcaloïdes son connus par leurs activités médicinal tell que le vin-blastine qu'on le peut extraire de plante Calharanthus Rosrus qui s'utilise comme un traitement de cancer, en autre ces composées peuvent affecter sure le centre du system nerveux comme des inductions tel que la caféine ou l'atroubine qui peut diminuer le spasme, et soulager la douleur [33,34].

I-3-5 Les saponosides

Les saponosides sont des terpènes glycosylés, ils peuvent être des stéroïdes glycosylés, et généralement sont des hétérosides d'origine végétale, ayant des propriétés moussantes capable d'agir sur la perméabilité des membranes, son soluble dans les alcools méthyliques et non soluble dans le chloroform et l'éther de pétrole ont une température de fusion élevés confiné entre 200 °C et 300 °C [33,34].

I-3-5-1 L'activité biologique

Les saponines connu comme des matières préliminaire ou essentielle de fabrication des médicaments stéroïdiques, ce sont des substances actives avec des caractéristiques anti-inflammatoires, antifongiques, anti-diabète, utilisées aussi pour le traitement de l'hémorroïde, et les ulcère gastrique et parfois comme des antibiotiques, elles sont considérées comme des produits toxiques pour les animaux de sang-froid tell que les poissons [33,34].

I-3-6 Les stéroïdes et les terpènes

Les terpènes son des hydrocarbonées naturelles, responsable de donner une odeur parfaits au plante, les stéroïdes prend souvent une fonction alcoolique c'est pour ça on peut les appels des stérols l'ancien stérol connus est le cholestérol, les terpènes et stéroïdes constitue le ratio la plus importante des métabolismes secondaire des plantes [33,34].

I-3-6-1 Les propriétés biologiques

Les stéroïdes et les terpènes ont une importance thérapeutique dans plusieurs domaines. Elles sont connues comme des antivirus, insecticides, anti-inflammatoires et dans le soulagement des douleurs. Prenons par exemple les terpènes qui sont utilisées comme des antispasmodiques, anticonvulsivants, règle le battement cardiaque, aussi les propriétés anti-stress, et autre anti-oxydant et anti cancéreuses. Les stéroïdes ont un rôle dans les hormones fonctionnement, donc elle règle la croissance des organes, on plus l'augmentation de pouvoir des cellules pour la division de protection, aussi on trouve des médicaments steroïdiques utilisées dans le traitement de rhumatisme et l'asthme [33,34].

I-4- Etude sur les flavonoïdes

Les flavonoïdes occupent une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes on estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthetisé par les plantes soit quelques 109 tonnes par an est converti en flavonoïdes [35].

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par Geisseman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette ($C_6-C_3-C_6$) deux unités aromatique de cycle en C_6 A et B, relier par une chaîne en C_3 souvent de pyrone voire figure I-4. Provenant du mot latin flauvs qui signifie jaune [36].

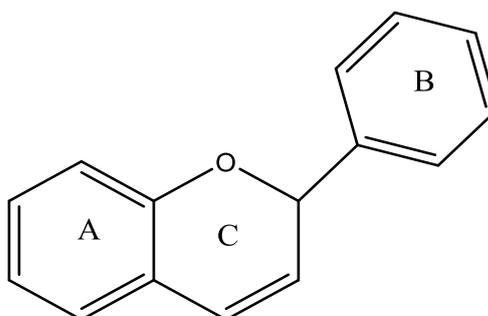


Figure I-4 : Squelette de base des flavonoïdes.

Les aurones sont une autre molécule naturelle sous classe de la famille des flavonoïdes sont des dérivés de chalcone. Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidene-coumaranone, figure I-5.

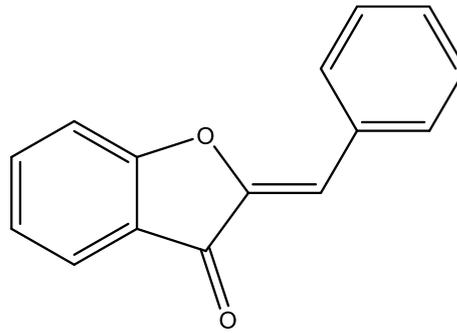


Figure I-5 : Structure d'auron (2-benzylidene-coumaranone)

I-4-1 Découvert des flavonoïdes

L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C, à la suite des travaux de Szent Gyorgyi en 1938 la scorbut expérimental cédé à l'ingestion de jus d'agrumes mais résiste à la seule administration d'acide ascorbique, plus pratiquement, les symptômes hémorragiques du scorbut liés à la fragilité des vaisseaux sont guéris par des extraits de paprika et du citron alors que l'acide ascorbique seul est inefficace. Les analyses chimiques ont montré que la fraction active était de nature flavonoïques. Cette action des flavonoïdes sur la perméabilité vasculaire a été appelée propriété vitaminique P (p étant la première lettre du mot perméabilité). Cette notion de vitamine p n'existe plus à l'heure actuelle puisqu'elle ne correspond pas à la définition classique des vitamines les flavonoïdes sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxydants ou possèdent des propriétés biologiques diverses [37].

I-4-2 Localisation et distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. On signale environ 2 % de la proportion du carbone photosynthétique global incorporé dans la biosynthèse flavonoïque. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. De plus leur localisation au sein de la plante est caractéristique. En effet, les flavonoïdes sont omniprésents dans organes aériens jeunes ou ils sont localisés dans les tissus superficiels [38].

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux lorsque les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de

génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyles [39]

En définitive, les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal ils sont largement abondants dans les légumes feuilles (salade, choux épinards, etc.) ainsi que dans les téguments externes des fruits. On les trouve principalement dans les agrumes : citrons, orange, pamplemousses et dans une moindre mesure : abricots, cerise, mures, papayes, tomates, et sarrasin. On en trouve également en quantité importante dans nombreuses plantes médicinales et très spécifiquement dans les herbes aromatiques comme le thym, le persil, le romarin et le céleri [40].

Donc les flavonoïdes sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques très répandus chez les végétaux, ils sont responsables de la couleur des fleurs, des fruits et même des feuilles.

I-4-3 Propriétés physico-chimiques

Ce sont des solides cristallisés ou dans rare cas des solutés, dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif. Solubles dans l'eau et dans de l'alcool, surtout à chaud. Solubles dans les solutions alcalines (la potasse, l'ammoniaque) en donnant une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide. Les solvants formant une liaison hydrogène avec les flavonoïdes influent sur leurs solubilités [41].

I-4-4 Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone, fait de deux cycles benzéniques C_6 reliés par une chaîne en C_3 le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone, la distinction des sous-classes se fait sur la conformation de structure centrale C on peut distinguer notamment dans les flavonoïdes.

I-4-4-1 Classification chimique

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en une douzaine de classe selon le degré d'oxydation de la chaîne C_3 [42,43].

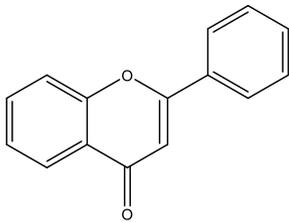
1/ 2-phenyl benzopyryliums, anthocyanes

2/ phényl chromane

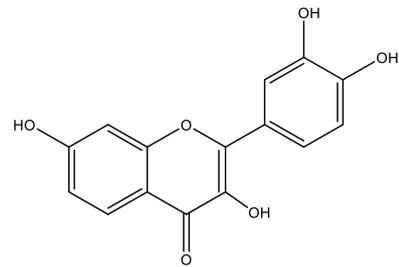
- Flavones, flavonol, et leurs dérivés

- Flavanones et dihydroflavonole
- Isoflavanones-isoflavones
- flavanes
- flavan-3-ols, flavan-3,4-diols

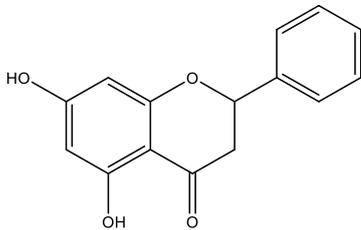
I-4-4-2 Structure importants des flavonoïdes



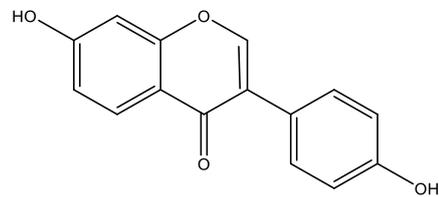
Flavone



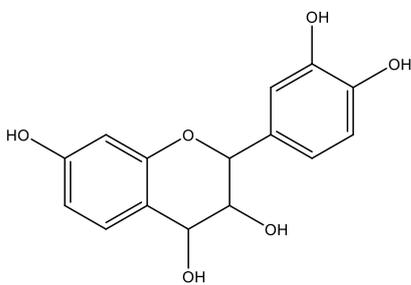
Flavonol



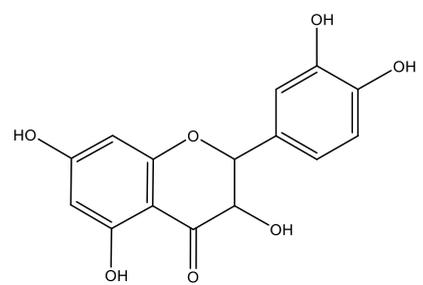
Flavanone



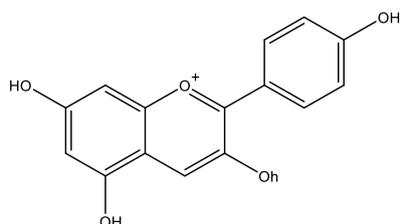
Isoflavone



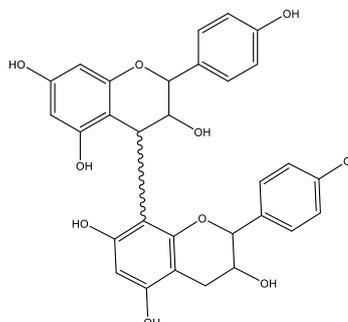
Flavan-3,4-diol



Flavanonol



Anthocyanidine



Proanthocyanidine

Figure I-6 : Structure importante des flavonoïdes

Le tableau I-5 présente quelque aliments contenant et source naturelle des flavonoïdes [31].

Tableau I-5 : Sources alimentaires des flavonoïdes

Flavonoïdes	Aliments
flavones	Persil, poivre rouge, céleri, agrumes, oignons
flavonols	Oignons, chou frisé, poire au brocoli, myrtilles, vins, thés verts, tomates
isoflavones	Graines de soja, feuilles de trèfle rouge, orge, riz brun, blé entier, graine de lin
flavanols	Abricot, thés, vins, raisin, chocolat, pommes
flavanones	Agrumes
proanthocyanidines	Fruits (poires, pommes, raisin), vin, thés
anthocyanines	Baies rouges, raisin, thés

Les composées de chaque flavonoïdes sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituant (groupements hydroxyles, méthoxyles et autre) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne C₃ intermédiaire. [46].

A l'état naturel on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées, la partie des flavonoïdes autre que le sucre est appelé aglycone tel que la génine, voir figure I-7.

D'autant plus il existe deux types des flavonoïdes hétérosidique [47,48]

- O-hétéroside.
- C-hétéroside.

Les O-hétéroside : la liaison entre la génine et l'ose peut se faire en règle générale avec les hydroxyles en position (7) des flavones et les hydroxyles en (3) des flavonols qui sont impliqués, et cela dans le cas d'O-glycosile.

Les C-heterosides : on en connaît plus de 300 genres, la liaison s'établit entre le carbone anomérique du sucre et le carbone en position 6 ou 8 de la génine [45].

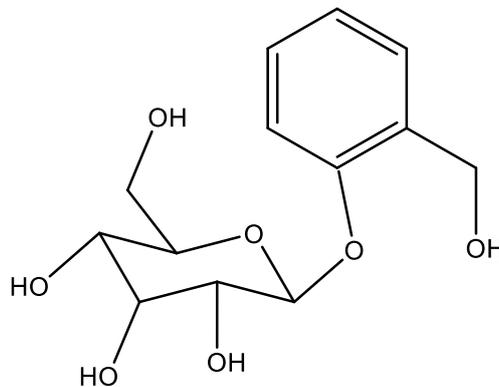


Figure I-7 : structure de génine (glucone)

I-4-4-3 Biogenèse

La biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun la 2, 4, 6,4' –tetrahydroxy chalcone qui est le résultat de la fixation de 3 chalcons de l'acétate sur l'acide p-coumarrique [44], et par l'action d'enzymes, cette chalcon de couleur jaune est métabolisée en différentes classes de flavonoïdes selon le figure I-8 et figure I-9.

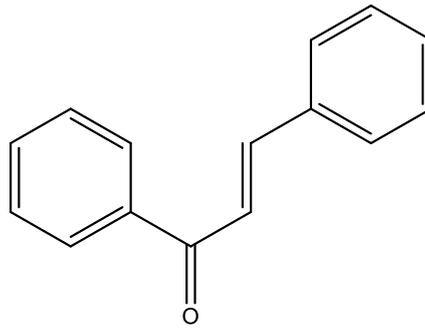


Figure I-8 : Structure de chalcon

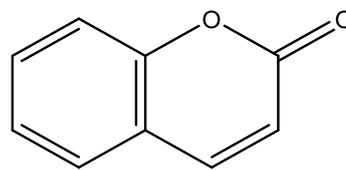


Figure I-9 : Structure de coumarine

I-4-4-4 Dosage

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques, aujourd'hui la chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC), présente la possibilité d'une identification et quantification de manière rapide et précise de toutes les classes des flavonoïdes [46].

I-4-5 Propriétés biologique et antioxydant des flavonoïdes

I-4-5-1 Propriétés pharmacologiques

Les pigments flavoniques sont pratiquement universels dans les feuilles et pétales, on les trouve fréquemment dans d'autres organes (fruits, racines, bois... etc), la principale activité attribuée aux flavonoïdes et incontestablement un rôle d'appel (couleur des fleurs et fruits) afin d'attirer les insectes et d'autres animaux vers les plantes pour la pollinisation et la dispersion des graines [61]

Par ailleurs, les pigments flavoniques sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse, leur action se situe au niveau des petites veines ou des capillaires, elles augmentent la résistance des capillaires (l'action vitaminique p).

Les flavonoïdes sont tonique veineux et des protections capillaires et ce sont des molécules pratiquement atoxiques biologiquement et bien tolères chez l'homme, mais leur action est lente [62].

De nos jours, les propriétés thérapeutiques des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical ou on leur reconnaît des activités biologiques et pharmaceutiques.

I-4-5-2 Propriétés anti-inflammatoires et immunologiques

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoire set qu'ils sont capable de moduler les fonctionnements du système immunitaire [63, 69,64].

Quelque composés flavonoïques tel que la rutine le rutoiside et la quercétine ont un rôle dans les pathologies circuloires comme anti-oedémateux, veinotomique, vasculo protecteur et comme anti-inflammaoires [65, 58].

D'autre par l'apigénol, chysine, taxifoline, 8-glycosyl, hypolateine, gosspine sont connu par leurs interactions avec le métabolisme de l'acide arachidonique qui joue un rôle important dans les phénomènes inflammatoires.

I-4-5-3 Propriétés antivirales et antibiotiques

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales permettant ainsi une bonne protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours [59].

Certains travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise.

Ils ont démontré que les flavonoides sont de bons inhibiteurs de la reverse transcriptase cependant, leur impact semble plus fort sur l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale [60, 71, 57] des études ont apporté l'évidence de l'effet bactéricide de différentes flavanones sur l'ADN gyrase d'une bactérie staphylococcus aureus [72].

I-4-5-4 Propriétés antinéoplasiques

Des études réalisées chez la souris ont mis en évidence les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs de tumeurs [66]. La quercétine, par exemple, est l'un de ces phénomènes capables de diminuer, chez le rat. L'incidence des tumeurs mammaires induites par le DMBA (7,12 diméthyle benza(a)anthracène) ou le NMU (Nnitrosométhylurée) [48].

I-4-5-5 Propriétés antifongique

Trois principales familles des flavonoïdes, en l'occurrence : la flavone, flavanone et la flavanol, ces dernières ont été testées contre 4 champignons pathogènes des grains de céréales (*alternaria*, *cladosporium herbarum*, *fusarium oxysporum* et *trichoderma reesei*) les résultats obtenus ont montré que la flavone et flavanone sont les plus efficaces [49, 50].

I-4-5-6 Propriétés hépatoprotecteur

Les composés flavoniques ayant une structure de type catéchine comme (isobutrine, hispiduline, flavanol-ignames) inhibent l'action d'inducteurs de toxicité chez des hépatocytes de rat de plus ils ont un effet antiallergique [68].

I-4-5-7 Propriétés hypotensions

La (6,8-diglucoylapigénine) peut provoquer notamment une baisse de pression artérielle chez le rat [47].

D'autres composés flavoniques peuvent avoir une fonction importante dans les industries agricoles et les industries alimentaires, comme colorants des boissons et antioxydants, ils peuvent être aussi des précurseurs de tanins [48,49, 50]

On peut constater d'autres rôles biologiques des flavonoïdes comme antispasmodique, antibactériens, hypocholestérolémiants, anti-agrégation plaquettaire, anti-tumorales, anti-azotémique, diurétique et anti-ulcère gastrique [49].

I-4-5-8 Propriétés antioxydants

Les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules [73]. En effet, les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus pro-oxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique, puisqu'ils la préviennent comme le α -tocophérol. Ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives [51, 52]. Les

flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) [51].

A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants ($R\cdot$), comme le super oxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical flavonoxyle (Fl-O \cdot) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable[53,54], figure I-10.

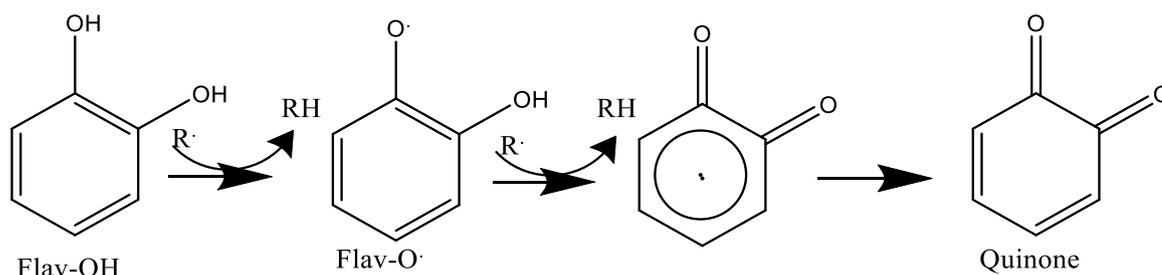
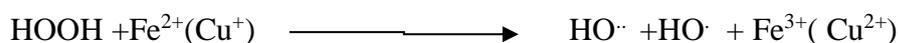


Figure I-10 : Piégeage des reactive oxygen species par les flavonoïdes (ROS)

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde [45].

Les flavonoïdes sont aussi considérés comme de bons chélateurs d'ions métalliques [47]. Comme les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^+) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



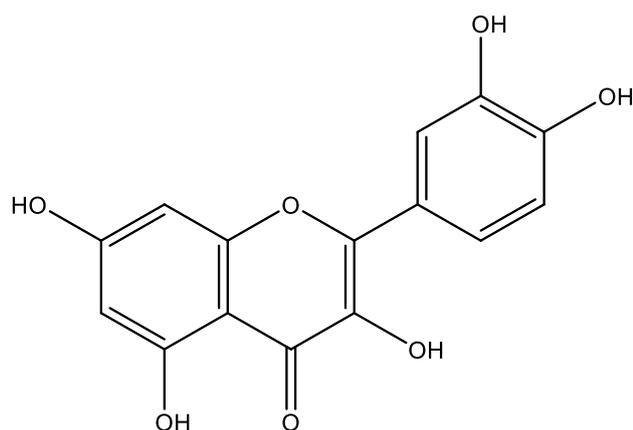


Figure I-11 : Structure de quercétine.

La quercétine figure I-11 est la plus active des flavonoïdes étudiés, résume les sites essentiels pour la chélation voire figure I-12, des ions métalliques : (a) un noyau catéchol sur le cycle B, (b) les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et (c) les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C [57, 69,70]

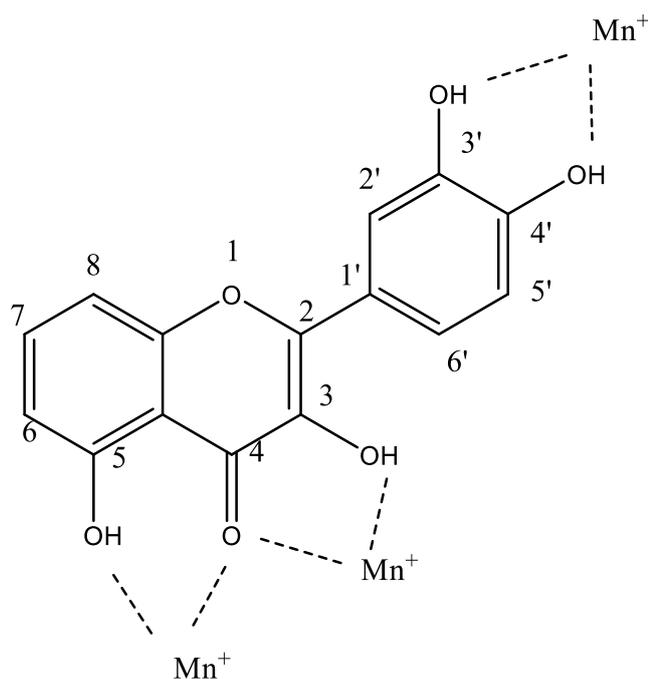


Figure I-12 : Atomes dépend à la réaction de chelation

Plusieurs travaux décrivent les relations structures-activités des flavonoïdes [55, 74, 75,]. Ces travaux permettent de connaître les activités anti-oxydantes de ces molécules en fonction de leurs caractéristiques structurales, en effet, leur activité anti-radicalaire nécessite :

Les anthocyanosides sont des composé existents sous forme d'hétéroside formés par la condensation d'une molécule mono glucidique ce terme désigne la substance responsable de la coloration figure I-13.

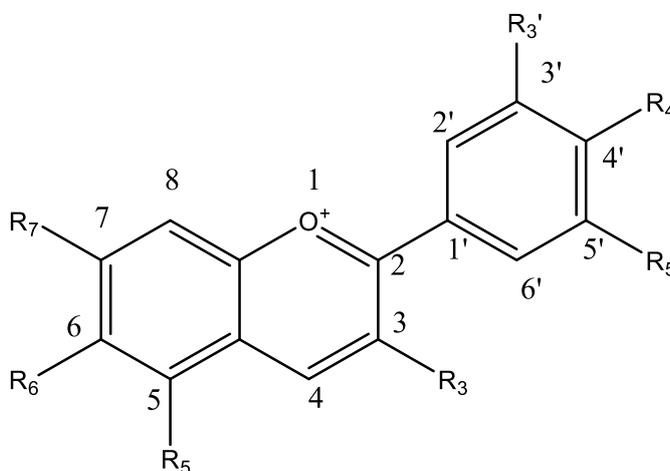


Figure I-13 : Structure de l'anthocyanosides montrant les nombres d'atome hétéroside des flavonoïdes

- a. Les molécules possédant une double liaison entre les carbones C₂ et C₃ et un groupement carbonyle en C₄ sont les flavonoïdes dont les activités anti-oxydantes sont les plus marquées, ainsi l'activité de la quercétine (un flavonol) est deux fois plus élevée que celle de la catéchine, (un flavan-3-ol). Ceci est dû au fait que la quercétine possède une double liaison C₂-C₃ et une fonction 4-oxo [56, 57].

Figure I-14 : comparaison entre pentahydroxyphénol et hydroxyphénol.

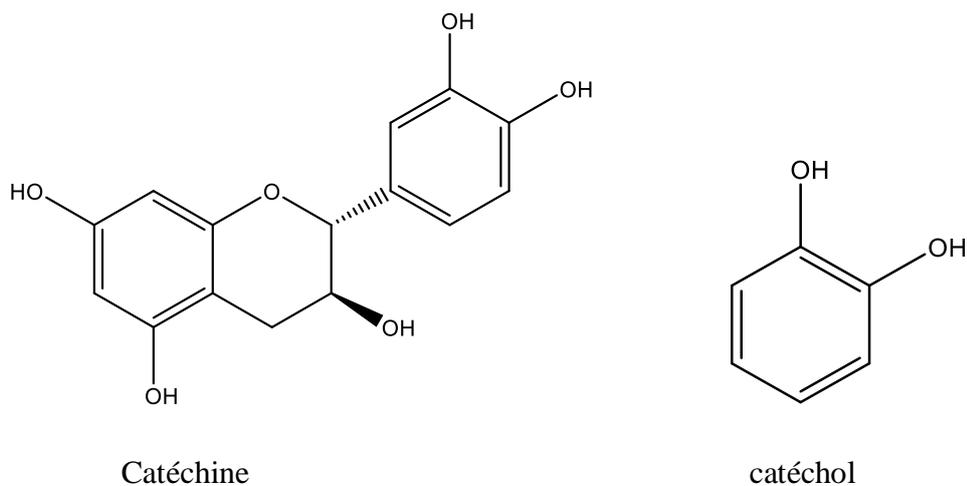


Figure 14 : Structure de catéchine et du catéchol

- b. La structure ortho-diphénolique du cycle B (les groupements hydroxyles en position C₃-C₄' ainsi qu'un nombre important de résidus hydroxyles augmenteraient le potentiel antioxydant des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé [67]. Il été développé un test sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cation chromophore, l'activité des flavonoïdes est comparée avec celle du Trolox figure I-15, une forme soluble de α -tocophérol figure I-16, et exprimée en TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) [70].

Il est à noter que plus la valeur de TEAC est élevée plus la molécule est active, les résultats de cette étude ont montré que la Morine figure I-17 ; avec deux groupements hydroxyles en méta et le kaempférol figure I-18 avec un seul groupement hydroxyle en para) [51].

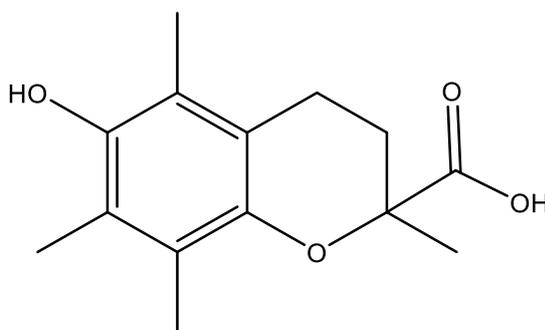


Figure I-15 : Structure du trolox (3,4-dihydro-6-hydroxy-2, 5, 7,8-tetramethyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylic acide)

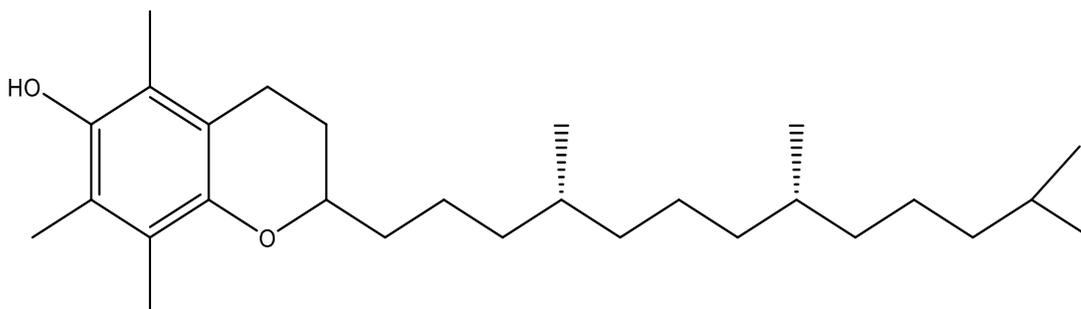


Figure I-16 : Structure de tocophérol

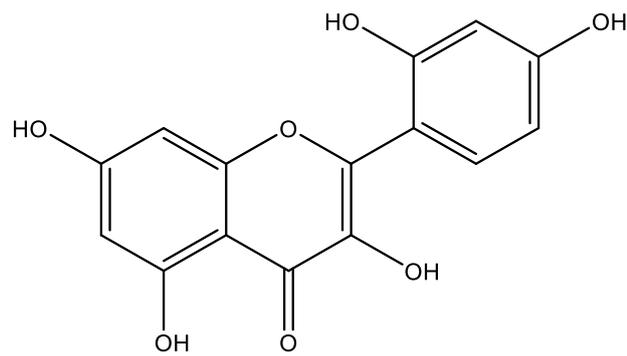


Figure I-17 : Structure du morine

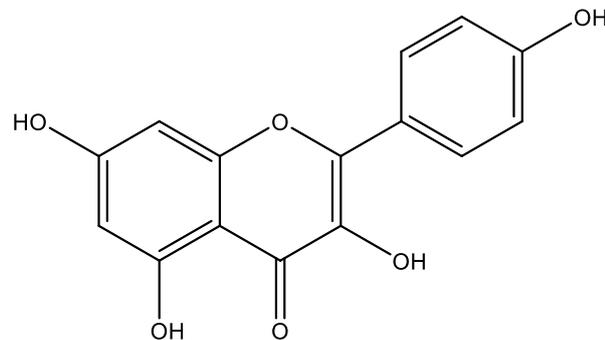


Figure I-18 : Structure de Kaempférol

- c. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C₃-OH) formant réactif. Ce que démontre l'importance de ce dernier, en effet, la glycosylation du groupe C₃-OH de la quercétine (cas de la rutine rutoside dérivé de quercétine) ou sa suppression (cas de la lutéoline figure I-19) diminue l'activité antioxydant [71].

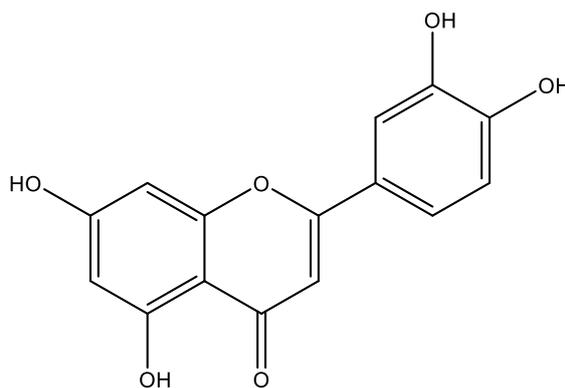


Figure I-19 : Structure de lutéoline

En analysant tous ces résultats concernant la capacité des flavonoïdes à piéger les Radicaux libres, on peut conclure que la quercétine satisfait à tous ces critères, elle dérive du motif flavonol, sa structure particulière lui confère les caractéristiques les plus souvent mise en avant dans l'activité d'un flavonoïde. La présence d'un groupement OH en position C₅, C₇ et la présence d'une double liaison en position C₂, C₃ tant qu'un cycle carbonique de phényle lui attribués une forte activité inhibitrice [75], elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes, figure I-20.

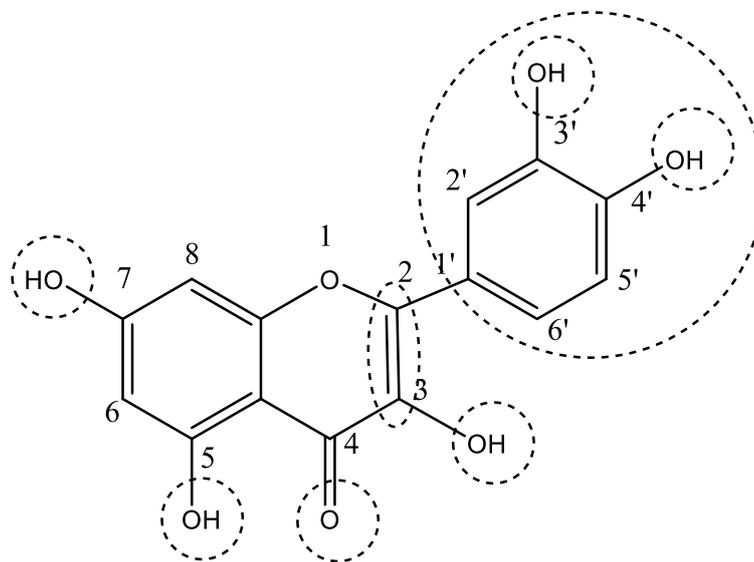


Figure I-20 : Position essentiel d'activité antioxydant et biologique des flavonoïdes

I-4-5-9 Propriétés pro-oxydantes

Nous avons décrit précédemment les propriétés anti-oxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables de l'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène.

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'attente oxydative de L'ADN, des protéines et des glucides in vitro. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés n'être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes [76].

I-5-Notification sur les antibiotiques et souches bactériennes utilisées

Actuellement il est d'accord d'utiliser la phytothérapie des plantes à dans un large domaine quel que soit la médecine traditionnelle ou moderne. Dans ce but nous investigons dans l'estimation de l'activité thérapeutique de la plante *Atriplex halimus*. Alors, on a choisie différents bactéries de grame positif et négatif, qui est considérées la responsable d'effectuées beaucoup des malades pour l'homme.

I-5-1 Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des composés les plus importants dans le domaine médical, considéré comme une importante découverte pour l'humanité, et avec l'utilisation augmentée des médicaments surtout les antibiotiques, il apparaît un problème de l'apparence des maladies, et aussi des variétés des microbes qui résistent les remèdes et les antibiotiques donc presque tous les antibiotiques utilisés maintenant sont soit des dérivés des antibiotiques anciens ou actuels. C'est pour ça il est indispensable de trouver des nouveaux composés contre les bactéries basés sur des sources naturelles peuvent attaquer différentes variétés des microbes.

Puisque les antibiotiques utilisés sont des ressources des micro-organismes vivantes. Les nouvelles recherches sont basées sur les études sur les plantes qui nous donnent une synthèse des composés actifs sur les microbes et spécialement dans le cas de produits des métabolismes secondaires, tels que les alcaloïdes, tanins, phénols, flavonoïdes, coumarines, quinone, terpènes, stéroïdes. D'après les recherches sur les plantes médicinales aux Etats Unis les extraits naturels ont un grand rôle dans la fabrication des médicaments atteignant un ratio de plus de 50 %. Dans les ordonnances médicales. Donc la plupart des médicaments utilisés sont des extraits de la plante, du produit naturel ou bien des produits d'une origine de plante fabriqués d'après une formule chimique isolée d'après la plante. On estime d'après ses recherches l'existence de 119

produits chimiques dérivés de 90 variétés de plantes possible de considérer comme des médicaments importants pour l'utilisation humaine et 74% de ces composés connus comme des composés chimiques actifs ont une origine de plante utilisée dans le domaine de traitement de médecine populaire [77].

I-5-2 Mécanisme d'action antimicrobien

I-5-2-1 L'inhibition de synthèse de mure cellulaire

Exemple : céphalosporine ; pénicilline ; bacitracin ; cycloserine ; vancomycine.

Ces antibiotiques travaillent dans l'inhibition des enzymes qui provoquent les périodes de formation du peptidoglycane (la structure distinguée pour le mur cellulaire des microbes) ce qui résulte de l'arrêt de croissance de la cellule microbienne et de sa mort [78].

I-5-2-2 Inhibition des fonctions de membrane des cellules

Exemple : Colistin, imidazole, polymyxins.

La cellule microbienne entourée d'une membrane cellulaire peut faire l'opération de régler les produits qui traversent la cellule (entrer ou sortir) le mécanisme de ses antibiotiques se représente dans son pouvoir de se fixer sur la membrane et de changer la fréquence de surface. Ça conduit à sortir les éléments cellulaires importants à la vie de cellule au milieu extérieur qui se provoque la mort des cellules [78].

I-5-2-3 Inhibition de synthèse de protéine

Exemple : chloramphénicol, erythromycine, lincomycine, tétracycline, aminoglycosides.

Ses antibiotiques font l'inhibition de formation de protéine microbienne au niveau des organismes ribosomes sans faire un effet ou une déformation sur les protéines de corps (protéine humaine) [78].

I-5-2-4 Inhibition des acides nucléaires

Exemple : quinolones, rifampine, sulfamides.

La quinolone fait l'inhibition de formation de DNA par l'arrêt de composition de l'ADN spirale et la rifampine empêche la croissance de germes par le moyen de faire une liaison forte avec l'ADN. Et comme ça elle empêche la formation de RNA des germes, on conclut que les sulfamides font la décomposition des acides para-amino benzoïques qui entrent dans la formation

de l'acide folique, qui avait un grande rôle, dans la composition des acides nucléaire d'une façon indirecte, Donc l'impuissance de force de propagation des cellules germiques [78].

I-5-3 Importance germes connus conduit aux maladies

Les bactéries peuvent être divisées en 12 groupes qui ont définis à partir de l'analyse de l'ARN ribosomal [79].

- Une souche est sous division d'une espèce
- Une colonie est une population descendant d'une même souche
- Races des bactéries de négatif gram
- Races des bactéries de positif gram
- a- Les bactéries peuvent être classées selon leurs caractères
 - Biochimiques classification en biotype ou biovars
 - Antigénique classification en séritype ou sérovars
 - Pathogéniques classification en pathotype ou pathovars
 - Enzymatiques classification en zymotype ou zymovars
 - De sensibilité à l'antibiotique classification en antibiotique
 - De sensibilité bactériophages classification en lysotype ou lysovars
 - Moléculaire ; identification de l'ADN par ribotype hybridation ADN-ADN ribosomique
- b- Les bactéries peuvent aussi être classées selon
 - La coloration de gram
 - La morphologie
 - La mobilité
 - La capacité à sporuler
 - La température de croissance
 - Les besoins nutritionnels
 - Le mode respiratoire
 - L'utilisation des différentes sources de carbone ou d'azote

I-5-3-1 Escherichia coli

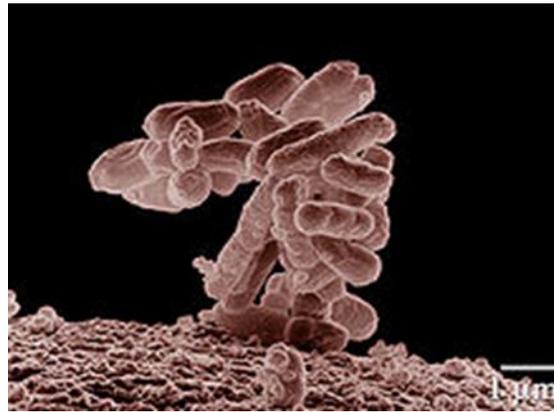


Figure I-21 : Photo microscopique de bacterie escherichria coli

Escherichia coli est une bactérie coliforme se trouve notamment dans l'intestin des animaux et des humains, il existe des centaines de souches différentes d'Escherichia coli et la plupart sont danger pour l'homme. En fait, certaines souches Escherichia coli sont essentielle, parce qu'elles facilement la digestion des aliments et produisent les vitamines K et B. les souches d'Escherichia coli, commensales sont non pathogènes, sauf en cas d'infection opportuniste. Toutefois, il existe des souches d'Escherichia coli pathogènes qui possèdent des facteurs de virulence spécifique, séparées 4 groupes ou pathovars selon le type d'infection [80].

I-5-3-2 Salmonella typhimurium



Figure I-22 : Photo microscopique de bactérie salmonella tyhimiuruim

Les genres salmonella qui appartient à la famille des enterobacteriaceae, doit son nom au docteur vétérinaire salmon, bactériologiste American du 19^{ème} siècle. Ce genre est caractérisé par des bacilles à coloration gram-négative. Non sporulant la plupart du temps doués des flagelles pértricos, de taille des bâtonnets varient entre 2 et 5 μm de longueur sur 0.7 à 1.5 μm de largeur érobie. Ils sont aéro- anaérobie, réduisent les nitrates en nitrite. Peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, ferment le glucose mais pas le lactose ni le sucrose et produisent du gaz à partir du glucose. Comme toute les bactéries l'enveloppe des salmonelles est constituée de 3 éléments, la membrane cytoplasmique et la membrane externe étant séparées par espace préplasmique confère sa forme et rigidité et lui permet résistance à la pression osmotique [81].

I-5-3-3 Staphylococcus aureus

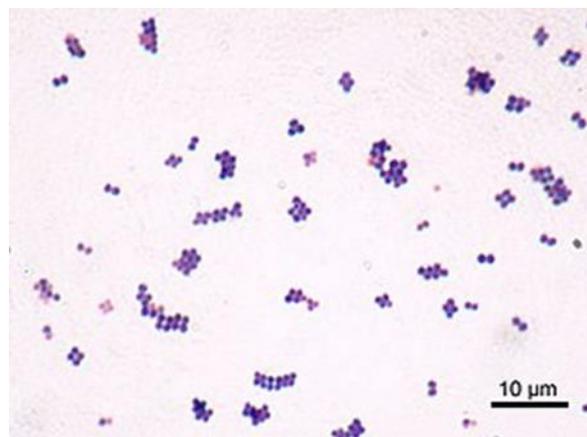


Figure I-23 : Photo microscopique de bactérie staphylococcus aureus

Le genre de staphylococcus et en particulière de gram-négative sont les plus responsable de mammites subcliniques et clinique, en partie du fait de la production d'une substance polysaccharidique ou slime, considéré comme un facteur de virulence responsable d'adhésion de l'hôte. Elle a surtout porté sur la conduite et l'hygiène de la traite facteurs étroitement liés à l'installation d'infections mammaire [82].

I-5-3- 4 Enterococcus faecium

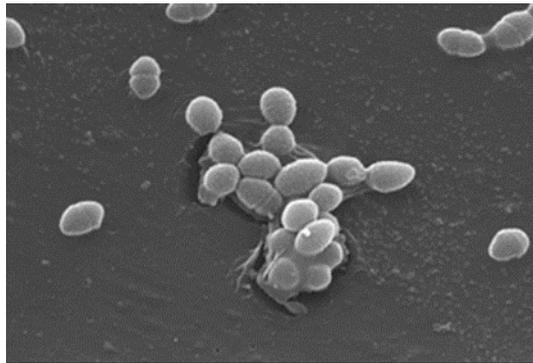


Figure I-24 : Photo microscopique de bactérie enterococcus faecium

Les enterococcus sont des bactéries lactiques ubiquitaires, trouvées fréquemment dans la flore microbienne du tractus gastro-intestinal des animaux à sang chaud, ainsi que dans une variété de produits alimentaires. Il est utilisé dans les aliments soit comme agents antimicrobiens, soit pour leurs propriétés organoleptiques et parfois comme probiotiques. Ce genre bactérien produit une grande diversité de bactériocines, considérées comme des agents de contrôle biologique dans les aliments, en conservant leurs propriétés ainsi une alternative à l'utilisation d'additifs chimiques ou à celle de traitement physico-chimique employés dans la conservation des produits alimentaires. Les entérocoques sont des cocci gram-positifs, généralement catalase négatifs ils sont anaérobies facultatifs et non mobiles. Ces cellules sont ovoïdes, se forme isolé produise des colonies de couleur blanche. Toutefois, quelques-unes sont de couleur jaune [83].

I-5-3-5 Streptocoque



Figure I-25 : Photo microscopique de bactérie streptocoque

Les streptocoques du groupe B sont des diplocoques aérobique gram-positif qui habituellement, génèrent une étroite zone de β -hémolyse sur de la gélose de sang de mouton à 5 %. Ces organismes sont répartis en 10 types en fonction de leurs polysaccharides capsulaire, constitue la cause prédominante de la méningite d'apparition précoce et de la majorité des cas d'infection néonatale d'apparition tardive. Les streptocoques groupe B font partie du microbiome vaginal normal [84].

I-5-3-6 Candida albicans

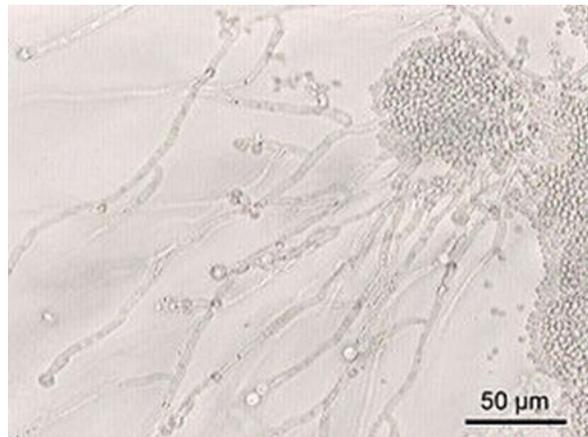


Figure I-26 : Photo microscopique de bactérie candida albicans

Les candidoses sont des infections opportunistes dues à des champignons levure formes, du genre candida dont l'espèce albicans est responsable de la plupart des manifestations pathologiques chez l'homme, elles existent à l'état saprophyte sur les muqueuses digestives et génitales. Un certain nombre de condition favorisent le passage de la levure à un stade

pathogène. L'infection candidosique les plus fréquentes, sont muqueuses, mais elles sont toujours pathogènes. Lorsque 'il est isolé d'une lésion cutanée.

Les candida albicans est un endosaprophyte du tube digestif, ne jamais trouve à l'état normal sur la peau. Les facteurs favorisant le développement d'une candidose sont l'humidité, PH acide, irritation chronique, diabète, grossesse, âgé extrême de la vie médicament [85]

I-5-4 Les maladies affectées des races bactériennes utilisées dans l'étude antibactérienne

Dans le tableau I-6, suivant les races des bactéries étudiées et quelques maladies que elle cause ou provoquer à affecter.

Tableau I-6 : Races de la bactérie et quelque maladie affectée.

Les races de bactérie	Classement de bactérie	Quelques maladies affectées	réf
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie de gram négatif appartenir aux familles de entreobacteriaceae	inflammation gastrique, inflammation des vois urinaires et l'inflammation des membranes cérébrales et quelque lassers	[80]
<i>Salimonella typhimurium</i>	Bactérie de gram négatif Appartenir famille des Enterobacteriaceae	inflammation gastrique, inflammation des vois urinaires et l'inflammation des membranes cérébrales et quelque lassers	[81]
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie de gram positif Appartenir aux familles de micrococcaceae	toxicités alimentaires, les toxines intérieures	[82]
<i>Enterococcus faecium</i>	Bactérie de gram positif Appartenir aux familles de Enterococcaceae	inflammations chronique de l'intestin infections mortelles chez l'homme et le singe	[83]
<i>Streptocoque B</i>	Bactérie de gram positif Appartenir aux familles des streptococcaceae	malformations congénitales du cœur ou séquelles de rhumatisme articulaire aigu dentaires	[84]
<i>Candida albicans</i>	Appartenir ces bactéries aux familles des saccaromycetaceae	d'infection superficielle cutanée causer un érythème, une bronchopneumonie	[85]

CHAPITRE II
TECHNIQUES D'ETUDE ET
CONDITIONS EXPERIMENTALES

II-1 Matériels et méthodes

Dans ce chapitre, nous présentons les protocoles expérimentaux préconisés pour l'extraction et l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles et des extraits. Une première extraction des huiles vise à déterminer les propriétés physico-chimique est suivie de tests préliminaire pour déterminer le contenu phytochimique de la plante. Enfin terminer par extraction des flavonoïdes. Les techniques utilisées pour le dosage antibactérienne et antioxydant sont abordé. Et la détection des molécules bioactifs par CPG-MS.

II-1-1 Matériels

II-1-1-1 Récolte de la plante

La plante *atriplex halimus* est une plante qui se ressème spontanément, elle apparait au mois de février jusqu'à septembre. Nous avons contrôlé une partie de la terre où se grandi *l'atriplex halimus* à 17 km de la ville de Ouargla exactement à Hassi ben abdelah. Quand la plante a fait ses fleur au mois de avril on a l'avait récolté de quantité suffisante pour l'étude au l'aboratoire la plante avait des petites racines et des petit feuilles et des branches mince et des fleurs jaune [86] .



Figure II-1 : *Atriplex halimus* au niveau de terrain de hassi ben abdelah Ouargla

Le terrain de hassi ben abdelah est situé au côté de l'ouest de la commune de Ouargla de latitude de 32° de 01, 54' Nord et longitude de 5° de 44,66' Est bordé par des dunes de sables (Erg) par une (Sebkha) au sud et à l'est par la route nationale N° 56 est d'une superficie de 40 hactar [87] .

Tableau II-1: Paramètre coresspend au terrain Hassi ben abdelah Ouargla

Site	L'atitude	Longitude	Altitude
Hassi ben abdelah	32° 01,45' N	5° 44.66' E	50 m

II-1-1-2 Le séchage de plante

Le séchage est une opération pour éliminer un peu le contenu de plante en humidité, pour faciliter l'opération de broyer la plante. Après avoir collecté la plante une purification est effectuée et des organes morts sont retirés. Après avoir purifié la plante on l'étend sur un papier ou carton à l'ombre loin du soleil et surtout l'humidité et on le retourne de temps en temps pendant un 15 jours, pour obtenir un bon séchage [86].

II-1-1-3 Le broyage

La plante sèche a été et on le moule très bien avec un moulin classique puis tamisée par un tamis de 2 mm pour avoir une poudre cohérente.

II-1-1-4 Le stockage

Reserve la poudre de plante dans des sachets en papier sombre, net et bien fermé.

II-1-1-5 Solvants

Les solvants utilisés dans ce travail sont présentés dans le tableau II-2.

Tableau II-2 : Liste des solvants utilisés

produit	Fournisseur
éther de pétrole	Sigma aldrich
hexane	Sigma aldrich
chloroforme	Sigma aldrich
Alcool amylique	Biochem
éthanol	Sigma aldrich
dichlorométhane	Sigma aldrich
Acétate d'éthyle	Sigma aldrich
butanol	Sigma aldrich

Le tableau II-3 présente les valeurs de l'indice de polarité, point d'ébullition et miscibilité avec l'eau des solvants utilisés dans l'extraction, ces constantes nous donnent des informations qui nous intéressent au cours d'extraction [88]

Tableau II-3 : Constantes physico-chimique des solvants

Solvant	Indice de polarité d_p (Ψ_m)	Point d'ébullition °C	Miscibilité avec H ₂ O (v/v)

Ether de pétrole	0.1	40-60	0.01
hexane	0.1	69	0.01
éthanol	4.3	79	Miscible
dichlorométhane	3.1	40	0.01
Acétate d'éthyle	4.4	77	Non miscible
butanol	3.9	117	1.2

II-1-1-5 Réactifs

Les réactifs utilisés dans ce travail sont présentés dans le tableau II-4.

Tableau II-4 : Descriptif des réactifs utilisés pour cette étude

Réactifs	Fournisseurs
NaSO ₄	Sigma aldrich
KOH	Sigma aldrich
MgSO ₄	Sigma aldrich
FeCl ₃	Sigma aldrich
H ₂ SO ₄	Sigma aldrich
HCl	Sigma aldrich
NH ₄ OH	Sigma aldrich
Indicateur de Mayer	Biochem
Phénolphaléne	Sigma aldrich
Gelos Muler Hinton	EUCAST et CLSI
DPPH	Laboratoire microbiologie d'INRAP
Trolox	Laboratoire microbiologie d'INRAP

Pour l'étude biologique d'extrait de plante, on a utilisé les races de bactérie suivante qui son examiner au laboratoire physique-chimique INRAP a Tunisie.

Les souches bactériennes et les antibiotiques utilisés dans l'étude antibactérienne sont représentés dans le tableau II-5.

Tableau II-5 : Bactéries et antibiotiques utilisé dans l'analyse

L'antibiotique ampicilline /nystatine	Laboratoire microbiologie d'INRAP
Escherichia coli ATCC 8739 G (-)	Laboratoire microbiologie d'INRAP
Salimonella typhimurium ATCC 14028 G (-)	Laboratoire microbiologie d'INRAP
Staphylococcus aureus ATCC 6538 G (+)	Laboratoire microbiologie d'INRAP
Enterococcus feacium ATCC 19434 G (+)	Laboratoire microbiologie d'INRAP
Streptocoque B (Streptococcus agalactiae) G (+)	Laboratoire microbiologie d'INRAP
Candida albicans ATTC 10231	Laboratoire microbiologie d'INRAP

II-1-1-6Appareillage et outils

Afin de valorisé la plante, nous avons utilisés un appareillage performant allant des outils simples de laboratoires et terminant par des appareils pour extraction et identification des produits.

1. La balance sensible $\pm 10^{-4}$ pour la mesure des quantités déterminées des réactifs et échantillons.
2. Les boites pétris avaient servie pour la diffusion superficielle de gélose.
3. Bec Meker pour réaliser les tests de flamme
4. Des pinces stériles pour métre les petits disques.
5. Des brosses en coton assurent le balayage des colonies bactériennes sur gélose
6. Les petits Disquesen papier wattman ont été utilisés pour le chargement des extraits obtenu de la plante et antibiotique de référence.
7. Avec un pH – mètre ont été estiméle pH des milieux.
8. Le refractomètre (ABBE) est utilisé pour déterminées l'indice de réfraction des huiles étudiées.
9. Un incubateur au CO₂ de 50 l avait servi dans réalisation de l'incubation des colonies bactéries mis en boîte pétries.
10. L'ampoule à décanté pour l'extraction en deux phase, extraction liquide-liquide.
11. Spectromètre d'émission atomique par torche plasma pour donner le teneur d'ion de Ca.
12. Machine soxhlet multipoint a été utilisé pour la réalisation des opérations d'extractions des huiles.
13. Rotavapore (BUCHI R-210) avait servi pour faire évaporées des solvants et distillation à fin de l'obtention de l'essence de l'extrait.
14. Système de distillation (réfrigèrent) pour l'assurance de volume utilisé dans les réactions de saponification et estérification.
15. Spectrométrie UV-V JASCO-V530 : mesurées l'absorbance antioxydant
16. CPG-MS Split/ Splitlesse a étéutilisé pour la détection des composées contenue dans les extraits de la plante.

Quant au structures présenter dans le chapitre précédant, elles ont était dessinés par le logiciel Chem Draw.

II- 2 Extraction des huiles

L'extraction des huiles a été effectuée par un appareil soxhlet multipoint du laboratoire de recherche génie de procédé de l'université d'Ouargla.

Nous avons commencé par

On introduit 30g de poudre de plante dans la cartouche et 200 ml de solvant dans les verres de l'appareil de soxhlet multipoint qui convient pour l'extraction des matières grasses, rapide et conforme le plus souvent utilisée par les réglementation pour des nombreuse matrice, pendant 6 heure, les solvants utilisés sont l'éther de pétrole et hexane [89].

Après l'extraction de soxhlet ont avait obtient un liquide Gras après refroidie puis on lui ajoute une quantité de NaSO_4 pour éliminer les trace d'eau, puis on filtre la solution et ont le fait évaporé par rota vapeur porté à une température de adéquate à la température d'ébullition des solvants, pour obtenir une matière Grace.

Le rendement d'extraction a été calculé en pesant les quantités des lipides obtenus par la balance sensible d'une précision de $\pm 10^{-4}$ les résultats des rendements d'extraction son présenté dans le tableau III-1.

II-2-1- Les propriétés physiques et chimiques des matières huileuses

II-2-1-1 Les propriétés physiques des huiles

On détermine les propriétés physique des huiles par la qualité des huiles, degré de purification, sachant que les huiles son des produits naturelles contient beaucoup des acide gras, contient aussi des tri-glycérine par conséquence les multiples contenant des matières huileuses par des rapports variée nous a donnez des valeurs constantes tel qu'apparie dans le tableau III-2. Dans ce qui suit, nous allons calculer que quelque propriété physique et chimique en utilisant huile extrait par l'éther du pétrole et l'hexane.

II-2-1-1-1 La densité spécifique

La densité spécifique connu comme le rapport entre la masse de volume déterminé de huile dans une température déterminée au masse de même volume d'eau dans la même température,(température de 15.5 °C ou 20 °C) [90].

Pratiquement on détermine la densité spécifique par le calcule de masse d'un volume déterminé de huile et autre masse de volume déterminé d'eau dans la même température.

Dans le cas ou utilisé une température divers a la température standard on peut utiliser l'équation suivant :

$$d_4^{20} = d_4^{\theta} + (\theta - 20) * 0.00068$$

Equation II-1

Ou

d_4^{20} : La densité dans 20 °C

d_4^t : La densité dans température de laboratoire

Θ : Température de laboratoire

0.00068 : facteur de variation de densité spécifique au changement de température par 1 degré [67]

II-2-1-1-2 Indice de réfraction

L'indice de réfraction est une relation entre le sinus de l'angle de tombé et le sinus de l'angle de fraction quand un rayon lumineux de longueur d'onde de 589.3 nm traverse de l'air au huile dans une température déterminer pour les gras soluble la température et de 20 °C.

Pour le calcul de valeur de l'indice de réfraction nous avons utilisé le réfractomètre ou on peut lire les valeurs des indices des réfractions quand on met un échantillon entre les deux

plaque en verre, dans le cas d'utilisation d'une température élevé à la température standard on utilise l'équation suivante [91].

$$n_D^{20} = n_D^t + (\Theta - 20) * 0.0035 \quad \text{Equation II-2}$$

Ou

n_D^{20} : Indice de réfraction a 20 °C

n_D^t : Indice de réfraction à la température de laboratoire

Θ : Température de laboratoire

0.0035 : facteur de variation de l'indice de réfraction au changement de température par 1 degré [67]

II-2-1-2 Les propriétés chimiques des huiles

II-2-1-2-1 Le nombre d'acide

Le nombre d'acide est le nombre en milligramme de hydroxyde de potassium dispensable pour normalisé les acides gras libre trouvée dans un gramme de huile ou de gras, il nous donne une idée sur le ratio des acide gras, et de connaître le taux de dissociation des glycérine trouvée dans les huiles et cette valeur estime en générale la preuve qualité des huiles pour la consommation ou la validité d'être mangé.

La détermination de nombre d'acide scientifiquement suivie les norme de (AFNOR NET 60-204) et ça par la dissolution d'une masse de 2 g de huile dans 10 ml de hexane puis on ajoute 5 goutte de l'indicateur de phénolphtaléine, et en fait un dosage avec hydroxyde de potassium alcoolique de normalité de 0.01N , jusqu' à la transformation de couleur du transparent au violet et on décrit le volume de base correspondant [92].

On peut calculer le nombre d'acide par l'équation suivante :

$$I_A = \frac{V * N * 56.11}{m} \quad \text{Equation II-3}$$

Ou

I_A : Nombre d'acide

V : volume d'hydroxyde de potassium 0.01N

N : normalité de solution d'hydroxyde de potassium 0.01N

56.11: la masse moléculaire d'hydroxyde de potassium

m : la masse d'huile en gramme

II-2-1-2-2 Nombre de saponification

Le nombre de saponification et le nombre de milligramme de hydroxyde de potassium capable de saponifiée un gramme de huile ou de gras. , on peut aussi déterminé par se nombre la longueur de la chaine carbonique des acides gras, généralement on peut calculé le nombre de saponification pratiquement par les normes de (AFNOR NET 60-206).

Dans un ballon de 100 ml, on met 0.4 g de huile, on l'ajoute 20 ml de KOH, alcoolique 0.2N, on chauffe le mélange jus qu'a l'ébullition avec distillation pendant 30 mn jusqu'a la disparition des goutte de huile ,c'est-à-dire il se transforme en savon, en laisse le mélange quelque minute puis on ajoute 5 goutte de indicateur de phénolphtaléine, donc on dose le mélange de saponification et on calcule le nombre de saponification [93], en utilisant l'équation suivant.

$$I_s = \frac{(V_0 - V) * N * 56.11}{m} \quad \text{Equation II-4}$$

Ou

I_s : Nombre de saponification

V_0 : Volume de KOH en millilitre sans l'utilisation d'huile

V : Volume de KOH dans la solution saponification

N : Normalité de KOH

m : Masse d'huile

56.11 : Masse molaire de KOH

II-2-1-2-3 Nombre d'ester

Le nombre d'ester est le nombre de milligramme de hydroxyde de potassium indispensable pour la saponification des triglycérides et qu'il ne contenant pas des acides gras [92].

On calcule le nombre d'ester par l'équation suivante :

$$I_E = I_S - I_A \quad \text{Equation II-5}$$

Ou

I_E : Nombre d'ester

I_S : Nombre de saponification

I_A : Nombre d'acide

II-3 Les tests préliminaires sur la plante *Atriplex halimus*

La plante *Atriplex halimus* pousse dans différentes régions du territoire Algérien, elle se trouve avec des quantités et qualités diverses dans une même saison on peut la trouver dans une région mais pas dans l'autre et même dans la même région les variétés des espèces peut être différents. Par exemple *Atriplex halimus* que se grandit à Biskra et El oued est différent de *Atriplex halimus* de la région de Ouargla.

Faisant Alors quelque teste sur la plantes *Atriplex halimus* pour connaître le produit active ou les composant ordinaire caractérisant l'espèce recueilli de la région de Ouargla

II-3-1 Test des flavonoïdes

10 g de poudre de plante sont trempé dans 150 ml d'acide chlorhydrique 1% pendant 3 heures.

10 ml de solution aqueuse filtrée est dosé par une solution de l'ammoniac NH_4OH (2 N). Le PH est contrôlée avec PH-mètre, alors le milieu basique on distingue le couleur jaune claire indique l'existence des flavonoïdes [94].

II-3-2 Test des flavonoïdes libres

5 ml de solution aqueuse filtrée est introduite dans un tube à essai, ensuite on lui ajoute 2.5 ml de alcool amylique on remarque après l'agitation la coloration de phase alcoolique par la couleur jaune la preuve de l'existence des flavonoïdes libre [94].

II-3-3 Test des flavonoïdes glycosides

On fait subir la phase alcoolique obtenu du teste précédent une vaporisation par pression. La précipitée obtenu est mélangée avec 3 ml de l'acide chlorhydrique diluée 1 % on chauffe la solution dans un bain marée pendant 2 minute après refroidissement, on ajoute 2.5 ml de l'alcool amylique après l'agitation et l'équilibre on remarque la formation de deux phase. Celle en haut (phase alcoolique) est colorée en jaune, ce qui atteste l'existence des flavonoïdes glycosides [94].

Par la suite 5 ml de filtrâtes obtenus est sélection pour être transmise dans un tube à essai, on l'ajoute une petite quantité de magnésium Mg, après une bonne agitation et quelque minute on remarque l'apparition d'une couleur rouge, c'est aussi la preuve de l'existence des flavonoïdes glycosides [94].

II-3-4 Test des alcaloïdes

10 g de la plante séchée et broyer est trempé dans 150 ml de acide chlorhydrique diluée 1 % pendant 48 h. après filtration on fait la dosage de filtrâtes obtenu par une solution de l'ammoniac NH_4OH de concentration 2 N jusqu'à PH 9, par la suite sera effectué une extraction liquide-liquide trois fois avec 30 ml de chloroforme la phase organique collectée et évaporée la précipitation obtenus dissous avec 2 ml de acide chlorhydrique diluée 1 % . Par ajoute de trois gouttes de solution d'indicateur de Mayer. La formation d'un précipité blanc est caractérisée de l'existence des alcaloïdes [95].

II-3-5 Test des cardénolides

Une quantité de 1 mg de la plante sèche et moulé mélangé avec l'eau distillé avec agitation pendant 20 ou 30 minutes. Après filtration en amène une extraction liquide- liquide de la solution obtenu par 10 ml de mélange chloroforme et éthanol. La phase organique obtenu évaporé et la précipité résultant est dissoudre avec 3 ml de acide acétique glaciale avec l'ajoute de 3 goutte de solution de tri-chloride de fer FeCl_3 .vers la fin on rajoute 1 ml de l'acide sulfurique H_2SO_4 on remarque la coloration de phase acide par une couleur vert-bleu la preuve de existence des cardénolides [95].

II-3-6 Test de Tanins

10 g de la plante sèche et moulu est mélangé dans 50 ml d'eau et l'alcool éthylique 50 % pendant 30 minutes ensuite on filtre, au filtrat obtenu on ajoute des gouttes de solution de tri-chlorure de fer on remarque l'apparition de la couleur verte, la preuve de l'existence de tanin [96].

II-3-7 Test des stérols non saturés et des terpènes

A 5 g de la plante sèche et moulu et mélangé avec 20 ml de chloroforme pendant 30 minutes ensuite on filtre. 1 ml de l'acide sulfurique H_2SO_4 est ajouté au filtrat obtenu dans un tube à essai par précaution au paroi, l'apparition de la couleur verte qui se transfère après quelque instant à la couleur rouge dans la couche qui sépare les deux phases. Preuve de l'existence de stérols non saturés et des terpènes.

II-3-8 Test des saponosides

2 g de poudre de la plante, sont mélangés avec 80 ml de l'eau distillée, puis on le chauffe pendant 15 min, ensuite on filtre et on le refroidit. Le filtrat est transféré dans un tube à essai, avec agitation une couche d'émulsion apparaît après quelque temps la preuve de l'existence des saponosides [96].

II-3-9 Test des stéroïdes

5 g de poudre de la plante trempés dans 20 ml de l'alcool éthylique 70 % avec l'eau pendant 30 min, après filtration, évaporation, on fait dissoudre la précipité obtenue dans 20 ml de chloroforme, puis on filtre une deuxième fois pour éviter les impuretés, le filtrat est diffusé en deux parties

La première partie mise dans un tube à essai on l'a ajouté 1 ml de l'acide sulfurique à la paroi du tube précieusement il n'y avait pas une coloration verte la preuve de l'existence des stéroïdes non saturés [96].

La deuxième partie dans un tube à essai on lui ajoute un volume équivalent de l'acide sulfurique à travers les parois du flacon, on remarque l'apparition de la couleur jaune qui se transforme en couleur rouge la preuve de l'existence de dérivés des stéroïdes [95].

II-3-10 Test des quinones

Macérer 5 g de matières végétales pendant une heure dans le toluène ou pendant 24 h dans l'éther de pétrole, filtrer puis traiter 10 ml de filtrat par 5 ml de NaOH 1 %. La présence de quinones dans la solution est révélée par l'apparition d'une coloration rouge en phase aqueuse [97].

II-3-11 Test des hétérosides cyanogènes

Dans un erlenmeyer, mettre 5 g de poudre végétale et 10 ml d'eau distillée, fermer avec un bouchon auquel est fixé un papier picrosodé légèrement humecté d'eau. Chauffer légèrement la solution, le papier jaune vire à l'orange si l'extrait végétal produit de l'acide cyanhydrique [97]. De copeaux

II-3-12 Test des anthocyanes

Dans un erlenmeyer, 5 g de matière végétale sont infusés dans 50 ml d'eau distillée pendant 30 minutes, filtré, puis traiter 5 ml de filtrat par l'éthanol à 97 %. Y ajouter successivement 5 ml d'eau distillée, 5 ml de HCl concentré, quelques gouttes d'alcool isoamylique et 0.5 g de copeaux de magnésium. Il apparaît dans le surnageant une coloration rose orangé ou rouge violacé. De même sans ajouter les copeaux de magnésium, porter la solution au bain-marie pendant deux minutes. Il apparaît une coloration rouge, signe de la présence des anthocyanes [97].

II-3-13 Test des coumarines

0.75g de matière végétale est mélangé à 20 mL de chloroforme puis chauffé pendant quelques minutes et ensuite filtré. Les filtrats sont soumis à une analyse CCM en utilisant comme éluant un mélange de toluène et d'acétate d'éthyle (90:10). Après élution, la visualisation du chromatogramme à 365 nm en absence et en présence de NH₃. D'où apparition de fluorescences qui confirment bien la présence de coumarine [96].

II-4 Extraction des flavonoïdes

L'extraction est une méthode qui permet de séparer les composés contenant dans la matière solide, on utilisant des solvants ayant la même polarité de composé à séparer. La méthode d'extraction utilisé ici consiste à une macération avec les solvants (l'hexane, l'éther) suivi d'une extraction par décantation liquide-liquide avec les solvants (dichlorométhane,

acétate d'éthyle et butanol). Ou le corps solide (plante sèche) séjourne dans le liquide qui permet l'extraction solide-liquide et l'extraction liquide-liquide.

II-4-1 L'extraction des huiles par macération

30 g de poudre de la plante séchée et moulée est trempé dans 300 ml de l'hexane/éther de pétrole pendant 48 h avec agitation, puis on filtre, on garde la poudre de plante filtré dépourvu des lipides, on les sèche très bien et la filtrante obtenus va s'évaporer par rota vapeur on obtient un liquide visqueux appelé des lipides, cette méthode est une technique classique d'extraction à froid [98].

II-4-2 Extraction par éthanol/eau

30g poudre précédant (dépourvu des lipides) est trempée dans 300 ml de solution éthanol-eau (70%-30%) pendant 24 h puis en filtre et on répète l'opération 3 fois, on fait subir la filtrante une évaporation par rotavapor pour évaporer l'éthanol et on garde celle de l'eau on le diluée par 150 ml de l'eau distillée, laissé pour une nuit, puis on filtre pour éliminer les résidées. cette méthode est une technique classique d'extraction à froid [98].

II-4-3 L'extraction par dichlorométhane

On fait une extraction liquide-liquide pour la filtrante de l'eau précédente avec dichlorométhane, on ajoute au filtrante de l'eau une quantité de 80 ml de dichlorométhane on fait l'extraction avec ampoule a décanté, on répète l'opération trois fois puis on ramace la phase organique obtenus de dichlorimethane on le sèche avec $MgSO_4$, puis on évapore par rotavapor on obtient un liquide dense, puis on le dilué par 5ml de l'éthanol [99].

II-4-4 L'extraction par acétate d'éthyle

On fait une extraction liquide-liquide pour la filtrante de l'eau précédant avec acétate d'éthyle, on ajoute au filtrante de l'eau une quantité de 80 ml de l'acétate d'éthyle faisons une extraction par l'ampoule a décanté on répète l'opération trois fois puis on ramace la phase organique obtenu de l'acétate d'éthyle on le sèche avec $MgSO_4$ puis on évapore par rotavapor on obtient un liquide dense on le dilué par 5ml de l'éthanol [99].

II-4-5 L'extraction par butanol

On fait une extraction liquide-liquide, pour la filtrante de l'eau précédant et butanol, on ajoute au filtrâtes de l'eau une quantité de 80 ml de butanol on fait une extraction par l'ampoule a décanté on répète l'opération trois fois puis on ramace les phases organiques obtenus de

butanol, on le sèche avec MgSO_4 . Puis on évapore par rotavapor jusqu'à l'obtention d'un liquide dense on le dilué par 5 ml de l'éthanol [99].

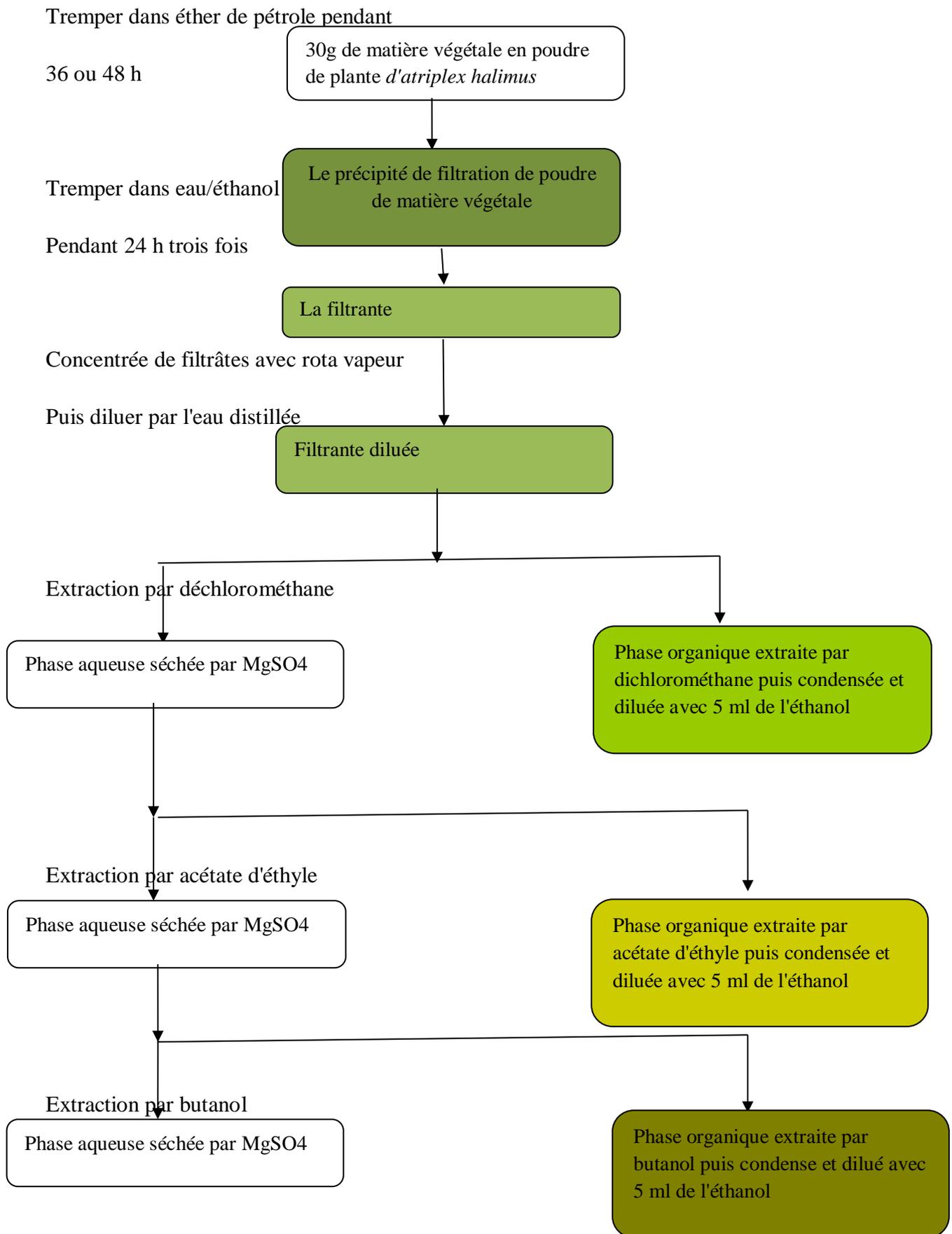


Figure II-2 : Schéma technique classique de méthode d'extraction de plante

II-5-Tests de reconnaissance des ions

L'opération d'analyse des ions dans notre plante *Atriplex halimus* de la région d'Ouargla Algérie a été effectuée au laboratoire d'INRAP en Tunisie ; il suffit d'une analyse qualitative et quantitative car la plante est très riche en sels minéraux.

II-5-1 Test de flamme

Un test de flamme est une méthode d'analyse utilisée par les chimistes pour détecter la présence d'ions métalliques, cette méthode est basée sur la couleur de la flamme produite lorsque l'ion est chauffé, les électrons des ions métalliques gagnent en énergie et peuvent sauter sur des niveaux d'énergies plus élevés [100].

- Couleur de flamme de Na^+ jaune
- Couleur de flamme de K^+ violet
- Couleur de flamme de Ca^+ rouge orangé

La présence d'un élément chimique dans un corps peut être mise en évidence expérimentalement en le plaçant dans la flamme d'un bec Meker. Il s'agit de réaliser en toute sécurité des tests de flamme d'une façon très simple permettant d'obtenir des résultats fiables et spectaculaires.

a-Méthode

Il en existe essentiellement deux :

- L'une consistant à placer une spatule contenant dans la flamme de bec Meker dans le cas d'un corps sous forme solide.
- L'autre étant d'utiliser une pipette simple contenant le corps en solution, de placer comme précédemment dans la flamme d'un bec Meker.

b-Procédés

Préparer une solution à presque 10^{-1} mol/l du corps à étudier démontrer le vaporisateur et introduire presque à 2 ml dans le réservoir, après remontage pulvériser à presque 3 cm, la solution dans le haut de la flamme. Le bec Meker doit être réglé de manière à obtenir une flamme haute, la vaporisation on étant très fine, vous obtiendrez une flamme colorée sur toute sa hauteur et durable.

II-5-2 test de TCP-AES (inductively coupled plasma –atomic émission spectroscopy) le spectrométrie d'émission atomique par torche plasma

Ce test est une technique basée sur le couplage d'une torche à plasma et d'un spectromètre d'émission atomique, c'est une technique d'analyse qui est de plus en plus répandue dans les laboratoires d'analyse, pour déterminer la composition chimique élémentaire d'un élément [99].

Composition d'un spectromètre TCP-AES est divisé en quatre parties

- Le system d'introduction d'échantillon est constitué d'une pompe péristaltique, d'un (nébuliseur) et d'une chambre de nébulisation
- Le system d'atomisation
- Le système d'excitation
- Le système optique

II-5-3 Le system de détection

Les conditions opératoires dans des conditions habituelles sont les suivantes :

Débit du gaz auxiliaire 1.5 l/min, temps de lecture globale de tous les éléments 5 s, pression à l'intérieur en nébuliseur 180-220 Kpa, débit du nébulisat dans le nébiliseur 1.2-1.3 KWh, débit du plasma 15.0 l/min, volume d'échantillon prélève de presque de 4 ml.

Les échantillons sont placés sous le passeur dans des tube polypropylène chaque échantillons et lu trois fois. la valeur moyenne est ensuite prise la durée d'analyse d'un échantillon n est d'environ trois minutes , la solution de rinçage est une solution d'acide nitrique ou d'acide chlorhydrique à 5 % sauf pour les échantillons acidifier à l'eau régale pour lesquels la solution de rinçage est une solution d'acide fluorhydrique de 5 % [101] .

II-6- Analyses antibactériennes

Dans notre travaille le but été d'étudiée les extraits de plante *Atriplex halmus* de la région de Ouargla (Algérie) pour estimer les extraits actifs et aussi l'étude d'activité anti-oxydante et l'effet antibactérienne aux races des bactéries différentes de positif gramme (+) ou négatif gramme (-), le choix de ses race des microbes par ce que elle est considérées la responsable d'effectué beaucoup des malades pour l'homme.

II-6-1 L'activité biologique des extraits phénoliques des plantes *Atriplex halimas*

Prenant 3 ml de solution d'extrait de la plante *Atriplex halimus*, obtenus par l'extraction classique, on l'ajoute un volume de 5 ml de l'éthanol absolu, puis en filtrant l'extrait de cette plante. L'éthanol à aucun effet secondaire contre les extraits et aussi pas de toxicité. À la cour de notre travail d'analyse, on prend cette solution, on prépare des prélèvements d'extraits de dichlorométhane, d'acétate d'éthyle et de butanol, pour l'étude biologique en prépare prélèvement de 15 μ l pour l'évaluation de l'effet antibactérienne, pour l'efficacité antibactérienne nous avons choisi les prélèvements suivantes (5, 10, 15, 20, μ l) des extrait brute. A la fin, les extraits sont gardés dans le frigo [102]

II-6-2 Etude de l'effet antibactérienne des extraits de plante *Atriplex halimus* par la méthode de diffusion de disque

II-6-2-1 Préparation des disques

Les disques sont préparés de papier wattman N° 1 de diamètre de 6 mm, puis métrés dans une verre fermé pour la stérilisation dans l'appareil Autoclave pendant 20 minutes dans une température de 120 °C puis on sature chaque disque par mettre 10 μ l de chacune des extraits de plante [102]

II-6-2-2 Préparation de milieu alimentaire

On utilise le milieu de Muller Hinton qui est un milieu spéciale pour la nourriture des bactéries, de façon de fondre ce milieu dans un bain marie ensuite on le distribue dans des plaques pétri en la laisse séchée avant l'utilisation. [102]

II-6-2-3 Préparation de suspension bactériale

Métrant une quantité de colonie bactériologique dans un tube à 10 ml de l'eau physiologique stérilisé de ferme de bactérie avec une seringue de d'incubation de platine (anse de platine) puis on agitera le tube pour obtenir une suspension bactérienne [102].

II-6-2-4 Méthode d'implantation

Après un temps de 15 minutes de préparation de suspension bactériale on vadrouille c'est-à-dire on charge une brosse de coton (stérile Cotton swabs) dans le tube contient de suspension bactérienne, et on balayer sur la surface de boîte pétri contient la gélose Muller Hinton préparer

on avant sur une seule voix de haute au bas l'opération répéter plusieurs fois on change la place par tourner la boîte de 60° chaque fois [103].

II-6-2-5 Distribution des disques

Les disques son distribuer avec un pince stériliser ou on mettre chaque disques saturée d'une concentration de l'extrait dans une partie de plat de boîte pétris [103].

II-6-2-6 Processus d'incubation

Après avoir terminé l'opération de classer les disques on mettre les plats de boîte pétri dans l'appareille de incubateur dans une température de 37 °C et pendant 18-24 heure [103].

II-6-2-7 Détermination des résultats

Après 18 ou 24 h de l'incubation les résultats son déterminée par la mesure de diamètre de zone de l'inhibition (diamètre de zone d'inhibition par millimètre c'est la place ou les races bactéries ne son pas résistante donc son pas dormir) [103].

II-6-3 La sensibilité de bactéries étudiées sur quelque antibiotique

Les infections bactérienne sont causé par différents micro-organisme et sont la cause de maladies, les plus fatales des épidémies les plus rependues de nombreux antibiotique sont utilisation abusive bactérienne. Un antibiotique est une substance antibactérienne devient complexe du fait que de nombreuse bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qu'elle constitue un problème de santé important à l'échelle mondial.

L'étude de sensibilité des bactéries sur les antibiotique étudier son effectuer par préparation des disques et d'un diamètre de 6 mm dans le milieu de Muller Henton pour faire détecter son activité contre les isolations bactériennes qu'on la teste l'effet antibactérienne de notre extraits [103].

II-6-3-1 Ampicilline

Ampicilline est un antibiotique très largement prescrite en pratique courante dans le traitement des infections respiratoire, puissant inhibiteurs de bétalactamses, retrouve son activité sur les germes producteurs de béta-lactamases tout en conservant sa performance sur les grams +. [104].

II-6-3-2 Nystatine

La nystatine appartient à la famille polyène qu'il son issue des sécrétions de streptomyces. Les polyène forment des pores dans la paroi du champignon ce qui provoque la sortie de potassium et de sodium du cytoplasme fongique, certains souches notamment de candida albicans peuvent développer des résistances aux polyène [105].

II-7 Tests effet antioxydant pour les extraits flavonoïdes

Les anti-oxydant ont un rôles très important dans le corps humaine, par leurs effets de faire éviter l'oxydation des acide gras non saturées dans les membrane des tissus et des cellules par la réaction de radicaux libre. Par conséquence utilisations des anti-oxydant synthétique sont contre-indiqué à cause de leurs toxicités à des concentrations élevée, c'est pourquoi nous intéressant de faire des recherche pour trouver des anti-oxydant naturelles [106] a travers les sources des plantes. Comme les plantes sont des sources importante, comportant des produits et composée naturelles ayant des caractéristique anti-oxydante et efficace comme les composées phénolique, les acides phénolique, les flavonoïdes, les tannins, l'acide ascorbique, vitamine C et le tocophérol (vitamine E) et β -carotène [107]. L'effet la plus part des anti-oxydant de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénolique dans leur structure [108].

Ces composées aide à la protection du corps humaine contre les effets des espèces d'oxygène active tel que l'oxygène libre, radicale de superoxide, peroxyde d'hydrogène et racine de hydroxyde qui se forme comme des produits secondaire pendant le métabolisme des cellule où travail ces espèce de radicaux a la formation des peroxydes gras et provoque aussi des dommage au acide nucléaire ADN déficient en oxygène (acide deoxy-ribo nucléaire) et la division les cellule de protéine au molécule biologique[108]

II-7-1 Teste de l'ABTS ou TEAC

Comme le test au DPPH, cette analyse simple dans son application est en tout point complémentaire au test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), il apparait toutefois moins sensible. Le principe est de réagissant avec le persulfate de potassium $K_2S_2O_8$ l'ABTS acide 2,2' azino-bis (3 ethyl benz-thiazoline-6-sulfonique) pour former par arrachement d'un electron à un atome d'azote, le radical $ABTS^{\cdot+}$, de couleur bleu à verte, l'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange et du radical mesuré par

spectrophotométrie à 734 nm et proportionnelle à concentration en antioxydants la méthode est généralement standardisée par rapport au trolox [108]

La capacité antioxydant en équivalent trolox TEAC donne une mesure de la force antioxydante, d'une substance en unité d'équivalent trolox par exemple, en μM pour 100 g, ceci permet de mesurer la capacité antioxydant d'un mélange sans devoir évaluer celle de chacun de ses constituants, elle est le plus souvent mesurée à l'aide de la décoloration de l'ABTS [108].

II-7-2 Teste DPPH'

Dans notre étude avons fait le test de DPPH' pour les trois extraits de la plante d'*Atriplex halimus* à l'institut d'INRAP en Tunisie.

Le test DPPH' est un test très important pour connaître l'effet anti-oxydant. Il est facile et rapide et ça coûte pas trop cher, le test DPPH' est connu d'après le savon Brand –Williams à l'année de 1985, ce test nous permettant de mesurer la puissance des composés synthétiques et les extraits des plantes de déplacer les radicaux libres, le test DPPH' est caractérisé par la formation d'un radical libre stable de composé azoté Diphenylpicrylhydrazyl. Cette stabilité résulte de la situation concentrée de l'électron libre au niveau de la molécule, il est basé sur la réaction de réduction de radicaux de DPPH', d'où la présence d'un composé anti-oxydant avec le pouvoir de donner un électron ou une radicaux hydrogénique, qui est remarquée dans la réaction colorée de radicaux de DPPH' de couleur violet foncé qui se transforme en une molécule stable DPPH-H qui avait une couleur jaune [106].

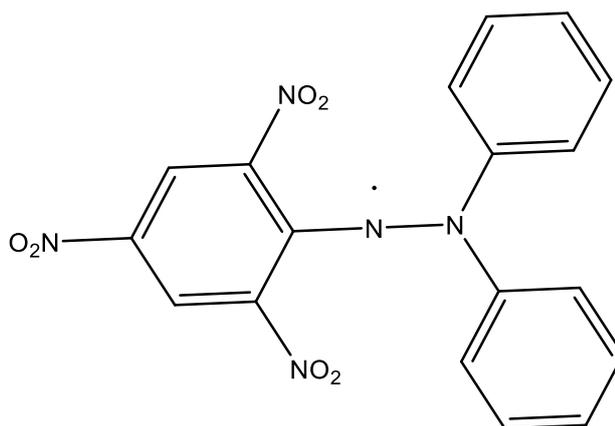


Figure II-3 : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl; (di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl)iminoazanium)

La figure II-4 présente la décoloration de DPPH' en cour de la réduction

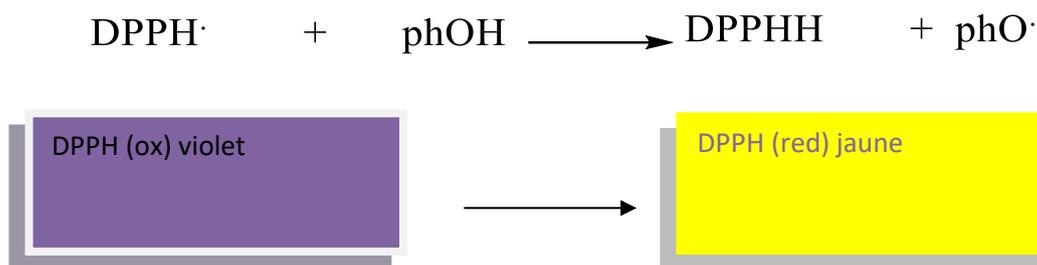


Figure II-4 : Décoloration caractéristique de DPPH' réduit

L'activité antiradicalaire de DPPH' a été déterminée en se basant sur les essais décrits par **(Brand-Williams)** [104] avec quelques modifications. Ainsi, dans un volume de 1 ml, on prépare différentes concentrations de l'extrait à tester dans le méthanol, on ajoute, ensuite 2 ml de la solution de DPPH' de concentration 0,1 mM. Après agitation vigoureuse, le mélange est incubé pendant 1 heure à l'obscurité et à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 515 nm par un spectrophotomètre UV vis (JASCO-V530). Une solution contenant 1 ml de méthanol et 2 ml de DPPH' considérée comme blanc analytique est préparée en parallèle, nous avons préparé des prélèvements en mg/ml du concentration de 0, 5, 10, 15, 20,30 et 40, pour les extraits de dichlorométhane et acétate d'éthyle et de prélèvements en mg/ml du concentrations de 0, 20, 40, 60, 80 et 100. Pour l'extrait de butanol. Pour le test de trolox des prélèvements en micro mol de la concentration varies de 0, 10, 20, 40, 60, 80 jusqu'à 100 pour la capacité antioxydant exprimé en équivalent de ce dénier [106].

L'estimation de l'activité antiradicalaire est exprimée par la valeur du pourcentage d'inhibition (%I) calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\%I = [(Abs_0 - Abs_1)/Abs_0] \times 100$$

Avec Abs_0 : absorbance du blanc analytique.

Abs_1 : absorbance de la solution en présence d'extrait.

La courbe donnant la variation du (%I) en fonction des différentes concentrations de l'extrait, permet de déterminer l'activité antiradicalaire ou EC_{50} (Efficient Concentration 50%), définie comme étant la quantité d'extrait nécessaire pour diminuer de moitié la concentration initiale de DPPH' [106].

II-8 Etude chromatographique des extraits

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique d'analyse très répandue, son développement qui n'a pas cessé depuis les années quarante. Date des premières applications. Est du à son extrême sensibilité à sa poly valence permise par nombreuses phase stationnaires, mise au point des analyses nouvelles [109].

Elle s'applique dans la séparation des composés volatiles ou susceptibles d'être telles, par augmentation de température, sans décomposition. En effet, elle est utilisée dans les analyses de certains extraits naturels les analyses environnementales les industries pharmaceutiques et les contrôles de qualité [110, 111,112].

Dans les analyses des mélanges naturels la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-MS) permet l'identification des constituants élués ou bien à la limite fournit le plus d'informations structurales système [110].

La CPG-MS en mode d'ionisation impact dans les analyses des huiles essentielles, terpénique , obtenues à partir des plantes aromatiques , elle est devenue presque la technique de base pour leurs étude aussi bien qualitativement que quantitativement , surtout l'ors qu'elle est combinées avec des méthodes d'ionisation plus douces et de séparation plus fines[113].

L'analyse des flavonoïdes, par cette technique n'est pas très recommandée, Vu la non volatilité des ces composés, mais vu les progrès considérables constatés dans cette technique , combinée aux évolution importantes de la spectromètre en teneur , leurs analyse , par cette technique , sont devenus de plus appliquées et permettent d'obtenir des information très importantes sur leurs structures et la composition des mélanges qui les renferment [113].

II-8-1 Chromatographie en phase gazeuse split /splitless

Le rôle du chromatographe est de séparer les constituants d'un mélange. Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Il existe différents types de détecteurs mais le spectromètre de masse tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurelles sur les composés séparés par chromatographie [113].

a- Injecteur

L'injecteur est une zone chauffée où l'échantillon est introduit en solution au moyen d'une microseringue puis vaporiser et mélangé au gaz vecteur. Le gaz vecteur, classiquement de

l'hélium, constitue la phase dite mobile. Son rôle consiste à véhiculer les analyses depuis l'injecteur jusqu' au détecteur via la colonne analytique puis il l'amène dans le flux gazeux en tête de colonne. Il existe des familles d'injecteurs, le premier regroupe les injecteurs dits à fuite. Le mode d'injection le plus répandu est l'injection en split ou injection dit à flux. Il est utilisé pour l'analyse de solutions concentrées.

Très simple mettre en œuvre l'injection revue bibliographique. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau et analyse par CPG-MS en mode split présente néanmoins un inconvénient : des problèmes de discrimination sont fréquemment rencontrés lorsque la solution à analyser contient des composés dont les volatilités sont très homogènes (les plus légers auront tendance à s'échapper par la fuite alors que les produits lourds, mal vaporisés, resteront majoritairement dans l'injecteur).

La seconde famille regroupe les injections sans fuite. L'injection splitless, ou sans division de flux, est utilisée pour introduire des analyses en solution diluée.

Dans un premier temps, le solvant joue le rôle de phase stationnaire vis-à-vis des différents constituants. Cette technique est plus performante que le splitless en terme, de répétabilité et de sensibilité.

b- Colonne

Elle se présente sous forme d'un tube en silice, enroulée sur lui-même et de longueur allant de 1 à plus de 60 m. Elle est placée dans une enceinte à température régulée. Entraînés par un gaz vecteur inerte, les analyses étudiées sont séparés en fonction de leur capacité d'interaction avec la phase stationnaire.

c- Détecteur

Il s'agit du module qui va permettre de détecter voir d'identifier les composés en sortie de colonne.

II-8-2 Mode de détection par la spectrométrie de masse

Lorsqu'un composé moléculaire est soumis à l'analyse par spectrométrie de masse, un processus à plusieurs étapes est initié. Les étapes ainsi distinguées sont résumées [113] comme suit :

- A-** Des molécules présentes dans l'échantillon passent à l'état gazeux par effet du vide et sont ionisées par un des procédés existants. Il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation des molécules de départ.

B- Accélération : Sitôt formés, les ions sont dirigés vers le dispositif de séparation par l'effet d'un champ électrique qui accroît leur énergie cinétique.

C- Séparation : Les ions sont alors triés suivant leur rapport leur masse/charge.

D- Détection : Après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible

Dans notre étude on a essayé de détecter les polyphénols ou bien les flavonoïdes existe dans l'extrait de huile de hexane, l'extrait de dichlorométhane, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait de butanol par l'appareille de CPG-MS, (split/splitless) au laboratoire de l'institut de INRAP à Tunisie.

II-8-3 Préparation des echantillons

Les analyses CPG-MS sont été réalisées sur chromatogramme Agilent technologies 6890 N couplé à un detecteur de masse Agilent 5973 N à dynode haute energie filtre quadipolaire mode d'ionisation impact electronique d'une colone capillaire apolaire HPS-MSL de 30 m , le diamètre intérieure 0.25 mm filn 5% diphényl diméthyl polysiloxane d'epaisseur 0.25mm les condition d'analyse utilisée sont les suivantes:

Température de l'injection 250 °C. Température de l'injection 280 °C. Source d'ions 230 °C détecteur quadri polaire 150 °C . Gaz vecteur Hélium 0.5 Bar à 100 mg d'extrait sont additionnées 50ml de HCl 2N , l'ensemble est portie à ébullition à reflux pendent 2h . Après refroidissement l'hydrolysat est conce ntré sous vide et séché sous azote à 3 mg de cette fraction sont additionnés 0.5 ml de CH₂Cl₂ distilé et 0.2 ml de N-méthyl-N-triméthylsilyin fluoroacétamide (MSTFA)[114].

Après 12 h d'incubation à la température ambiante le mélange CH₂Cl₂-MSTFA est évaporé à l'évaporateur rotatif le résidu sec est repris avec 1 ml de CH₂Cl₂ dons un pilulier pour être injecté en CPG-MS [114] .

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce chapitre nous représentons les résultats de toutes les expériences réalisées pour notre étude phytochimique, antibactérienne et antioxydant concernant la plante *atriplex halimus*, ainsi que leur discussion

III-1 Rendement de l'extraction des huiles

D'après le résultat obtenue sur les masse pesé de l'extraction par l'éther de pétrole et l'hexane on remarque que le poids pour l'éther de pétrole est supérieur par rapport à celle de l'hexane ce qui nous permettent de faire une analyse particulière avec l'éther de pétrole, tel qu'illustré dans le tableau III-1.

Tableau III- 1 : Rapport de rendement d'extraction en deux solvants.

Les extraits	Le rendement
Extrait par éther de pétrole	8%
Extrait par l'hexane	6%

Les rendements ont été calculés pour chaque extraction par la relation suivante :

$$R\% = \left(\frac{m}{m_0} \right) \cdot 100$$

Ou

m et la masse de l'extrait obtenu

m₀ et la masse de plant utilisée

La technique d'extraction par solvant volatil a pour but d'extraction des huiles, les solvants les plus utilisées sont l'éthanol, hexane, éther de pétrole. Après imprégnation et condensation par appareille soxhlet multipoint, plusieurs avantages peuvent être enregistré. En revanche le rendement d'extraction présenté dans le tableau III-1, représente des chiffre un peu proche mais on peut dire que l'extraction le plus meilleur est obtenu avec l'éther de pétrole ce qui nous amené à continu notre analyse par l'extrait de l'éther de pétrole grace à leur bas température d'ebulition de 40 °C. 30g pour de la poudre de la plante fournie une quantité de 2.4 g de huile selon le référence [115], d'une couleur vert foncée et une grande densité aussi une viscosité élevée.

Conclusion

Après l'extraction des huiles de la plante *Atriplex halimus* on a obtenu le rendement d'extraction par éther de pétrole et un peu élève de celle de l'hexane dans cette technique la qualité et la quantité de mélange extrait sont déterminer par le type de chaleur, ou est justifie

par la température d'ébullition bas de l'éthre de pétrole que de l'hexane qu'est permet de garder les propriétés d'huile extrait bien que la méthode soit relativement simple et très efficace..

III-2 Evaluation des propriétés physique et chimique

III-2-1 Evaluation des propriétés physiques des huiles

Les propriétés physiques de huile de plante *Atriplex halimus* a été calculé en utilisant la relation mathématique (II-1et II-2), les résultats du calcule sont cité dans le tableau (III-2) ci-dessous

Tableau III-2 : Propriétés physiques des huiles d'extrait d'*Atriplex halimus*.

	Les propriétés physiques	
	La densité spécifique g/cm ³	Indice de réfraction nm
Extrait d'éther de pétrole	0.7481	1.3997
Extrait de l'hexane	0.7471	1.3996

D'après les résultats mentionné dans le tableau III-2 et Par comparaison des propriétés physique de l'extraction par les deux solvants on estime que la densité spécifique et l'indice de réfraction des extrait par l'éther de pétrole et l'hexane son très proche et cela est conforme avec les resultats de S. Bencheikh [116].

III-2-2 Evaluation des propriétés chimiques des huiles

Les propriétés chimique de huile de plante *Atriplex halimus* a été calculé en utilisant la relation mathématique (II-3, II-4 et II-5), les résultats du calcule sont cité dans le tableau III-3 ci-dessous :

Tableau III-3 : Propriétés chimiques des huiles d'extraire d'*Atriplex halimus*.

Les extraits	Les propriétés chimiques		
	Nombre d'acide mg KOH/g	Nombre de saponification mg KOH/g	Nombre d'ester mg KOH/g
Extrait d'éther de pétrole	7.224	11.436	4.312
Extrait de l'hexane	7.116	11.425	4.309

D'après les résultats obtenu de nombre d'acide et nombre de saponification et nombre d'ester on peut dire que les huiles de plante *Atriplex halimus* contiennent une petite quantité des acides et aussi ses lipides donne un bon taux pour la saponification et une valeur importante pour l'estérification, les valeurs des résultats pour l'extrait d'éther de pétrole est proche de celle de l'hexane ce qui en accord avec les résultats de S. Bencheikh [116].

D'après les résultats des propriétés physique et chimique de l'extrait d'huile on a préféré de continuer notre travail par l'extrait de éther de pétrole grâce à fiabilité des valeurs obtenu.

Conclusion

Les valeurs de la densité spécifique, indice de réfraction, nombre (d'acide, saponification et d'ester) sont influé par le moment de récolte le type de terrain la pureté des extraits la température et la composition chimique de ces extrait de huile étudié, qui est renseigné par un grand nombre de facteurs tels que le phénotype.

III-3 Contenu des tests préliminaires

Les résultats des tests préliminaire de l'existence de flavonoïde, flavonoïde libre flavonoïde glycosidé , alcaloïde , cardinoliode , tanins, stéroïde non saturée , stéroïde dérivée , stérol, terpène et saponiside dans la plante *Atriplex halimus* étudié et le taux de l'existence de chaque de ses composée son cité dans le tableaux III-4. Ces tests obéissent aux normes des réactions phytochimique de changement de couleur et des précipitations spécifiques indiquant la présence ou non des constituants.

Tableau III- 4: Taux d'existence pour l'analyse préliminaire de la plante *Atriplex halmus*

Testes chimiques préliminaire	Résultat
Les flavonoïdes	+
Les flavonoïdes libres	+
Les flavonoïdes glycosidiques	+
Les alcaloïdes	+
Les cardénolides	+
Les stéroïdes non saturée et les terpènes	+/-
Les saponosides	+
Les stéroïdes non saturées	+
Les stéroïdes dérivés	+
Les tanins	-

Ou

- (+) : présence
- (+/-) : présence incertaine
- (-) : absence

D'après les tests préliminaire effectuée sur la plante *Atriplex halimus* d'Ouargla, on conclu que : la plante est très riche en composés importants elle contient beaucoup des flavonoïdes contient pas mal des flavonoïdes libre aussi est riche en flavonoïde glycosedique qui nous intéressent dans cette étude. D'autre part elle contient pas mal des cardiniloides, les saponoside les stéroïde non saturées bien que les stéroïdes dérivées et pauvre en tanins et l'incertitude de test des stéroïdes non saturée et des terpènes.

Conclusion

L'analyse des tests préliminaires a permis de mettre en évidence la richesse de la plante *atriplex halimus* en flavonoïdes, flavonoïdes libres, flavonoïdes glycosidiques, alcaloïdes, cardinolides, saponosides, stéroïdes non saturées et stéroïdes dérivés, mais cette plante elle est pauvre en tanins et en stéroïdes non saturée et les terpènes les résultats sont pas bien illustrés.

III-4 Teneur d'extraction par éthanol/ eau

Dans le tableau III-5 présentent les valeurs des rendements de l'extraction par macération par éther de pétrole, hexane et extraction par eau /éthanol et d'autre propriétés caractérisés en couleur et odeur

Tableau III-5 : Rendement et quelque propriétés caractérise au extraits obtenu par macération et eau/éthanol

Extrait	Rendement	Couleur	Odeur
Macérât d'éther de pétrole	8%	Vert foncée	désagréable
Macérât de hexane	6 %	Vert foncée	désagréable
Extrait de dichlorométhane	2%	Verte	Aucune odeur
Extrait d'acétate d'éthyle	1.46%	Verte jaune	Aucune odeur
Extrait de butanol	2.22%	Verte brune	Aucune odeur

D'après l'extraction de la poudre entier de la plante *Atriplex halimas* par macération en éther de pétrole ensuit extraction par eau /éthanol suivie d'une extraction de dichlorométhane, acétate d'éthyle et butanol on a obtenu trois extraits 1, 2 et 3:

L'extrait de macération par éther de pétrole a donné un extrait visceux très dense avec une couleur verte foncé et une odore désagréable. Nous avons obtenus pour 30 g une quantité de 2.4 g donc le rendement d'extraction est de 8 % selon le référence [117].

L'extrait de macération par hexane donne un extrait visceux très dense a une couleur vertefoncé et une odore désagréable. Nous avons obtenus pour 30 g une quantité de 1.8 g donc le rendement d'extraction est presque de 6 % selon le référence [117].

Extrait 1 : extrait de dichlorométhane a un couleur vert dans la solution de dichlorométhane et une quantité de 0.60 g a y' an aucun odeur, ou le rendement est de 2 % selon le référence [117].

Extrait 2 : extrait de acétate d'éthyle a un couleur vert-jaune dans la solution de acétate d'éthyle e et une quantité de 0.43 g a y' an aucun odeur ou le rendement est de 1.46 % selon le référence [117].

Extrait 3 : extrait de butanol a un couleur vert-brune dans la solution de butanol et une quantité de 0.66 g a y' an aucun odeur ou le rendement est de 2.22 % selon le référence [117].

L'extraction par solvant pour l'échantillon du plante *Atriplex halimus* dans sa forme entière (feuille, branche, racine, grains et fleur), a travers de macération par l'éther de pétrole et hexane, les macérâtes ont donné un rendement très élève par comparaison de celle extraite par soxhlet multipoint. Pour l'extraction de l'eau /éthanol la distillation est basée par le principe de rotavapeur, on a obtenu un rendement faible par rapport à la matière sèche, ou l'éthanol absolu à absorber tous la matière végétale et dans une courte durée. Donc l'essence de la substance végétale était absorbé dans les solutions d'extraction utilisées, le rendement le plus élevée est celle du butanol car l'extraction de l'éthanol au butanol est très favorable aussi les polarités des solvants joue un rôle.

Conclusion

Le suivie de l'extraction des huiles, on a remarqué la présence d'un résultat identique entre le rendement de l'extraction par soxhlet multipoint et macération en utilisant l'éther de pétrole et hexane, l'extraction de décantation par les solvants de dichlorométhane, acétate d'éthyle et butanol à donner un faible rendement.

III-5 Résultats des tests de reconnaissance des ions

Le calibrage standard chimique à 500 ml d'échantillon pour Na 10 mmol/l dans 100 mmol/l d'échantillon.

Celon la référenve [118], la concentration standard d'un produit dans les conditions optimal performance pour un photomètre de flamme sont;

- quand le mesure standard actuel de sodium 10 ppm
- quand le mesure standard actuel de potassium 10 ppm
- quand le mesure standard actuel de calcium 100 ppm

Le tableau III-6 regroupe les teneurs des ions en ppm.

Tableau III-6 : Teneur de Na, K et Ca dans la plante d'*Atriplex halimus* par la technique de flamme et ICP-AES.

Type d'analyse des métaux	Technique d'analyse validée	Teneur mesurée en ppm
Na	Flamme	197.59
K	Flamme	81.44
Ca	ICP-AES	9.21

D'après les résultats présentés dans le tableau, on distingue que la teneur de Na est très élevée par rapport au K et Ca. La teneur en sodium a dépassé le montant de mesure 10 ppm. Les résultats de tests de flamme donnent une valeur de 197.59 ppm ce qui nous explique le goût salé du plant en générale, elle est riche aussi en K car la teneur de potassium par le test de flamme est de 81.44 ppm dépasse aussi le rapport de mesure 10 ppm. Pour le Ca les résultats par le test d'ICP-AES à donner un rapport moyen, une quantité de 9.21 ppm qu'est aussi importante.

Le tableau III-7 regroupe les teneurs des ions en mg et ppm.

Tableau III-7 : Teneur de Na, K et Ca de Nigelle

L'élément	Teneur en mg	Teneur en ppm
Na	17.6	5.86
K	808	269.33
Ca	570	190

Le tableau III-7 de teneur en Na, K, et Ca de Nigelle montre que cette plante est riche en potassium et calcium avec une teneur faible en sodium de 5.86 ppm [119] par la comparaison de ces résultats avec les résultats obtenus d'éléments étudiés de la plante *d'Atriplex halimus* on déduit que la plante *d'Atriplex halimus* a une teneur très élevée en sodium de valeur de 197.59 ppm.

Conclusion

L'analyse de reconnaissance des ions de sodium, potassium et calcium par les tests de la flamme et test de ICP-AES montre que la plante de *Atriplex halimus* étudiée est très riche en sels minéraux, surtout sel de chlorure de sodium.

III-6 Résultats des effets antibactériens

Représentant les maladies à travers les microbes et les fongiques la cause directe de la défaisance ou faiblesse immunitaire, plus que la résistance contre les antibiotiques par conséquent on a toujours besoin de trouver les facteurs favorables contre les micro-organismes. Plusieurs recherches ont désigné la bonne utilisation des antibiotiques naturels comprenant les plantes contre les micro-organismes (bactérie, microbe) aussi leur facilite de l'obtenir. Aussi elle ne coûte pas trop chère elle n'avait pas beaucoup d'effet secondaire et ça est important car l'utilisation de plantes comme des médicaments donne avec le temps de bons résultats dans les guérissons et attaque les bactéries ou donc elle avait des propriétés inhibitrices.

III-6-1 Effet antibactérien des trois extraits

L'activité antimicrobienne a été testée contre six souches bactériennes. Après incubation à 37°C pendant une nuit, 4 à 5 colonies bien isolées sont transférées dans une solution saline. La suspension bactérienne est ajustée en comparaison à un standard Mc Farland 0,5 ($\sim 10^8$ UFC/ml) [120].

Après l'ajustement, un écouvillonnage est réalisé et la surface bactérienne est laissée sécher pendant au moins 30 min.

Des disques de papier Wattman sont placés sur le tapis bactérien à l'aide d'une pince stérile en appliquant une légère pression sur l'agar (Mueller Hinton), puis des prises de 15 μ l des extraits à étudier sont déposées sur les disques.

Le contrôle positif utilisé est un agent antibactérien standard qui est l'ampicilline pour toutes les souches sauf pour *Candida albicans*, on utilise la Nystatine. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h. Le résultat est exprimé en diamètre d'inhibition.

L'ampicilline 10 μ g/disque a été utilisée comme contrôle positif pour toutes les souches à l'exception de *Candida albicans* pour laquelle la nystatine 100 μ g/disque [120].

Dans le tableau III-8 sont présentées les valeurs des diamètres d'inhibition de chaque extrait étudié.

Tableau III- 8 : Valeurs des diamètres d'inhibition des trois extraits

Nom de la souche bactérienne	Diamètre d'inhibition (mm)			
	Ampicilline/ Nystatine	Extrait 1	Extrait 2	Extrait 3
	10µg/100µg	15µl	15µl	15µl
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 G(-)	11,75±0.3	12,5±0.7	-	10,00±0.0
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G(-)	13,75±1.0	11,75±1.0	-	9,75±1.0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 G(+)	35,5±0.7	11,5±0.7	-	9,5±0.7
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434 G(+)	37.5±0.7	19,75±0.3	9,25±0.3	15,25±0.3
<i>Streptocoque B (Streptococcus agalactiae)</i> G(+)	27,75±1.0	13,5±0.7	-	11,5±0.7
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	36±0.3	14,25±1.0	-	11,5±0.7

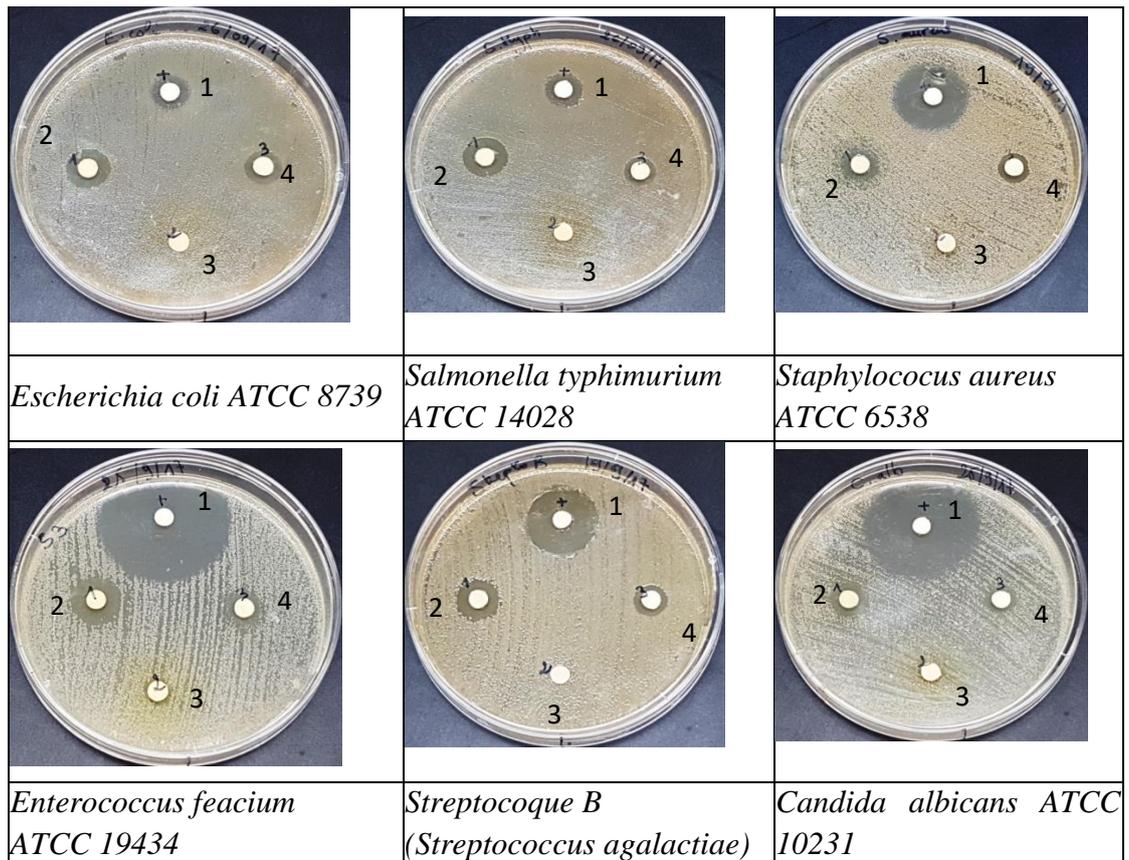


Figure III-1 : Images des zones d'inhibitions des trois extraits

Ou

- 1: Ampiciline/Nystatine
- 2: Extrait de dichlorométhane
- 3: Extrait d'acétate d'éthyle
- 4: Extrait de butanol

D'après les résultats cités dans le tableau on remarque que l'effet antibactérien de l'extrait de dichlorométhane, contre les bactéries de *Escherichia coli* est de 12.5 mm de diamètre d'inhibition comparé à celui de l'ampicilline qui est de 11.75 mm de diamètre d'inhibition donc elle est importante pour le prélèvement de volume 15 µl ou est une concentration standard pour connaître l'effet antibactérien.

III-6- 2 Changement de valeurs du diamètre d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits

L'activité antibactérienne des extraits de plante *Atriplex halimus* de la région de Ouargla a été étudiée contre les souches bactériennes *Escherichia coli*, *salmonella typhimurium*, *staphylococcus aureus*, *enterococcus faecium*, et *candida albicans*. Les bactéries *streptococcus B* ne sont pas étudiées, car elles sont rarement disponibles au laboratoire d'INRAP dans notre période d'analyse. En utilisant la méthode de diffusion en disque pour chaque extrait de dichlorométhane, acétate d'éthyle et butanol nous avons pris les concentrations (5, 10, 15 et 20 µl).

III-6-2-1 Test antimicrobien de l'extrait de dichlorométhane

Dans le tableau III-9 sont présentées les valeurs des diamètres d'inhibitions en fonction de concentration.

Tableau III- 9 : Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait 1.

Charge du disque (µg) Nom de la souche bactérienne	Diamètre d'inhibition (mm)				
	Ampicilline/ Nystatine	Extrait 1			
	10µg/100µg	5µl	10 µl	15 µl	20µl
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 G(-)	11,75±0.3	11±1.4	14,5±0.7	16,5±0.7	21±1.4
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G(-)	13,75±1.0	9,25±0.3	12,5±1.4	13,5±0.7	16,25±1.0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 G(+)	35,5±0.7	10,5±0.7	12,5±0.7	14±0.0	16,75±0.3
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434 G(+)	37.5±0.7	15,5±0.7	18,5±0.7	22,5±0.7	24,5±0.7
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	26±0.3	11±0.0	14±0.0	16,75±1.0	18±1.4

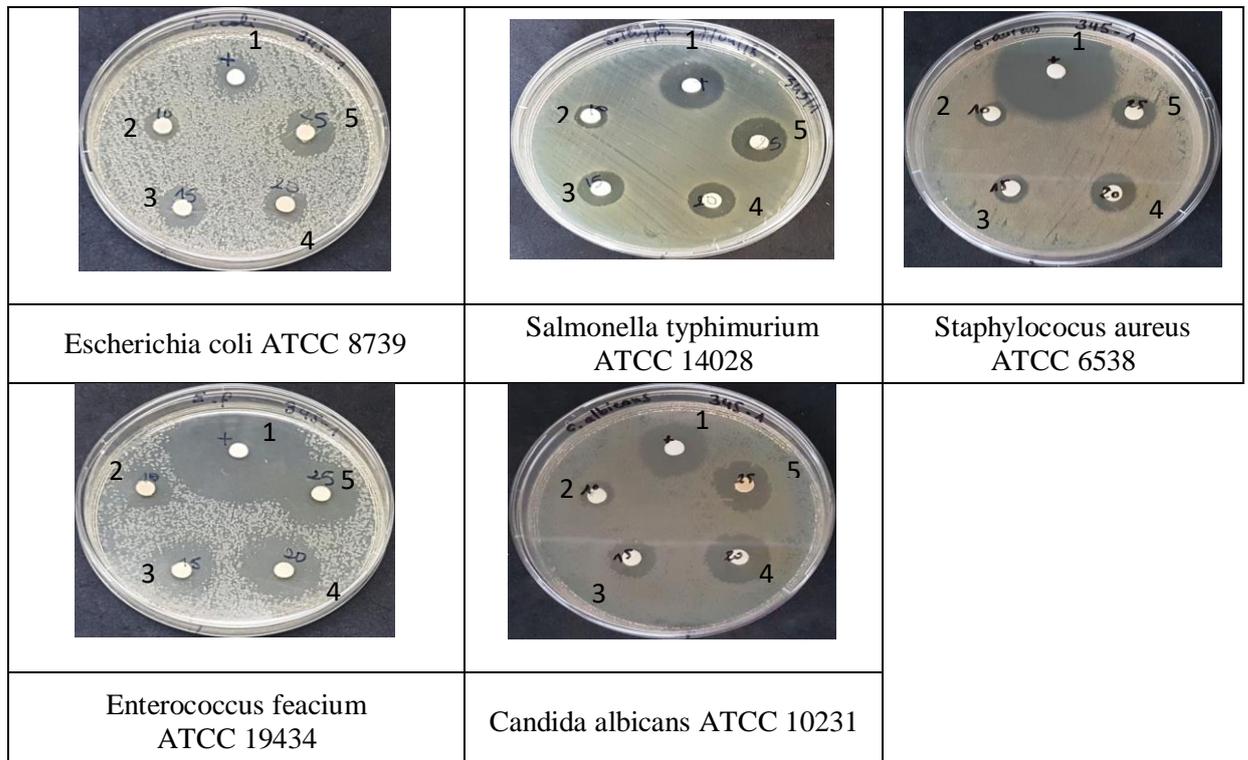


Figure III-2: Image des zones d'inhibitions des différentes concentrations de l'extrait 1

Ou

1 : Concentration de l'ampiciline / nystatine

2: Concentration de 5 μ l

3: Concentration de 10 μ l

4 : Concentration de 15 μ l

5 Concentration de 20 μ l

Le graphe de figure III-3 présente les valeurs des diamètres d'inhibition de chaque concentration de l'extrait 1 en comparant les colonnes de ce graphe.

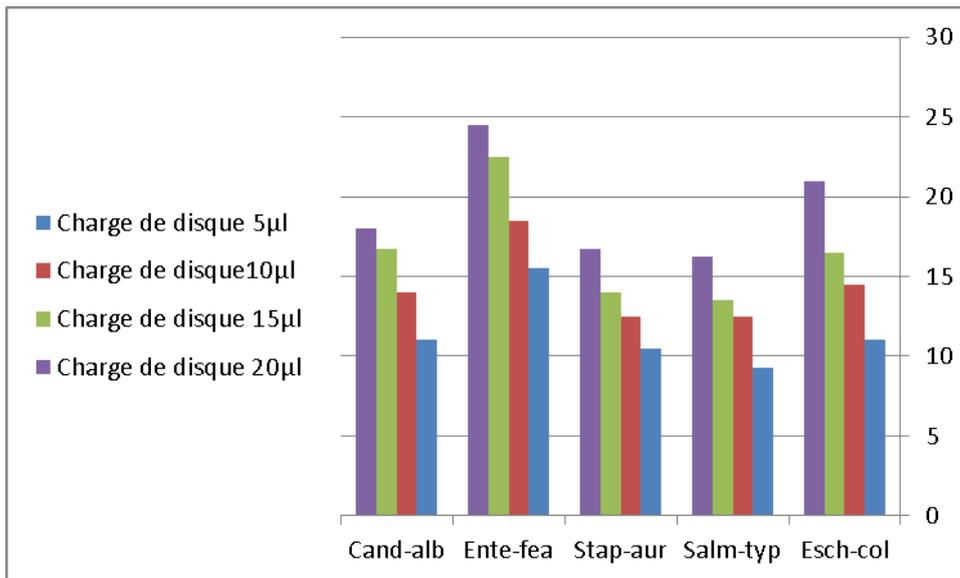


Figure III-3 : Comparaison des concentrations inhibitions de l'extrait 1

D'après les résultats du tableau III-9 on trouve que le diamètre d'inhibition augmente avec la concentration utilisée au test contre les souches bactériennes. Dans les bactéries de *Escherichia coli* le diamètre d'inhibition est en augmentation et d'une façon modérée. Avec les bactéries *Enterococcus faecium* l'extrait 1 donne un diamètre d'inhibition maximal de 15.55 mm pour une concentration de 5 μ l et un diamètre d'inhibition de 24.5 mm pour la dose de 20 μ l, par contre les bactéries de *Salmonella typhimurium* elle présente une résistance contre cet extrait car pour une concentration de 15 μ l on obtient un diamètre de 13.5 mm comme on peut le considérer comme un diamètre minimal de l'extrait 1. Comme il est indiqué dans le tableau III-9.

III-6-2-2 Test antimicrobien de l'extrait d'acétate d'éthyle

Dans le tableau III-10 sont présentées valeurs des diamètres d'inhibition en fonction de concentration

Tableau III-10 : Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait 2

Charge du disque (µg) Nom de la souche bactérienne	Diamètre d'inhibition (mm)				
	Ampicilline/ Nystatine	Extrait 2			
	10µg/100µg	5µl	10 µl	15 µl	20µl
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 G(-)	11,75±0.3	10,75±0.3	13±0.0	16,75±1.0	18,5±0.7
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G(-)	13,75±1.0	13,5±0.7	14,75±0.3	19,25±1.0	19,5±0.7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 G(+)	35,5±0.7	12,25±1.0	14±1.4	19,25±1.0	21,5±0.7
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434 G(+)	37.5±0.7	9,5±0.7	10±0.0	11,25±0.3	12,25±0.3
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	26±0.3	11,25±0.3	13,5±0.7	15,25±1.0	16,5±0.7

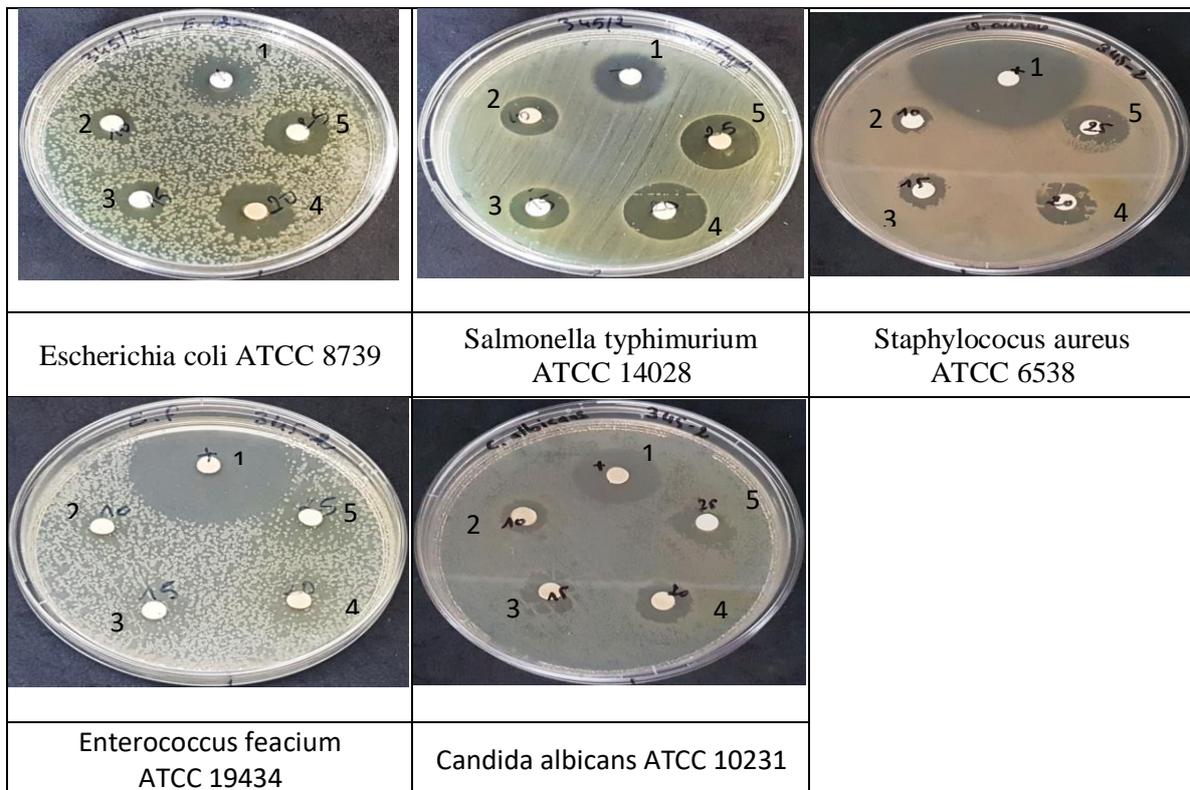


Figure III-4 : Images des zones d'inhibitions des différentes concentrations de l'extrait 2

Ou

1: Concentration de l'ampiciline /nystatine

2: Concentration de 5 μ l

3: Concentration de 10 μ l

4: Concentration de 15 μ l

5: Concentration de 20 μ l

Le graphe de figure III-5 présente les valeurs des diamètres d'inhibition de chaque concentration de l'extrait 2 en comparant les colonnes de ce graphe.

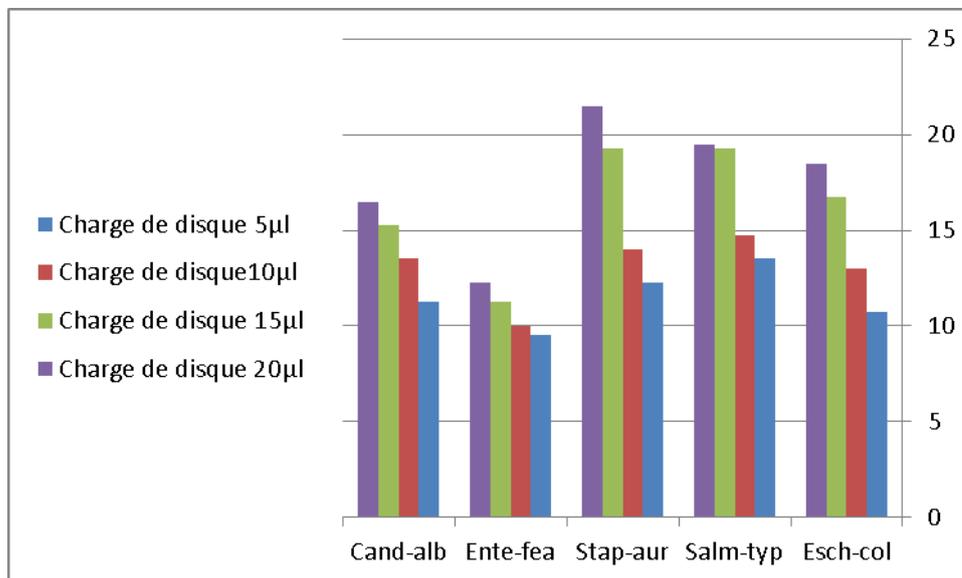


Figure III-5 : Comparaison des concentrations inhibitions de l'extrait 2

D'après les résultats de tests d'extrait 2 on remarque que les diamètres d'inhibition pour toutes les souches bactériennes étudiées sont presque proche car pour une concentration de 15 l le diamètre d'inhibition n'est pas dépasser 19.25 mm précisément les deux souches bactérienne de *salmonella typhimiruim* donne un diamètre d'inhibition de 13.5mm pour une concentration de 5 μ l. Dans la concentration 20 μ l, on observe quelque changement de l'efficacité inhibitrice car le diamètre maximal d'inhibition est de 21.5mm avec la souche bactérienne de *staphylococcus aureus*, comme il est indiqué au tableau III-10.

III-6-2-3 Test antimicrobien de l'extrait de butanol.

Dans le tableau III-11 sont présentées les valeurs des diamètres d'inhibition en fonction de concentration

Tableau III- 11 : Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait3

Charge du disque (μg)	Diamètre d'inhibition (mm)				
	Ampicilline/ Nystatine	Extrait 3			
	10 μg /100 μg	5 μl	10 μl	15 μl	20 μl
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 G(-)	11,75 \pm 0.3	12,25 \pm 1.0	19,25 \pm 1.0	24,5 \pm 0.7	28 \pm 0.0
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 G(-)	13,75 \pm 1.0	11,5 \pm 0.7	19,25 \pm 1.0	20,5 \pm 0.7	22,5 \pm 0.7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 G(+)	35,5 \pm 0.7	10,5 \pm 0.7	16 \pm 0.0	20 \pm 0.0	24,75 \pm 0.7
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434 G(+)	37.5 \pm 0.7	13,25 \pm 1.7	19,5 \pm 1.0	22,25 \pm 0.7	24,5 \pm 0.7
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	26 \pm 0.3	10,5 \pm 0.7	13,75 \pm 0.3	23 \pm 1.4	26,5 \pm 0.7

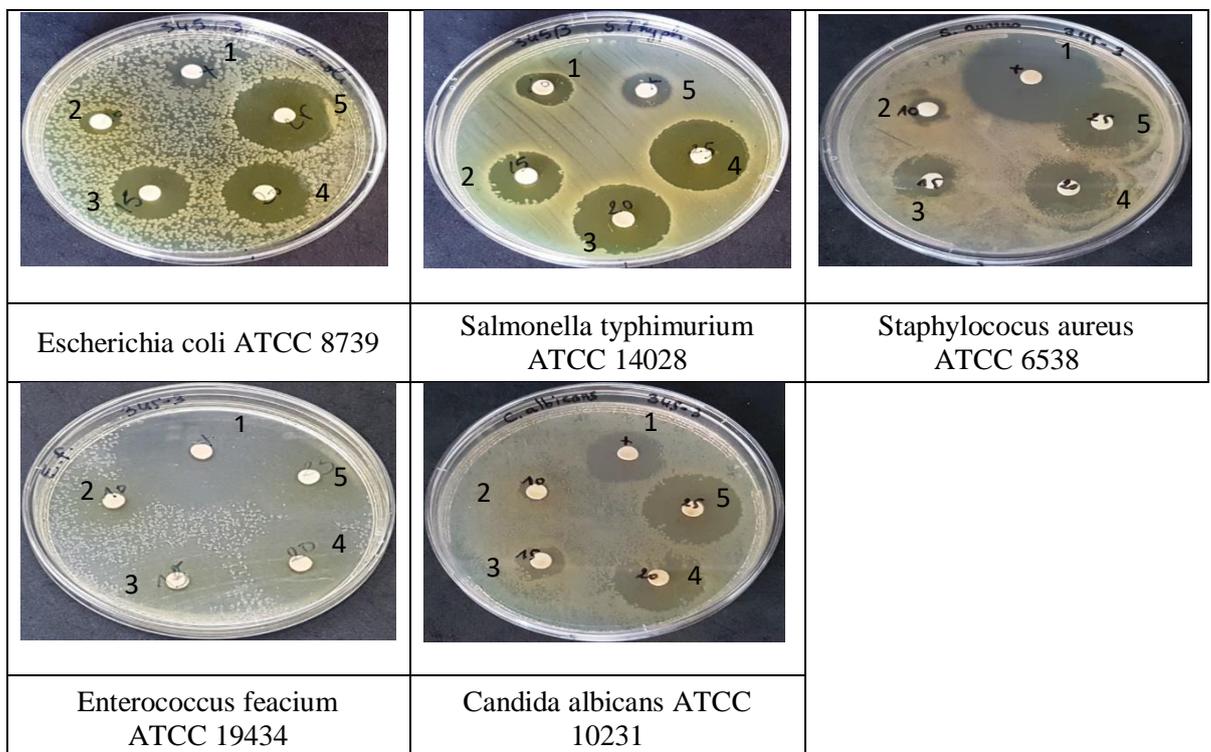


Figure III-6 : Images des zones d'inhibition des différentes concentrations de l'extrait3

Ou

1: Concentration de l'ampiciline / nystatine

2: Concentration de 5 μ l

3: Concentration de 10 μ l

4: Concentration de 15 μ l

5: Concentration de 20 μ l

Le graphe de figure III-7 présente les valeurs des diamètres d'inhibition de chaque concentration de l'extrait 3 en comparant les colonnes de ce graphe.

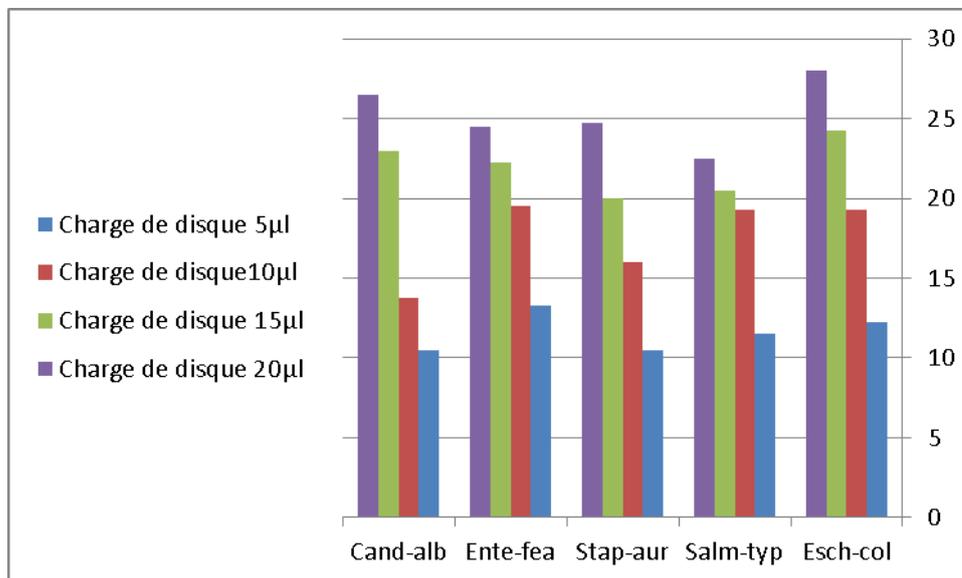


Figure III-7 : Comparaison des concentrations d'inhibitions de l'extrait 3

D'après les résultats de test antibactérien avec l'extrait 3 cite dans le tableau III- 11. On remarque que l'efficacité inhibitrice pour cet extrait est donne des bonnes valeurs de diamètre d'inhibition on fonction d'élévation taux des concentrations, ou la concentration 5 μ l donne un diamètre d'inhibition de 13.25 mm avec les bactéries de *entérococcus faecium* et l'autre diamètre inhibitrice maximale est de 28.00 mm pour la concentration de 20 μ l avec les bactéries de *escherichia coli*. Alors on déduira qu'à la concentration élevée cet extrait représente une efficacité antibactérienne très important par rapport au deus autre extraits.

Les résultats des diamètres d'inhibition des cinq souches bactériennes regroupent dans le tableau ci dessous :

Tableau III-12 : Valeurs des diamètres d'inhibition en fonction de variation de concentration des trois extraits pour les cinq souches bactériennes.

Nom des souches bactériennes		Diamètres d'inhibition (mm)				
		Ampicilline/ nystatine	Charge du disque µl			
		10/100 µg	5 µl	10µl	15µl	20µl
Extrait 1 Cl ₂ C ₂	<i>Escherichia coli</i>	11.75	11.00	14.50	16.50	21.10
	<i>Salmonella typhimurium</i>	13.75	9.25	12.50	13.50	16.25
	<i>Staphylococcus aureus</i>	35.50	10.50	12.50	14.00	16.75
	<i>Enterococcus faecium</i>	37.50	15.50	18.50	22.50	24.50
	<i>Candida albicans ATCC 10231</i>	26.00	11.00	14.00	16.75	18.10
Extrait 2 Acoet	<i>Escherichia coli</i>	11.75	10.75	13.00	16.75	18.50
	<i>Salmonella typhimurium</i>	13.75	13.50	14.75	19.25	19.50
	<i>Staphylococcus aureus</i>	35.50	12.25	14.00	19.25	21.50
	<i>Enterococcus faecium</i>	37.50	9.50	10.00	11.25	12.25
	<i>Candida albicans ATCC 10231</i>	26.00	11.25	13.50	15.25	16.50
Extraits 3 butanol	<i>Escherichia coli</i>	11.75	12.25	19.25	24.50	28.00
	<i>Salmonella typhimurium</i>	13.75	11.50	19.25	20.50	22.50
	<i>Staphylococcus aureus</i>	35.50	10.50	16.00	20.00	24.75
	<i>Enterococcus faecium</i>	37.50	13.25	19.50	22.25	24.50
	<i>Candida albicans ATCC 10231</i>	26.00	10.50	13.75	23.00	26.50

Les substances antimicrobiennes sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance y compris les antibiotiques et d'autres agents antibactériens. Par conséquent le développement des produits naturels possède une activité antibactérienne s'avère nécessaire et utile.

Les résultats ont révélé que les bactéries gram⁺ étaient plus sensibles à ces extraits que les gram⁻ avec une valeur de concentration minimale de 5 µl donne un diamètre d'inhibition de 15.50 mm avec les bactéries *Enterococcus faecium*. Les résultats obtenus montrent aussi qu'un extrait d'acétate d'éthyle n'était pas efficace vis-à-vis de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus B (Streptococcus agalactiae)* et *Candida albicans* (tableau III-11), est l'extrait 2 l'extrait d'acétate d'éthyle, présente une faible efficacité presque sur tous les germes testés sauf les *Enterococcus faecium*.

Les résultats obtenus ont indiqué l'existence de composés antimicrobiens dans les extraits de dichlorométhane et butanol, et la différence d'activité antimicrobienne entre ces deux différents extraits issue de la plante *Atriplex halimus* se explique par la nature des molécules contenues dans chaque extrait selon la référence [121]. En effet il existe des différentes solubilisations des composés phénoliques dans les solvants polaires ou apolaires au cours de l'extraction liquide-liquide.

Les phyto-molécules sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité, on pourrait déduire que les substances antimicrobiennes contenues dans la plante *Atriplex halimus* sont solubles dans l'extrait de dichlorométhane ensuite l'extrait de butanol selon la référence [122].

Conclusion

Dans cette étude l'extrait de dichlorométhane contient les molécules actives des polyphénols et flavonoïdes a exercé une bonne activité antimicrobienne contre les cinq souches bactériennes étudiées ; en revanche l'extrait de dichlorométhane a donné une activité antimicrobienne bonne contre les cinq souches bactériennes étudiées et une moyenne activité antimicrobienne pour l'extrait 3 extrait de butanol qu'elle s'augmente avec l'élévation de concentration, pour l'extrait 2 extraits d'acétate d'éthyle l'activité antimicrobienne estimée considérable. Ce qui nous permet de dire que elle donne presque une faible activité antimicrobienne contre les cinq souches bactériennes étudiées par contre les autres extraits extrait 1 et extrait 3.

III-7 Résultats de Test DPPH

III-7-1 Test antioxydant de l'extrait1

Le tableau III-13 présente les valeurs d'absorbance et le taux d'inhibition en fonction de concentration de l'extrait 1.

Tableau III- 13: Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition pour l'extrait1

[Extrait 1] mg/ml	0	5	10	15	20	30	40
Absorbance à 515nm	0,7084	0,63155	0,53365	0,4567	0,38665	0,2911	0,21315
%inhibition	0	10,85	24,67	35,53	45,42	58,91	69,91

L'activité antioxydant de l'extrait1, extrait de dichlorométhane montre que en fonction de concentration l'absorbance représente une diminution rapide, car il atteint un taux d'inhibition de 69.61 avec la concentration de 40mg/ml qui donne la valeur d'absorbance de 0.21315nm comme il est indiqué dans le tableau III-13. Ce qui nous laisse déduire que cet extrait représente une activité antioxydant relativement moyenne

III-7-2 Test antioxydant de l'extrait2

Le tableau III-14 présente les valeurs d'absorbance et le taux d'inhibition en fonction de concentration de l'extrait 2.

Tableau III-14: Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition pour l'extrait 2.

[Extrait 2] mg/ml	0	5	10	15	20	30	40
Absorbance à 515nm	0,7084	0,536	0,408	0,2834	0,1838	0,0777	0,0773
%inhibition	0	24,34	42,41	59,99	74,05	89,03	89,09

L'activité antioxydant de l'extrait 2, extrait d'acétate d'éthyle représente une diminution très rapide dans les valeurs d'absorbance en fonction de différent concentration, il est remarqué que pour une concentration de 30mg/ml on a une valeur de l'absorbance de 0.0777 nm qui atteindre un taux d'inhibition de 89.03 comme l'indique le tableau III-14, ce qui nous laisse dire que cet extrait représente une activité antioxydant forte.

III-7-3 Test antioxydant de l'extrait 3

Le tableau III-15 présente les valeurs d'absorbance et le taux d'inhibition en fonction de concentration de l'extrait 3.

Tableau III-15: Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition pour l'extrait 3

[Extrait 3] mg/ml	0	20	40	60	80	100
Absorbance à 515nm	0,7084	0,54605	0,44475	0,3436	0,2696	0,2163
%inhibition	0	22,92	37,22	51,50	61,94	69,47

La variance de l'activité antioxydant de l'extrait 3, extrait de butanol en fonction des concentrations donne des valeurs d'absorbance importante, alors qu'en concentration de 100 mg/ml, l'absorbance atteindrent la valeur de 0.2163 nm pour un taux d'inhibition de 69.47 comme le montre le tableau III-15, donc on peut dire que cet extrait représente une activité antioxydant relativement faible.

III-7-4 Test en équivalent de trolox

La capacité antioxydant est exprimée en équivalent Trolox (TEAC) ; Elle correspond à la concentration de Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une concentration. Le résultat est donné en μM ou mM d'équivalent Trolox par g de produit citant que la quantité de trolox est inférieure 10^{-6} fois de notre produit si on utilise le facteur correctif de poids moléculaire de créatinine $10 \text{ mg/l} = 88.4 \mu\text{mol/l}$.

Le tableau III-16 représente les valeurs d'absorbance de taux d'inhibition en équivalent de trolox

Tableau III 16: Valeurs d'absorbance de taux d'inhibition en équivalence de trolox.

[Trolox] μM	0	10	20	40	60	80	100
Absorbance à 515 nm	0,706	0,626	0,541	0,417	0,244	0,114	0,024
%inhibition	0	11,33	23,37	40,93	65,44	83,85	96,6

L'activité antiradicalaire exprimé en équivalent de trolox montre que les valeurs de concentration de trolox qu'elle semble des quantités très petite par rapport à la quantité des concentrations des trois extraits porté en mg/ml, la valeur $80\mu\text{M}$ donne un absorbance de 0.114

nm et un taux d'inhibition de 96.9 proche 100 %. Cette dernière parait convenable de celle de l'extrait 2 extrait d'acétate d'éthyle qu'avait un absorbance de 0.1838 nm pour une concentration de 20mg/ml à unité d'équivalent de trolox

III-7-5 Capacité antioxydant

Le tableau III-17 représente les valeurs de capacité antioxydant trouvé en teste DPPH En équivalent de trolox des trois extraits

Tableau III- 17 : Valeurs de capacité antioxydant des trois 'extraits.

	EC50 (mg/ml)	Equivalent Trolox (μ moles Trolox/g d'extrait)
Extrait 1	23.20	1.967
Extrait 2	11.75	3.884
Extrait 3	57.16	0.798

La figure III-8 représente une comparaison des indices de capacité antioxydants EC₅₀ des trois extraits étudiés

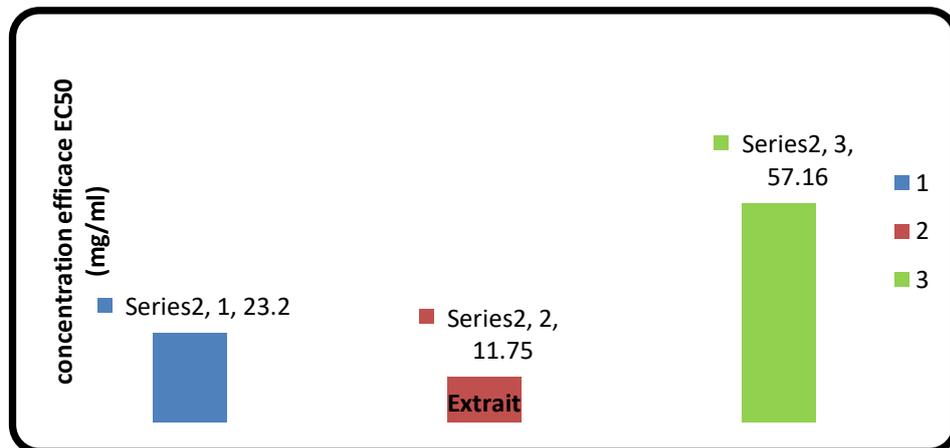


Figure III-8 : Indices de capacités antioxydants EC₅₀

L'activité antiradicalaire des polyphénols des tous les extraits dichlorométhane, acétate d'éthyle et butanol vis-à-vis du radical qui s'accompagne par DPPH à 515 nm donne une capacité réductrice de 23.20, 11.7 5et 57.16 respectivement tableau III-.17.

Cette capacité réductrice est déterminée par une diminution de l'absorbance sous influence des substances anti radicalaire selon le référence [123]. Ceci est expliquée par l'augmentation du pourcentage d'inhibition 69.91, 89.09 et 37.22, à 40 mg/ml, avec une absorbance qui neutralisé par le radical DPPH[•] de 0,213150nm ,0773nm et 0,44475 nm respectivement à 515nm.

D'après les courbes de l'activité antioxydante des trois extraits étudié en équivalent de trolox, le pouvoir réductrice de l'extrait d'acétate d'éthyle à la concentration 20 mg/ml ; pour une absorbance à 515 nm donne une absorbance à 0.1838 nm. Cet absorbance donne un taux d'inhibition 74.05%, donc le pouvoir réductrice de l'extrait 2 extrait de ACoEt de plante *Atriplex halimus*, est largement supérieure par rapport au deux autre extraits étudié dichlorométhane et butanol, le EC₅₀ donne une valeur 11.750mg/ml. Mais un pouvoir notamment inférieur de celle de trolox selon le référence [124]. Ce qui explique le forte d'activité antiradicalaire de l'extrait 2 extrait d'acétate d'éthyle, donc l'existence des molécules qui joue le rôle d'antioxydant très fortement pour cet extrait.

Conclusion

Les résultats montrés dans le tableau III-17 concernant de l'activité antioxydante des extraits de plante *Atriplex halimus* montre que l'extrait d'acétate d'éthyle a une activité supérieure de celle de dichlorométhane et butanol, ce qui nous amène à dire que les groupements fonctionnels anti-radicalaires présents dans l'extrait d'acétate d'éthyle en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libre.

III-8-Analyse chromatographique en phase gazeuse couplé à la masse des extraits de plants *Atriplex halimus*

L'analyse par chromatographie a été effectué sur quatre extraits obtenus des extractions de la plante de *Atriplex halimus*, une extraction de soxhlet multipoint par l'hexane est les trois autre extraits concernant les extraits de dichlorométhane, acétate d'éthyle et le butanol.

L'analyse qualitative des composés phénoliques des extraits 1, 2 et 3 préparé par extraction au soxhlet multipoint par hexane (huiles) et macération par éther de pétrole puis décantation pour obtenir des polyphénols, a été réalisé en utilisant une CPG-MS.

Tous ces extraits sont obtenus à partir de la plante sous sa forme entière on présente dans les tableaux III-18, III- 19, III-20 et III-21 les composés organique probable en fonction du temps de retention. Bien que ces extraits ne soient pas des huiles aromatiques, ils sont séparés

dans une colonne capillaire (phase stationnaire apolaire). Les analyses sont réalisées en programme de température.

Les séparations représentées sur les trois extraits ceci est dû aux méthodes d'extraction classique et à la nature et les sélectivités des solvants utilisés sont appliqué à une analyse chromatographique, en plus l'extrait huileux.

Après dépouillement des spectres de masses obtenus, les identifications des substances éluée ont été faites grâce à la consultation des bibliographes des spectres et par retour à la base de données fournie avec l'appareil CPG-MS de laboratoire INRAP de Tunisie. (Annexe 2)
Library Search Report CPG-MS Data File: 180112-13.D

III-8-1 Identification des composés phénoliques de l'extrait de l'hexane par CPG-MS

Le tableau III-18 présente les valeurs des temps de la rétention et les composés probables dans l'extrait de l'hexane analysé .

Tableau III-18: Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait de hexane par CPG-MS

Temps du rétention (rf) min	Composée	Abondance %
14,49	- bornyl acetate . - 9-octadecenoicocid méthyl ester	9.00
16,52	- 3-octanone - z(4) heptenal. - Phenol-2,4-bis (1,1 diméthyl éthyl - Phenol-2,5-bis (1,1 diméthyl éthyl	10.00
20	- 3-octanol méthanone (1-hydroxycyclohexyl) phenyl.	7.00
23.95	- 1(3H)-isobenzofuranone, 3-ethoxy. - 5-(4 nitrophenyl) 1.3.4-oxadiazol-2-(5H)one	7.50
26.95	- (2E)-2-(4-chlorophenyl)-3-diméthylamino)-2propen-ethioamide. - citronellal. - β -caryophyllene.	8.00
39,47	- carboxylic acide. - 2. 1,3-cyclohexane dione. - n-(3'-6'-dihydrobenzo)[2,3]paracyclophane. - 2,6-di tert-butyl-4[(2-octadecyloxycarbonyl) ethyl]phenol	5.00

III-8-2 Identification des composés phénoliques de l'extrait de dichlorométhane par CPG-MS

Le tableau III-19 présente les valeurs des temps de la rétention et les composés probables dans l'extrait de dichlorométhane analysé.

Tableau III-19 : Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait de dichlorométhane par CPG-MS

Temps du rétention (rf)	Composée	Abondance %
4,14	- cyclopropyl amine. - Allylamine. - diméthyl sulfide.	4.00
5,77	- 1(1-butyldithio) butane . 2-méthyl- propanal.	3.50
6,80	- Méthyl propène.	3.25
22.75	- 3-4-nitrophenyl octadecene,docosene	2.20
41.66	- 4,p-bis (2-hydroxy ethyl) amino phenyl. bromoisoquinoline.	4.50
51.12	- octadecatrienoic acid méthyl ester (Z, Z ,Z) C ₁₉ H ₃₂ O ₂ .	9.50
51.72	- phytol C ₂₀ H ₄₀ O .	9.25
55.42	- tritriacontane C ₃₃ H ₆₆ .	12.00
55.81	- γ sitosterol C ₂₉ H ₅₀ O.	10.00

III-8-3 Identification des composés phénoliques de l'extrait d'acétate d'éthyle par CPG-MS

Le tableau III-20 présente les valeurs des temps de la rétention et les composés probables dans l'extrait d'acétate d'éthyle analysé .

Tableau III-20 : Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait d'acétate d'éthyle par CPG-MS

Temps du rétention (rf)	Composée	Abondance %
6,80	- Méthyl propène.	3.52
22.75	- 3-4-nitrophenyl octadecene,docosene.	2.20
41.66	- 4,p-bis (2-hydroxy ethyl) amino phenyl. bromoisoquinoline.	4.50
51.12	- octadecatrienoic acid méthyl ester (Z, Z ,Z) C ₁₉ H ₃₂ O ₂ .	9.50
51.72	- phytol C ₂₀ H ₄₀ O .	9.52
55.42	- tritriacontane C ₃₃ H ₆₆ .	12.00
55.81	- γ sitrosterol C ₂₉ H ₅₀ O	10.00

III-8-4 Identification des composés phénoliques de l'extrait de butanol par CPG-MS

Le tableau III-21 présente les valeurs des temps de la rétention et les composés probable dans l'extrait de butanol analysé .

Tableau III-21 : Valeurs des temps des rétentions des composés organiques de l'extrait de butanol par CPG-MS

Temps du rétention (rf)	Composée	Abondance %
5,77	- 1(1-butyldithio) butane. 2-méthyl- propanal.	3.50
6,80	- Méthyl propène.	3.25
22.75	- 3-4-nitrophenyl octadecene,docosene.	2.20
41.66	- 4,p-bis (2-hydroxy ethyl) amino phenyl. bromoisoquinoline.	4.50
51.12	- octadecatrienoic acid méthyl ester (Z, Z ,Z) C ₁₉ H ₃₂ O ₂ .	9.50
51.72	- phytol C ₂₀ H ₄₀ O .	9.25
55.42	- tritriacontane C ₃₃ H ₆₆ .	12.00
55.81	- γ sitrosterol C ₂₉ H ₅₀ O	10.00

III-8-5 Formule chimique probable des composés organiques déterminés dans CPG-MS

Dans le tableau III-22 nous citons les composés organiques susceptibles d'être trouvés dans les extraits par recours à la bibliographie (Annexe) et correspondre aux temps de la rétention avec description de leur fonction chimique et leurs formules brutes.

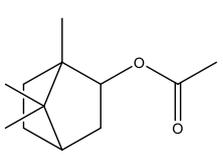
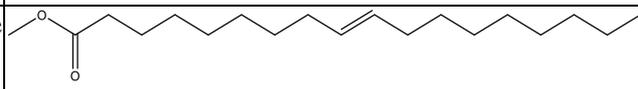
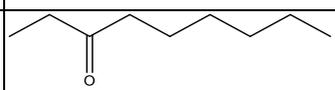
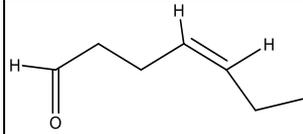
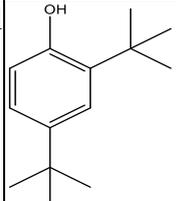
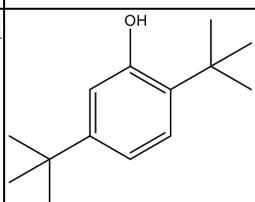
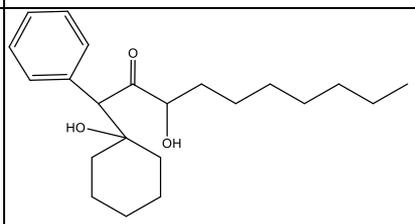
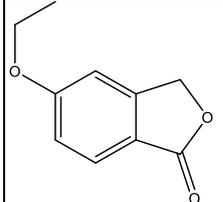
Tableau III-22 : Catégories des composés organiques distingués au spectre CPG-MS

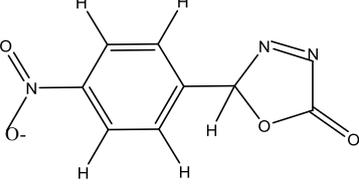
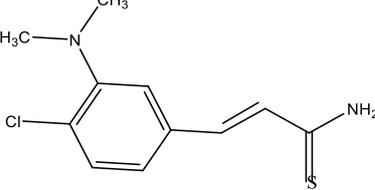
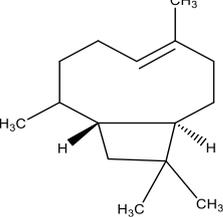
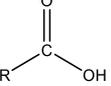
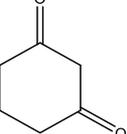
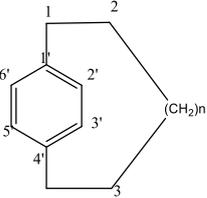
Composé	Fonction chimique	Formule brute
Bornyl acétate	Ester	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
9-octadécenoïque acide méthyle ester	Ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
3-octanone	cétone	C ₈ H ₁₆ O
Z(4)heptanal	Aldéhyde	C ₇ H ₁₂ O
3-octanol méthanone (1-hydroxy cyclohexyle phényle)	Phényle cétonique	C ₂₂ H ₃₄ O ₃
1(3H) isobenzofurane éthyloxy	cétone	C ₁₀ H ₁₀ O ₃
5-(4-nitrophényle)1',3',4' oxadiazole(5H)one	nitrophényle	C ₈ H ₅ O ₄ N ₃
2 E-2-((4 chlorophényle)-3-diméthyle amino)-2propène-thioamide	thioamide	C ₁₁ H ₁₃ N ₂ ClS
Citronellal	Aldéhyde	C ₁₀ H ₁₈ O
B-caryophyllène	Alcane bicyclique	C ₁₅ H ₂₄
Acide carboxylique	Acide carbonique	RCHO
1,3-cyclohexanedione	cétone	C ₆ H ₈ O ₂
n-(3',6'-dihydrobenzo)[2,3] paracyclophane-	alkyle	C ₁₀ H ₁₂ (CH ₂) _n
cyclopropylamine	amine	C ₃ H ₇ N
Allylamine	amine	C ₃ H ₇ N
Diméthyle sulfure	sulfure	C ₂ H ₆ S
1(1-butylthio)butane	thiole	C ₄ H ₁₀ S ₂
méthyle propanol	alcool	C ₃ H ₈ O
3-4-nitrophényle octadécane docosène	nitrophényle	C ₃₈ H ₆₇ O ₂ N

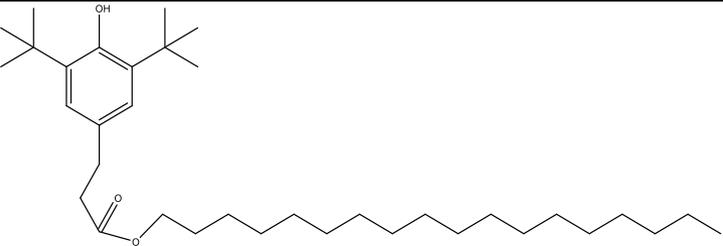
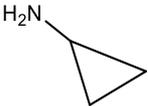
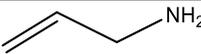
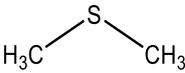
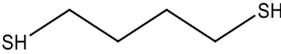
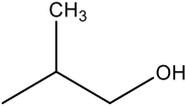
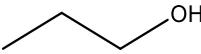
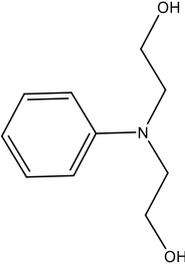
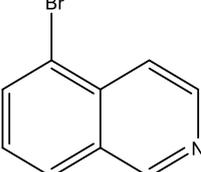
Phénol-2,4-bis (1,1 diméthyl éthyl	phénol	C ₁₄ H ₂₂ O
Phénol-2,5-bis (1,1 diméthyl éthyl	phénol	C ₁₄ H ₂₂ O
di tert-butyl-4[(2-octadecyloxy-carbonyl) -2,6 éthyl]phénol	phénol	C ₃₀ H ₆₂ O ₃
4,p-bis (2-hydroxy ethyl)aminophenyl	phenylamine	C ₁₀ H ₁₅ O ₂
bromoisoquinoline	quinoline	C ₉ H ₆ NBr
Octadecatrienoic acide méthylester(z,z,z)	Ester	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
Phytol	Alcool	C ₂₀ H ₄₀ O
Tritriacontane	Alcane	C ₃₃ H ₆₈
αsitostérol	Stérol	C ₂₉ H ₅₀ O

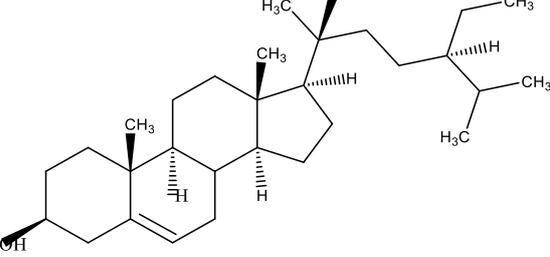
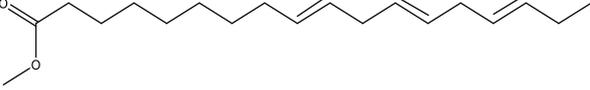
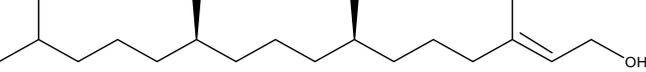
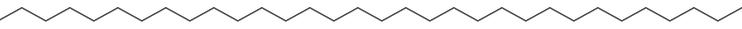
Dans le tableau III-23 nous citons les développée des composés organiques probablement trouvés dans la bibliographe corresponde aux temps de la rétention.

Tableau III-23 : Structure développée des composés organique distingués au spectre CPG-MS

Composées	Structure chimique développée	réf
bornyl acetate		[125]
9-octadecenoic acide méthyl ester		[126]
3-octanone		[125]
Z(4) heptanal		[125]
Phénol-2,4-bis (1,1 diméthyl éthyl)		
Phénol-2,5-bis (1,1 diméthyl éthyl)		
3-octanol méthanone (1- hydroxy phenyl		[127]
1(3H) isobenzofuranone, ethoxy		[128]

5-(4-nitrophenyl 1, 3,4-oxadiazol-2-(5H) one		[129]
Citronellal		[130]
2E-2-(4 chlorophenyl)-3-diméthyl amino)-2-propen, ethioamide		
B-caryophyllene		[126]
carboxylique acide		[131]
1,3-cyclohexane dione		[132]
n-tetrahydrobenzo(2,3)paracyclophane		[133]
2,6-di tert-butyl-4[(2-octadecyloxycarbonyl)éthyl] phénol		

		
cyclopropyl amine		[125]
allyle amine		[125]
diméthylsulfide		
1-(1) butyl dithio		
2-méthyl propanol		[125]
méthylpropane		[125]
p-bis(2-hydroxyethyl) amino phenyl		[134]
bromoisoquinoline		[135]

rostostérol		[136]
octadécatriénoïque méthyle ester (Z,Z,Z)		[125]
Phytol		[125]
3,4-nitrophenyl octadécène docosène		
tritériacontaine		[125]

Dans cette partie nous traiterons séparément les résultats obtenus pour les échantillons de trois extraits de plante *Atriplex halimus* prélevés en avril 2016 et ceux que nous avons obtenus pour les échantillons collectés au juillet jusqu'à septembre 2016. Les résultats d'analyse des extraits sont configurés sous forme des chromatogrammes chacun comportant plusieurs pic 6 pics pour l'extrait de hexane, 9 pics pour l'extrait1, 7 pics pour l'extrait 2 et 8 pic pour l'extrait 3.

Les quatre extraits sont formes d'hydrocarbures représentés par des alcanes, ainsi que des hétérocycliques, des composés oxygènes tels que les alcools les ester, les éthers et les aldéhydes et cétone et pas males des éthers phénoliques et aussi une quinone. On distingue aussi des composés comportant des atomes d'azote comme les amines, et d'autres produits soufrés selon la référence [137].

L'extrait des huiles renferme plusieurs substances organiques parmi lesquelles nous avons pu identifier les esters, les acides gras les alcanes produits soufrés ...ect.

Les principaux phénols constituant ces extraits sont Phénol-2,4-bis (1,1 diméthyle éthyl), Phénol-2,5-bis (1,1 diméthyle éthyl) , 2,6-di tert-butyl-4[(2-octadécyl-oxy-carbonyl) éthyl] phénol

et bromoisoquinoline. Ces composées nous permettent de confirmer que l'existence de flavonoïde est probable. Bien que nous n'avons pas pu détecter un flavonoïde. Les esters et d'acétone donne une abondance de 9 % tableau III-19, III-20 et III-21. Les composé majoritaire est le tritriacontane avec une abondance de 12 % selon les références [138,139].

A partir du résultat que nous avons obtenu, nous pouvons dire que l'ensemble des extraits analysés se distinguent par l'abondance de leurs différents constituants chimiques et parfois même qu'elles appartiennent toutes à la famille de polyphénols. La période d'extraction, les méthodes de séchage et d'analyse, l'origine géographique, l'environnement dans le quelle récolté la plante et l'organe étudié influencent considérablement à la composition chimique des extraits selon la référence [140].

Conclusion

Les extraits 1,2 et 3 comprennent les polyphénols simple ou bien avec d'autres fonctionnelles composé ou poly-fonction, comme les cas suivants : ester, aldéhyde et éther et d'autre polyphénols contient un atome d'azote, des composées azoté cyclique ou de soufre. Parmi les autres molécules organiques identifiées nous trouvons, des composés polycycliques.

D'après les spectres obtenu d'analyse CPG-MS on a détecté pas mal des composés phénoliques dans les extraits d'huile de h"xane extrait de dichlorométhane, acétate d'éthyle et butanol ce qui nous laisse de dire que elle peut être bien trouvé les flavonoïdes estime en teste préliminaire .

Sur la base des résultats obtenus et à partir des preuves indiquant la présence de flavonoïdes dans cette plante et faisant référence à des travaux antérieurs dans lesquels il est prouvé que la plante contient des flavonoïdes, nous apprécions l'utilisation populaire de cette plante en médecine traditionnelle

CONCLUSION GENERALE

Conclusion général et perspective

L'Algérie par sa position géographique exceptionnelle, comporte une richesse importante des plantes médicinales nombreux, sont utilisées dans le traitement traditionnelle. Certaines

plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacies, cosmétique et agriculture.

Notre but de cette étude a pour objectif de la valorisation de cette richesse en particulier celle du sud-est Algérienne" wilaya de Ouargla ".

Dans le présent, différents aspects d'*Atriplex* ont été étudiés citons l'*Atriplex nummularia* et *Atriplex longjip*etc. ; a conséquence de quelques propriétés photochimiques des extraits bruts connus d'habitude traditionnelle.

Le présent travail réside sur l'étude de l'extraction et l'analyse physico-chimique des huiles qui montre que l'huile extraite par l'éther de pétrole a des propriétés meilleures de celle d'huile extraite par hexane. Pour notre plante *Atriplex halimus*, nous avons réalisé une illustration des caractérisations préliminaires de nature et classe phytochimie contenues dans la plante analysée.

L'analyse de test des métaux de sodium, potassium et calcium par les tests de la flamme et test de ICP-AES montre que la plante de *Atriplex halimus* étudiée est très riche en sels minéraux, surtout sel de chlorure de sodium car le taux de sodium est de 197.59 ppm

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur six souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque, les résultats indiquent que les trois extraits, possèdent une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées tant que l'extrait de dichlorométhane donne un taux inhibitrice efficace de 15.50 mm avec la dose de 5 µg pour la bactérie *enterococcus faecium* .

L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. En effet la capacité antioxydante la plus élevée a été observée dans l'extrait d'acétate d'éthyle qui donne une capacité antioxydante EC₅₀ de 11.75 mg/ml, on peut dire qu'elle est aussi importante pour les deux autres extraits.

L'analyse chromatographique de CPG-MS a permis de détecter quelques composés polyphénoliques tels Phénol-2,4-bis (1,1 diméthyle éthyl), Phénol-2,5-bis (1,1 diméthyle éthyl) , 2,6-di

L'ensemble des résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche pour cette plante biologiquement active, une étude *in vivo* souhaitable.

Comme perspectives d'avenir. Si on nous donnait l'opportunité de travailler en chromatographie liquide haute performance, je ré-diagnostiquerai soigneusement ces extraits et les séparerai dans une méthode de fraction en colonne et de réalisé des extractions des huiles avec l'appareil de soxhlet. Pour bien confirme l'existence des huiles essentielles. Je estime aussi chercher d'autre test préliminaire destiné au terpène. D'autant plus que notre université a été renforcée par un centre de recherche scientifique (CRAPC). Chargé de matériel que j'ai manqué pendant la période où j'ai testé cette plante.

Références bibliographiques

- [1] A .Ouldkadour.,(2019)" Etude de l'effet antifongique des extraits bpolyphénolique de l'Atriplex halimus L., sur la croissance de certains champignons dermatophyte". thèse de doctorat. , université Abdlhamid Ibn Badis de Mostaganem, pp20-23
- [2] A .Belarbi.,(2018)" Etude physiologique et phytochimique de la tolérance aux métaux lourds Pb, Cr(III) et Cr(VI) par Atriplex halimus L". thèse de doctorat., université Abdlhamid Ibn Badis de Mostaganem, pp11-17.
- [3] A. A .Atia, Debez A, Z . Barhoumi, C Abdelly and A. R Smaoui., (2010) "Localization and composition of seed oils of *Crithmumaritimum* L. (Apiaceae)", *African Journal of Biotechnology*. Vol 9 (39), pp 6482-6485.
- [4] A .Samoui.,(1971)"Cytologie gévétale-Différenciation des trichones chez Atriplex halimus",*C.R.Acd.Sc. Paris*. Vol 273D,pp1268-1271.
- [5] T .Najar, S . Helali, and H Nasrh., (2011) " valorisation des plantes tolérantes à la Salinité par les petits Ruminants ", *Zaragoza : CIHEAM/IRESA/OEP* .Vol (97) , pp 73-77.
- [6] A . Haddioui and M . Baaziz., (2001) "Population Of Atriplex halimus of Morocco", *Euphyca*. Vol 121, pp. 99-106 .
- [7] M. C. Watson and W. O. O'Leary.,(1993)" Performance ofAtriplex species in the San Joaquin valley,California, under irrigation and with mechanical harvests", *Agriculture, Ecosystems and Environment* .Vol 43,pp 255-266
- [8] M. Mesnoua ., (2016) "Stress abiotique sur Atriplex halimus : Effet des métaux lourds et caractérisation des biomarqueurs et bioindicateurs". thèse de doctorat., Université Abdlhamid Ibn Badis de Mostaganem, pp35-36 .
- [9] M. Belkhoudja and Y . Bidai.,(2007)" Analyse de proline pour l'etude de la résistance d'une halophyte Atriplex halimus L, a la salinité", *publicationdu réseau tela botanique* . Vol 1, pp 0-0.
- [10] J .Bellakhdar.,(2006)"Plantes médicinales au Maghreb et soins de base (Précis de phytothérapie moderne)", *Editions Le Fennec, Casablanca (Maroc)*".9 Vol 1, pp.385.

- [11] S. Hadjadj, Z. Bayoussef, A. Ould Elhadj-Khelil, H. Beggat, Z. Bouhafs, Y. Boukaka, Z. Khaldi, S. Mimouni, F. Sayah and M. Tey., (2015) "Ethnobotanical study and phytochemical screening of six medical plants Used in traditional medicine in the Northeastern Sahara of Algeria (area of Ouargla)", *J.Med.Plants Res* .. Vol 8(41) , pp 1049-1059.
- [12] B. Nedjimi, Z. Bekat, B. Gutt, M. Toumi and Y. Daoud., (2013) "GERMINATION ET CROISSANCE D'*Atriplex halimus* SUBSP *shweinfurthii*. EN PRESENCE DE CaCl_2 ", *Algerian Journal of arid environment algerian journal of arid environment*. Vol 3(1), pp15-23.
- [13] D. Sangam, D. Jayasree, K. Janardham Reddy, P.V.B Chari, N. Sreenivasulu and P.R Kavikishor., (2005) " Salt tolerance in plants- transgenic approaches", *J plant biotechnology*". Vol. 7 (1), pp 1-15.
- [14] E. A. Bray., (1997) " plant response to water deficit", *Plant science* .vol 2, pp48-54.
- [15] M. Belkhodja, Y. Bidai., (2004) " Réponse des graines d'*atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination Sècheresse". Vol 4(15), pp 331-335.
- [16] H. N Le Houérou., (2000) "Utilization of fodder trees and shrubs in the arid and semiarid zones of West Asia and North Africa Arid Soil", *Research Rehabilitation* .Vol 14, pp 101-135.
- [17] Y. Hlfaoui, A. Kadiri, Z. Ighilhariz., (2018) "*Atriplex halimus* (amarantacees) *callogensis* induction from different explant type", *J.Fun dam .Appl, Sci* .Vol 10(1), pp20-34.
- [18] C. Rahmoune, S. Maàtem, M. Bennaceur., (2004) "Effets comparés de la fertilisation phosphatée sur l'*Atriplex* Cultivé en zone semi-aride du Nord-Est algérien", *Jn: Camtero-Martinez C*. Vol 60, pp213-217.
- [19] D. J. Walker and S. Lutts., (2014) " The tolerance of *Atriplex halimus* L. to environmental stresses", *Emir. J.Food Agric*. Vol 26(12), pp 1081-1090.

- [20] D. S .Robert, A . Ahron and B. Shimshon.,(1994) "Anovel terrestrial halophilic environnement:The phylloplane of *Atriplex halimus* , a salt-excereting plant", *FEMS Microbiology Ecology*. Vol 14 ,pp 99-110.
- [21] O .Héla El-Ferchichi, K . Hacini and S. Bouzid., (2006)"Chromosome number in Tunisian populations of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae)", *African Journal of Biotechnology*. Vol 5(12) ,pp 1190-1193.
- [22] M. T .Sadder, F Anowat, A Al-Doss., (2013)" Gene expression and physiological analysis of *Atriplex halimus* (L) under salt stress" , *AJCS*". Vol 7(1) ,pp 112-118.
- [23] M .Aouissat, D J Walker, K Hacini, M .Belkhouidja and E Correal.,(2011) "Osmolyte concentrations in *Atriplex halimus* L. and *Atriplex canescens* (Push) Nutt. Adapted to salinity and low temperature (*Chenopodiaceae*)", *Anales de Biologia* . Vol 33, pp 117-126.
- [24] Y .Tapia, O . Diaz. C, Pizarro, R Segura,M . Vines, G . Zunga and E Moreno-Jiménez., (2013) " *Atriplex atacamensis* and *Atriplex halimus* resist As contamination in Pre-Andean soils (north chile)", *Science the Total Environement* . Vol 450-451 , pp188-196..
- [25] A .Bouzid and K. Benabdeli., (2011) " Contribution à l'évaluation de la Biomasse Vert d'une planation D'*Atriplex halimus* en zone Arid de L'OUEST ALGERIEN (Région NAAMA)", *Rev Ecol. (Terre Vie)* . Vol 66, pp 303-308..
- [26] H. L .Boudjema and H . Bendaikha., (2015)"Composite materials derived from biodegradable strech polymer and *Atriplex halimus* fibers", *e-Polymers*. Vol 15 (6) , pp 419-426
- [27] N .Benhammou , F .Atik Bekkara and T Kadifkova Panovska ., (2009)" Antioxydant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*", *C. R. Chimie*. Vol 12, pp 1259-1266
- [28] M .Gourri, L .Zidane and A . Douira, (2014) "la phytothérapie et les infections urinaires (la phelonéphrite et la cystite) au Sahara Marocain (Tan-Tan)", *journal of animal et plant sciences* . Vol 20(3), pp3171-3193.

- [29] A .Kabbash and N. Shoeib., (2012)"Chemical and Biological Investigation of Some Secondary Metabolites in Atriplex halimus Grwing in Egypt, NPC Natural Product", *Communications* . Vol 7 , pp 1465-1468.
- [30] E .Shalabia Shahat., (2011)" Bioactive constituents of Atriplex halimus plant", *Journal of Ntural Product*. Vol 4, pp25-41..
- [31] J .HadjSalem.,(2009)" Extraction, identification, caractérisation des activités biologique des Flavonoides de Nitraria Retusa et Synthèse de dérivé de ces molécules par voie enzymatique thèse de doctorat., Institut National Polytechnique de Lorraine Français , pp 19-23..
- [32] D .Kone.,(2009)" Enquêté Ethnobotanique de six plantes médicinales MALIENNES, Extraction Identification d'alcaloides, -Caractérisation, quantification de polyphénols : Etude leur activité Antioxydante". thèse de doctorat., Université Paul Verlaine de METZ-UPV-M (France), pp 15-50.
- [33] F Zakkad., (2016) "Etude phytochimique et evaluation de quelques propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia" . thèse de doctorat. , Université Badji Mokhtar Annaba ,pp 21-35.
- [34] K .Cherifi, A .Haddioui and H .Mohamed Boufous., (2016)" growth and proline content in NaCl stressed plants of annual medic species international of Advenced", *Research in Biological Science* . Vol 3(9) , pp 82-90.
- [35] K .Benzahi.,(2017)" Etude physico-chimique des hétérosides existante dans Chiendent "CYNODON DACTYLON (L) pers ". thèse de doctorat ., Université Kasdi Merbah Ouargla..p 13-18. .
- [36] W. Heller and G . Forkmann ., (1993) "The Flavonoides" , *Advances in research since 1986, éd . J . B. Harbrone, Chapman and Hall, London*. Vol 4, pp 499-535.
- [37] G .Maschmeyer and L . braventy , (2000) " Review of the incidence and prognosis of pseudomonas aeruginosa infectiion in cancer patiets in the 1990s", *Eur JCLin Microbiol infect Dis* .Vol 19 ,pp 915-925

- [38] I .Ahmad, S.J .Wainwright and G.R .Stewart.,(1981) "The solute and water relations of *Agrostis stolonifera* ecotypes differing in their salt tolerance", *New Phytol.* Vol 87, pp 615–629.
- [39] J .Bruneton ., (1999) " Pharmacognose . Phytochimie , *Plantes médicinales 2éme édition : Lavoisier, Paris.* Vol 1 , pp 264-293
- [40] E.J.A .Da Silva, A. B . Oleveira and A.J . Lapa., (1994) " pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, duratin and claussequinone, in rats and mice", *J. Pharm. Pharmacol.* Vol 46 (2) , pp 118-22.
- [41] E .Saidman , A . Yurquina , R . Rudyk , M A.A Molina and F.H. Ferretti ., (2002) " A theoretical and experimental study on the solubility , dissolution rate , structure and dipolar moment of flavone in ethanol" , *journal of Molecular Structure: THEOCHEM.* Vol 585, pp 1-13.
- [42] P . Quezel, S . Santa.. , (1963) " Nouvel flore d'Algérie de la région désertique" *CNRS Paris.* Vol 2, pp 931, 933.
- [43] M .Javillier , M . Pollonovski, M . Florkin , P . Boulonger, M. Lemoigne., J . Roché, R. Wumser ., (1969) " Traité de biochimie générale : Les processus biochimiques et de synthèses et de dégradation . Fascicule 2: Métabolisme des glucides et des lipides" , *Masson et Cie Editeurs pari.* Vol 3, pp 870.
- [44] A .Crozier, M.N .Clifford and A Ashihara., (2006) "plant secondary metabolites", *Black Well publishing .* Vol 1, p p 2-3.
- [45] N.Rabusso., (2009) " chimie organique" , *éditeurs DeBoeck.* Vol 2 .p p37-39
- [46] M .Paris and M. Hurbelle., (1981) " Abrégé de matière médicale (pharmacognosie)", *Masson, Paris.* Vol.1, p p 47.
- [47] J .Ferrari .,(2002) " contribution à la connaissance du métabolisme phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrats* Steud .ex A. Rich ", these de doctorat. , Université de lausanne , pp 28-41.
- [48] E. J .Middleton., (1996) " biological properties of plant flavonoids an overview" , *Int . J. Pharmacol.* Vol 34 (5) , pp 344-348.

- [49] R .Vrijssen , L . M . Van Hoof ., A. J . Vlietinck., D. A Vanden Berghe and A. Boeye., (1987)" The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of flavonoïde" . Vol 7(1), pp 35-42.
- [50] M Houmani.,(1988) "Actualité scientifique Biotéchnologie Amélioration des plantes et sécurité Alimentaire" , *Collection universités francophone ED ESTM , paris*. Vol1 , pp 175-176
- [51] K.P.C .Volhardt and N.E . Schore., (2003) "traité de chimie organique "DeBoeck .Vol 2 pp1-3.
- [52] M. Houmani., (1997) "volution des terres de parcours et bilan fourrager dans les zones aridesalgériennes. Dans : *Actualité Scientifique : Biotechnologies, Amélioration des Plantes et Sécurité alimentaire "collection universités francophone. Ed ESTM, paris , pp175-176*
- [53] D. Kanimozhi and B. V . Ratha.,(2013) " In vitro anticancer activity of ethanolic extract of Cyndon dactylon agaist HT-29 cell line", *Int. J. Curr. Sci.* Vol 5, pp 74-81..
- [54] D .Elisoventcaia, R Ivanova, D. S . Gladei and J .Brindza., (2019) "Biological Activité of Extracts From some species of Coniferous Plants" , *Agr. Bio. Div.impr. nut. Health lif .Qual .* Vol 4, pp 66-80.
- [55] E. Graf and J.W. Eaton., (1990)" Antioxidant function of phytic acid" , *Free radial biology and medecine .* Vol 8, pp 9-61.
- [56] W .Vermerris and R . Nicholson., (2006)"phenolio compound", *biochemistry publier spriger Netherlands .* Vol 1. Pp35-82.
- [57] Y.touitou .,(2005) "biochimie ; structure des glucides et lipide " *université pierre et marie curie*. Vol 1 ,pp31
- [58] R .Ben Abdallah, D . Frikha, S . Maalej and S . Sassi., (2019)" Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre Espes Algues Marines" , *J.I.M.Sfax*. Vol (31), pp 38-44.
- [59] R Mokdini.,(2006) " Mécanisme Radicalaires dans la Dégradation de composés Phenoliques en chimie sous Rayonnement : Radiolyse gamma des Chalcones et de l'acide

- Ferulique en solutions Alcoolyques ". thèse de doctorat. , Université de linoges, pp12-90.
- [60] I.Jonson., (1999)" Antioxydants et anticancereux", *Biofutur*.Vol. 186, 14-17.
- [61] M. L .Colombo and E. Bosisio.,(1996)" Pharmacological activities of Cheldonium majus L (Papaveraceae)", *Pharmacol Res*. Vol 33, pp 127-131.
- [62] R .Vincent., (2007) "Etude Phytochimique de plantes Amazoniennes d'activité Antiplasmodiae , dont.Psedoxandra Cuspidata Maas Ettapirira Guianesis Aubel". These de Doctorat., l'istitu National Polytechnique de Toulouse, pp 30.
- [63] P .Chakra borty ., (1996)" Urinary tract infection: Text book of microbiology st". *ed-new central book agency, Calcutta, India*, pp 577 -581.
- [64] R .Funfstuck, J. W. Smith, H . Tschape and G . Stein.,(1997) " pathogenic aspects of uncomplicated urinary tract infections", *recont advances. clin. Neph*. Vol 47(1), pp13-18.
- [65] B .Lettgen.,(1993) " Urinary tract infections in childhood old and aspects", *clin. Pediatr*.Vol 205 (5), pp 325- 331.
- [66] S Ahmed, M. S Reza and A Jabbar.,(1994) " Antimicrobialactivity of Cyndon dactylon", *Fitoterapia*. Vol 65 ,pp 463-464
- [67] C. A .Rice- Evans, N.J . Miler and G. Paganga., (1996) "Structure-antioxydant activity relationships of flavonoides and phenolic acids", *Free Radic. Biol . Med*. Vol 20, pp 933-956.
- [68] R .Kato, T . Nakadate, S .Yamamoto and T .Sugimura., (1983)" Inhibition of 12-tetradecanoylphortbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxygenase inhibition", *Carcinogenesis*.Vol 4 (10), pp 1301-5.
- [69] E.M .Galati , M. T . Monforte, S Kirjavainen , A . M . Forestieri, A . Trovato and M. M. Tripodo. M., (1994)" Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid", (*Note I*) : *antinflammatory and analgestic activity Farmaco*" Vol 40 (11), pp 709-12.

- [70] M.J .Laughton, B . Halliwell, P. J .Evans, J. Hoult and S . Robin., (1989) "Antioxydant and pro-oxydantaction of the plant phenolics quercetin", *Gossypol and myricetin. Biochem. Pharmacol* .Vol 38(17) , pp 2859-2865.
- [71] N .Mahmood, C Pozza, R.Aquino, N.De Toummasi, S. Piacente , S .Colman, A Burke and A. J Hay., (1993)" Inhibition of HIV infection by flavonoids", *Antivir . Res.* Vol 46 (7) ,pp 1257-71.
- [72] G .Spedding, A. Ratty and E. J. Middlton., (1989)" Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids", *Antivir. Res.* Vol 12 (2) , pp 99-110.
- [73] S .Van Acker , M.Tromp, G . R. M. M .Haenen., W. vander vijgh and A . Bast., (1995) Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical", *Biophy. Res. Co.* Vol 214 (3) , pp 755-9."
- [74] K. A .Ohemeng and K. P. Schwender Fu., (1993)" DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Vol 3 (2) , pp 225-30.
- [75] K. Ono, H .Nakane, M. Fukushima, J. C . Chermann and F .Barre-Sinoussi.,(1990) "Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases" , *Eur. J. Biochem.* Vol 190 (3) , pp 469-76
- [76] O. L .Woodman, W. F. Meeker and M. Boujaoude., (2005) "Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonols and flavones" , *J. Cardiovasc Pharmacol* . pp 302-309.
- [77] A-C .Crémieux.,(2016)"Brève histor de la politique antibiotique du ministère de la Santé", *Open Edition Journals* . Vol 29, pp 93-97..
- [78] S .Carie., (2009) "La résistance aux antibiotiques : Un enjeu de santé publique important", *Pharmactuel.* Vol, pp 6-2.
- [79] C .Davide., (2013) " Fiche pratique de sécurité", *Institut national de recherche et de sécurité (inrs).* Vol 1 , pp 1-4.
- [80] A.A .Adingra, A.N .Kouadio et A.M .Kouassi.,(2011)"Les escherichia coli entérohemorragiques (EHEC) O157:H7: un probleme de santé publique", *F.Tech and Doc.Vulg.* Vol 18 .,pp22-27.

- [81] N. Korsak, A .Clinquart et G . Daube.,(2004)"Salmonella spp. Dans les denrées alimentaires d'origine animal: un réel problème de santé publique?"., *Ann.Méd Vér.*Vol 148, pp174-193
- [82] S. Ben Hassen, L .Messadi et A. Ben Hassen., (2003) " Identification et caractérisation des espèces de Staphylococcus isolées de lait de vaches atteintes ou non mammite", *Ann.Méd. Vét.* Vol146, pp41-47..
- [83] A .Aguilar-Galvez, R .Dubois-Dauphin et D. Campos.,(2012)" les entérocoques : avantages et inconvénient en biotechnologie (synthèse bibliographique)", *Biotechnol. Agro. Soc. Environ .* Vol 16(1), pp 67-76.
- [84] M.D.Deborah Money, C-B .Vancouver, M .Victoria, M.D. Allen et N-E . Halifax., (2013)" Prévention de l'infection néonatale à streptocoques du groupe B d'apparition précoce",*Directive Clinique de la Sogc.* Vol 298, pp336-347.
- [85] S .Aracting, N. Dupin et C .Bodemer., (2008) "Item 87-infections cutanéomuqueuses bactériennes et mycosique : Candida albicans", *Annales de dermatologie et de vénéréologie .* Vol135s, pp 42-48..
- [86] F . Rouessac., (1997) "Analyse chimique méthodes et techniques instrumentales modernes", *3e éd, Masson, Paris.*pp12.
- [87] N. Koull, (2015) "Etude phytoécologique spatiotemporelle des zones humides du Nord-Est Sahara septentrional Algérien (Région de Ouargla et l'OuedRigh)". Thèse de doctorat, université Kasdi Merbah Ouargla, pp 18.
- [88] S-F .Tahouo.,(2010) " Procédures d'extraction globales des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plante" . thèse de doctorat., Science pharmaceutiques et biologique université de côte d'ivoire , pp 35. .
- [89] S Feknous, F .Saidi et R. Mohamed Said., (2014)"Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (Melissa Officinalis L)", *A-Science Fondamentales et Engineering.* Vol 11 , pp07-13.
- [90] R Charrondierre, D .Haytowitz et B . Stalanayr.,(2015) " Base de données FAO/INFOODS sur la densité", *Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture .* Vol 2, pp 2..

- [91] V M Aissi, M M Soumanou, F P Tchobo et D.Kiki., (2009)" Etude comparative de la qualité des huiles végétales alimentaires raffinées en usage au Bénin", *Bulletin d'Informations de la Société Ouest Africaine de chimie*. Vol6, pp 25-37..
- [92] L .Lagardère, H.Lechat et F.Lacoste., (2004) " Détermination de l'acidité et l'indice de peroxide dans les huiles d'Olive vierges et dans les huiles raffinées par spectrométrie proche infrarouge à transformation de fourie", *Oléagineux, Corps Gras. Lipids*. Vol11, pp70-5..
- [93] K. M.Novidzro., K .Wokpor, B. Amoussou Fagila, K .Koudouvo, K .Dotse, E. Osseyi et K. H .Koumaglo., (2019)" Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux , des pigments chlorophylliens et carotenoids de l'huile de grains de Griffonia Simplifolia", *Int.J. Biol. Chem. Sci*. Vol 13(4), pp2360-2373.
- [94] K .N .Guessan, B. Kadja, G. N .Zirihi, D .Traore et L .Aki-Assi., (2009) " screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Cote-d'Ivoire)", *Sciences et Nature* . Vol 6(1), pp 1-15..
- [95] O.Houta, H.Chouaeb, M.Neffati etH. Amri., (2012) "Criblage chimique preliminaire des proteines et carotenoides presents dans un Crithmum Maritimum cultive en Tunisie ", *Journal de la Société Chimique de Tunisie* . Vol 14 , pp 77-82.
- [96] K .Esseh, Y-G. Afanybo, K.Y.S Ahama-Esseh, K .Idoh, K .Koudouvo, A. Agbonon et M Gbeassor., (2019) " Screening Phytochimique, Etude Toxicologique, Evaluation des Activités Antiplasmodiale et Antiradicalaire de la Tige Feuillée de Senna occidentalis Linn (Fabaceae)", *European Scientific Journal* . Vol 15, pp411-433..
- [97] M.K.Mbayo, E.M. Kalonda, R.K. Muya, P.T. Tshisand, A.B. Kanangila, F.M. Maseho, E. N. Kihuya, S. A. Bakari, J.B.S. Lumbu., (2016)" Test d'activité antimiotique et étude chimique préliùinaire de quelques Euphorbiaceae du Katanga méridional (RDC)", *phytothérapie*. Vol 1(481), pp 1-12.
- [98] S. Mahmoudi, M.Khli et N. Mahmoudi., (2013) " Etude de l'extraction des composés phénolique de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara Scolymus L .)", *B-Sciences Agronomiques et Biologiques* . Vol 9, pp 35-40..

- [99] M Kebieche.,(2008)" Activité biochimique des extraits Flavonoidiques de la plante Ranunculus Repens L: Effet sur le diabète expérimental l'hepatotoxicite induite par l'epirubiane". Thèse de doctorat., Université Mentouri Constantine, pp 37..
- [100] F. Dupin. ,(2010) "mise en evidence d'un element chimique par le test de flamme" , *aide technique de laboratoire , lycée galilée -76520 franque ville saint pierre France*, pp 1-2.
- [101] D.Fuger. , (2011) "mis en application de processus analytique complexe , analyse de métaux par ICP-AES Eurofins analyse pour l'environnement " , *France*, pp 15-41..
- [102] R . Cherbi.,(2017)" Etude de l'activité antioxydante des fractions lipidiques et phénolique des feuilles et graines de *lawsonia inermis* d'algerie" . thèse de Doctorat., Université Kasdi Merbah Ouargla , pp105-145.
- [103] F Kahlouche-Riachi., (2014) " Evaluation chimique et activité Antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algerie ". thèse de doctorat., Université de constantine ,pp 90-101.
- [104] B. O .Rouis et S.Mesbah., (1995) "Etude comparative de l'association Amoxiciline/Acide Clavulaniques (agmentin) VERUS Ampiciline Dans le traitement des infections respiratoires Basses de l'ENFANT A ALGER (ALGERIE)", *Médecine de Maghreb*. Vol 52, pp 8-12..
- [105] D Bérénice., (2017)" Traitement des mycose Vulvo Vaginales et ricidivantes" . thèse de docorat., Université de Lorraine ,pp 45-47..
- [106] W.Brand-Williams, M.E .Cuvelier and C . Berset., (1995) "Use of a radical method to Evaluate Antioxydant Activity", *Lebensem-Wiss uTechnol*. Vol 28, pp25-30.
- [107] F Pessel.,(2013) " synthese éco-compatible de flavonoids fonctionnalisés par le glucose comme antioxydants potentiels ". these de doctorat., Université paris sud , pp 25-40.
- [108] K .Saffidine.,(2015) " Etude analytique et biologique des Flavonoides Extraits de Carthamus Caesuleus L de Plantago-major L ". thèse de doctorat. , Université de étif , pp50-70.

- [109] A Lakshmi kantakanthal, D . Kalanka, K. Satyavath, and P. Bhojaraju., (2014) "GC-MS analysis of bio-active compounds in méthanolic extract of *Lactuca Vuncinata DC*", *pharmacogynosis, Ress* .Vol 6(1), pp58-61.
- [110] T. Xiayun, S. Hongana,C. Jian, L. Lunig, W.Yin and S.Aidong., (2014) "Analysis of polyphenols in Apple pomace using gaz Chromatography-Mass spectrometry wiyh derivatization", *International Journal of Food properties*. Vol 17 , pp 1818-1827.
- [111] F. Abeddou., (2015) " Etude Phytochimique et activités biologique de deux plantes Médicinales Sahariennes *Rumex Vesicarius L* et *Anivillea radiate Coss et Duv* ". these de doctorat ., Université Abou Beker Belkaid Telemcen , , pp 79-100.
- [112] G Pevendram, U. Balasubramania.,(2011) "Qualitative Phytochemical Screening and GC-MS analysis of *Ocimum sanctum L*. leaves" ,*Asian Journal.of plant science and research india*. Vol1(4), pp 44-48
- [113] K. Taleb-Toudert .,(2015)" Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région Kabylie (Nord Algérien) Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (coleoptera: bruchidae)". Thèse de Doctorat., Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou, pp 52-85.
- [114] M.K. Konan, M. Bekro, J. Akhanovna, J.L. Pirat, D. Virieux., (2014)" Analyse GC-MS des polyphénols totaux extraits des racines de *Glyphaea Brevis cspreg MONACHINO*(Tipliaceae) et anti-proliféatif" *phytothérapie* . Vol 13(6) , pp 1-4.
- [115] B.Sayed-Ahmed., (2018)" Etude de l'agroraffinage de grains d'Apiaceae, lanvaceae et chenopodiaceae pour la production de molecules biosourcées en vue d'application en industrie cosmétique ", these de doctorat , université de Toulouse , pp 42.
- [116] S .Benchikh.,(2017) " etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium Polium ssp Eurasianum Labitate* ". these de doctorat .,Université Kasdi Merbah Ouargla pp38-39.
- [117] S. Medjekal, I. Saker, M. Ghadbane.,(2017) "Etude phytochimique et activités biologique d'une plante médicinale de la region de M'sila *Mentha pulegiun L* ". *Révue des region Aride*. Vol 43(3) , pp 607-613.

- [118] Flame photometre models PFP7 and PFP7/C operating and service manuel rev .Vol17,pp12-08.
- [119] A. Karrandou., (2016) "Le Nigelle, une panacée peu connue en occident ", these de doctorat. Université de Bourgogne, pp 23.
- [120] National Comitée For Clinical Laboratory Standards performance Standards for antimicrobial susceptibilty testing ;Wayne, Pennsylvania: NCCLS;(1999): document M100-S9, Vol. 19.1, Table 2I.
- [121] A. B. Djahra, O. Bordjiba et S . Benkherara., (2012)" Activité antibacterienne de Flavonoides d'une plante médicinalSpontanée Marrubium Valgare L de la région d'ELTAREF (Nord-Est Algérien)", *Rev Sci Technol, Synthèse*. Vol 24, pp 29-37..
- [122] A .Toty,N .Guessennd, C Bahi, M .Kara, A. Otokore et M. Dosso., (2012)"Evaluation in-vitro de l'activité Antibacterienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de Harungana Madagascariensis sur la croissance de souches multi-résistantes", *Bulletin de la Socity Royale des Sciences de liege*. Vol 82, pp 12-21..
- [123] A .G .Koffi, A. R .Ahoua,L . Ekou et T Ekou., (2018) " Activité Antioxydante de quelques plantes utilisées dans la région de Tiassalé (Cote d'Ivoire) dans le maintien de la Santé de la Peau", *European Scientifie Journal* . Vol 14, pp 338-35..
- [124] H. Talbi, A .Boumaza, K . El-mostafa, J. Talbi et A .Hilali. (2015). "Evaluation de l'Activité Antioxydante et la composition Physico-Chimique des extraits méthanolique et aqueux de Nigella Sativa L", *Mater Environ . Sci*. Vol 6(4), pp1111-1117.
- [125] M.Al-Owaisi, N. A-Hadiwi et S. Alan khan., (2014)" GC-MS analysis of total phenolic flavonoid content and free radical Scavenging activités of Various crude extracts of Moringa-Peregrina (Forssk) Fiori leaves", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol 4, pp 964-970..
- [126] P .Abirami, A .Rajendran., (2012)" GC-MS analysis of methanol extractsbof Vernonia Cinerea ", *Europeau Journal of Experimental Biology*.Vol 2(1) , pp 9-12..
- [127] F. Bauer, R.Flyunt, K.Czihal, H.Langguth, R .Mehnet,R . Schubert and M . Buchmeiser., (2007) " Curing and matting of acrylate coatings reinforced by nano-silica

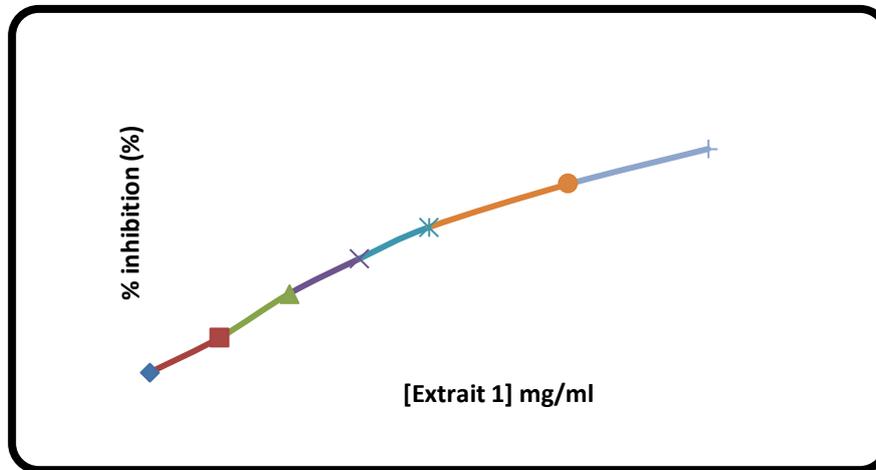
- and micro-corundum Praticles" , *Progress in Organic Coatings*. Vol 60 (2) , pp 121-126..
- [128] V-N. Zemlianoy, A .Chernega, A-V.Gutov, A.Kolodiazhna etO-I . Kolodiazhnyi. (2011) ," Synthesis of 3,3-bi(diethylphosphono)-1-(3H)- isobenzofuranone and its chemical properties" , *Journal Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements*. Vol 186, pp481-488..
- [129] A-U. Rehman,S.Ahtzaz, M.Atharabbasi, S. Zahrasiddique, S. Rasool and I Ahmad. (2017) "Synthesis , Spectral Analysis and Atibactérial evaluation of 5-substitued -1,3,4-oxadiazol -2- yl 4-(4-methylpiperidin -1-yl sulfonyl) benzyl sulfides " , *Journal of Chilean Chemical Society*. Vol 62 , pp 3370-3375..
- [130] M.Nijenders and A . Mohd., (2003)"Volatile Constituents of *Cymbopogon nordus* (Linn)",*Rendle Flavour and Fragrance Journal* ". Vol 18, pp 73..
- [131] B. Peruma, R . Neelamegan., (2012)"GC-MS of putocoponent in the ethanol extract of *Polygonm ChinenseL*", *Journal List Pharmacognosy Ress*.Vol4(1), pp11-14..
- [132] A .Mekler, S .Bramachandran, S . Swaminathan and S .Newman melvin., (1961) "methyl-1,3-cyclohexane dione" , *Org. Synth*. Vol 41, pp56..
- [133] R. A .Pscal,. (2004)"Molecular ion Maidens Wtra-short Non in Onded Contacts in Cyclophanes and other Grouded Molecules", *European Journal of Organique Chimistry* Vol 18, pp 3763-3771..
- [134] A Hgiwara, S .Migata, M-A .Tamamo, S. Shibata and M .Sugiuer (1996)" Inoue and Mhirose Non-carcinogenicite of 2,2-[4-aminophenyl imino]bis rthanol sulfate in long term Feeding Study in Fischer 344 Rats", *Food and Chemical Toxicology*. Vol 34, pp 537-546..
- [135] B. G. Gittevan and W. M. Bertu., (2008) "synthesis of 6-methyl(6H) indolo[3,2-c]isoquinoline and 6-methyl(6H) inddolo[3,2-c]isoquinoline two new unnatural isoquinoline iso vers of the Cryptolepine series" , *Science Direct – Elsevier*. Vol 74, pp11802-11809..

- [136] S. Prapaparm , T. Tawatchi, S . Runglawan, C . Arunrat.,(2017) "Major Phytochemicals Sitosterol Disclosing and Toxicity Testing in Lagerstroemia Species ", *Research Article* . Vol 1, pp 10.
- [137] A. Ouibrahim., (2015)"Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis L.*, *Ocimum basilicum L.* et *Rosmarinus officinalis L.*) de Est Algérien" . thèse de Doctorat., Université BADJI MOKHTAR Annaba , pp 60-77.
- [138] A. Diallo.,(2005)" Etude de la Phytochimie et des Activités Biologique de *Syzygium guineese Willd* (MYRTACEAE)". Thèse de Doctorat ., Université de BAMAKO, p 57-77.
- [139] A .Arias-Lunot.,(2017) " Etude d'extrait polaires de plantes médicinales par GC-MS après dérivatisation Application à la mélisse ". thèse de doctorat . , Université d'AIX-Marseille France,pp 22-50,51.
- [140] A. Brinis., (2016) "Etude de la variabilité génomique de trois espèces d'atriplex (*halimusL.*, *nummularia*, *canescens*) et sélection de caractèresde tolérance au stress salin". Thèse de doctorat., Université Badji Mokhtar Annaba. pp 33-39.

Annexe

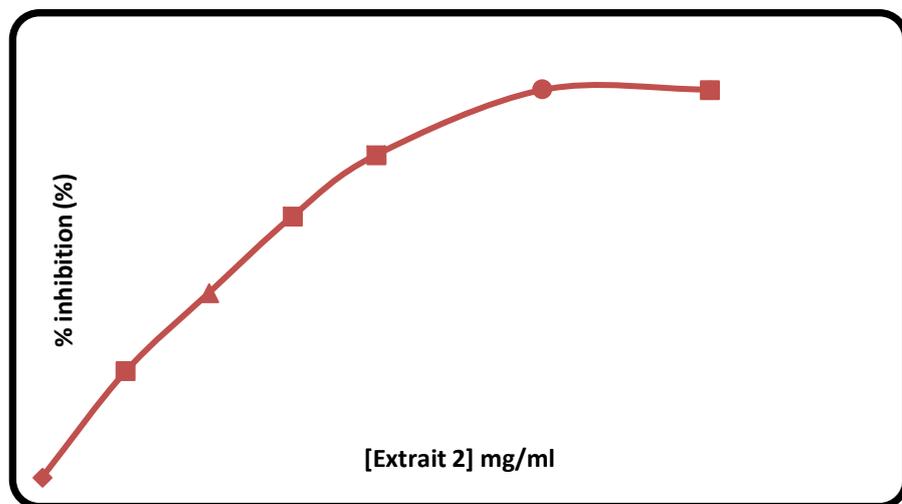
Annexe 1

Figure des courbes des tests antioxydant



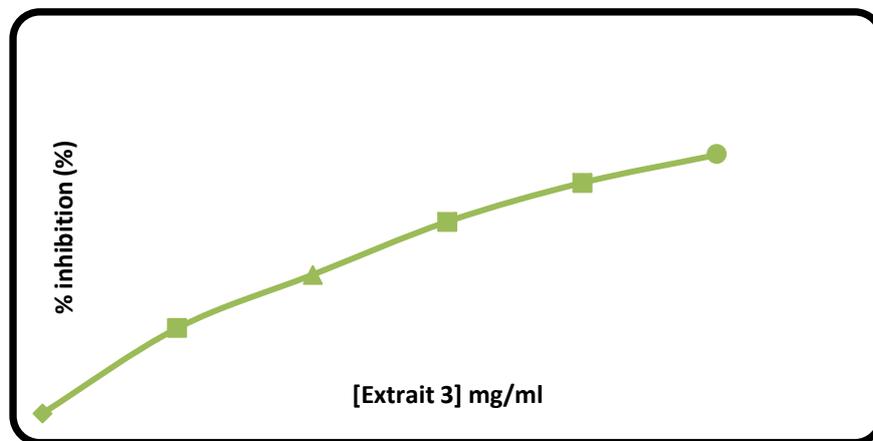
EC50= 23.20 ± 0.39 mg/ml

Figure 1 : Courbe de taux d'inhibitions pour l'extrait 1



EC50= 11.75 ± 0.18 mg/ml

Figure 2: Courbe de taux d'inhibition pour l'extrait 2



EC50 = 57.16 ± 0.19 mg/ml

Figure 3: Courbe de taux d'inhibitions pour l'extrait3

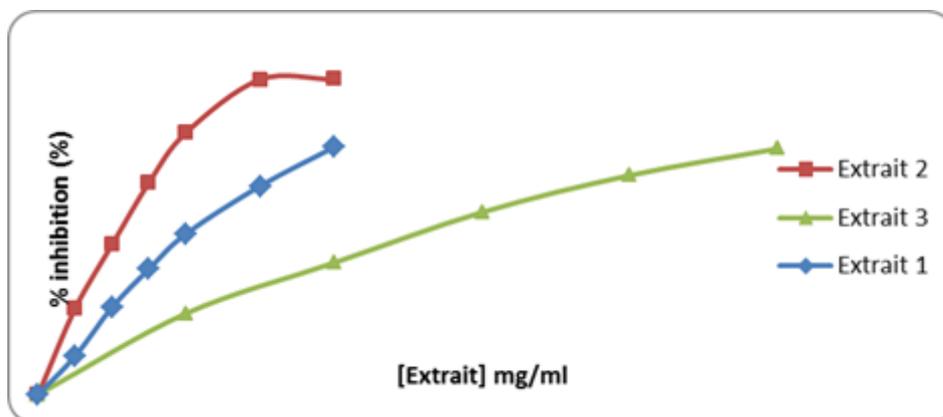
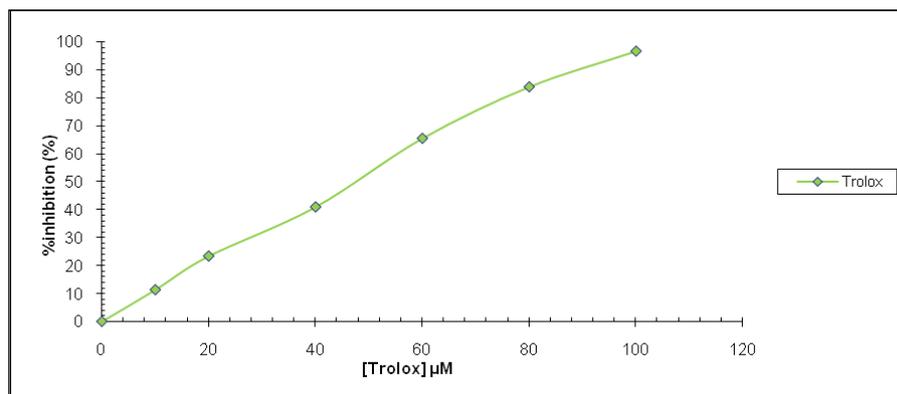


Figure 4: comparaison de courbe d'inhibition antioxydant des trois extraits



$$EC50_{\text{Trolox}} = 45.642 \mu\text{M}$$

Figure 5: Courbe de capacités antioxydant en présence de trolox

Annexe 2

Bibliographe fournie avec l'appareil
CPG-MS de l'institut INRAP

Abundance

Scan 2177 (15.544 min): 180112-13.D\data.ms

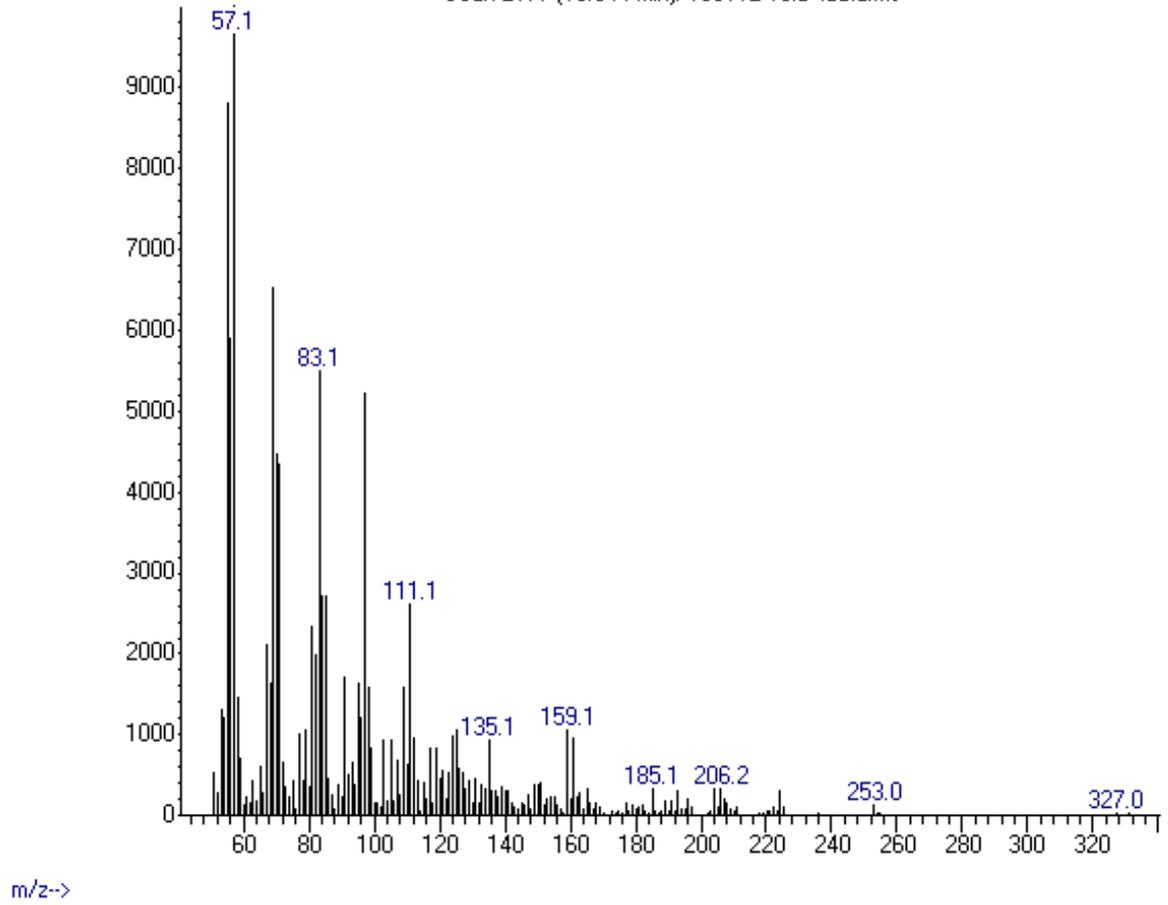


Figure 1 : Spectre scan SM d'extrait d'hexane

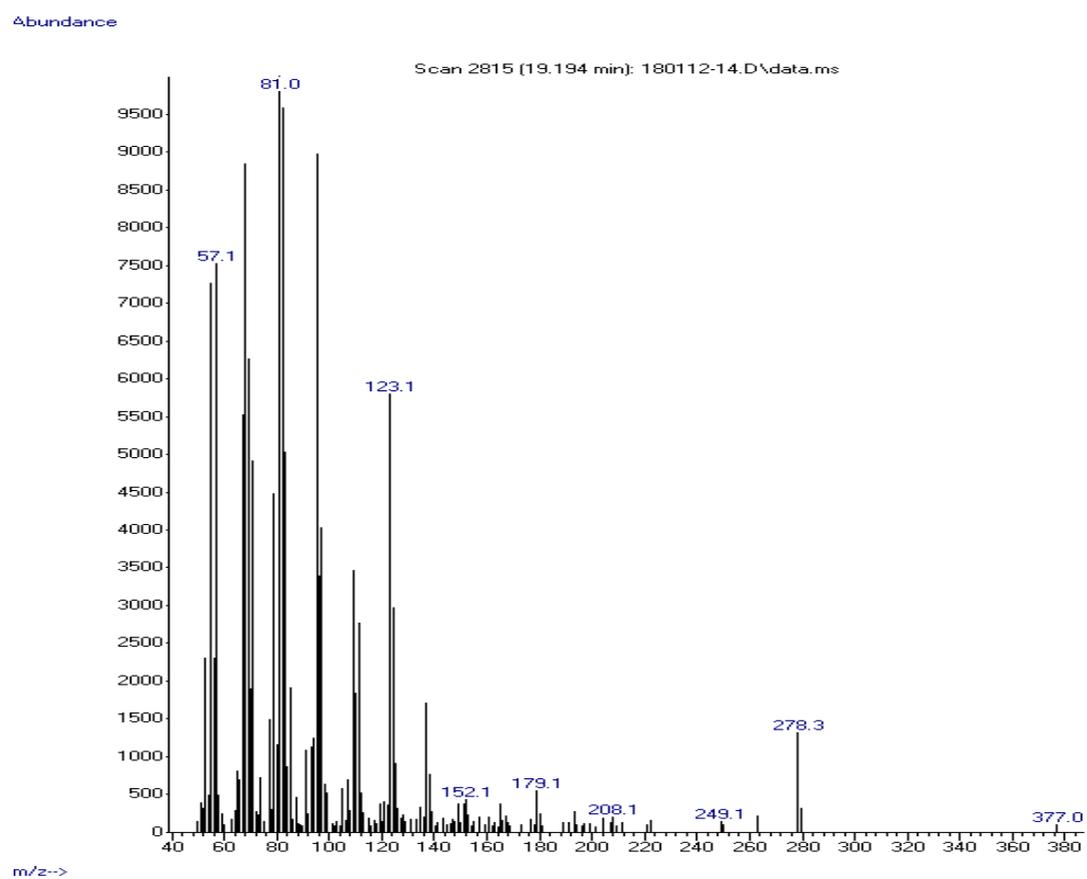


Figure 2: Spectre scan SM de extrait 1

Abundance

Scan 2753 (18.839 min): 180112-14.D\data.ms

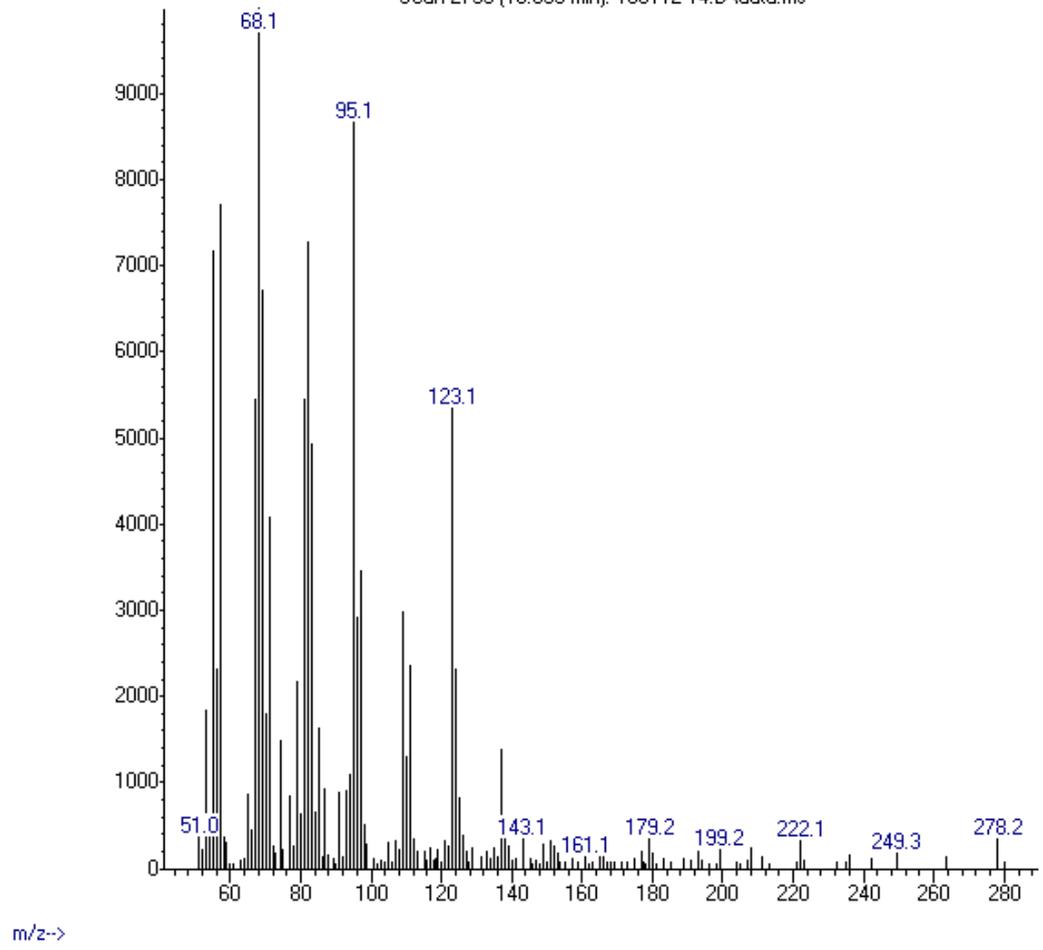


Figure 3: Spectre scan SM de extrait 2

Abundance

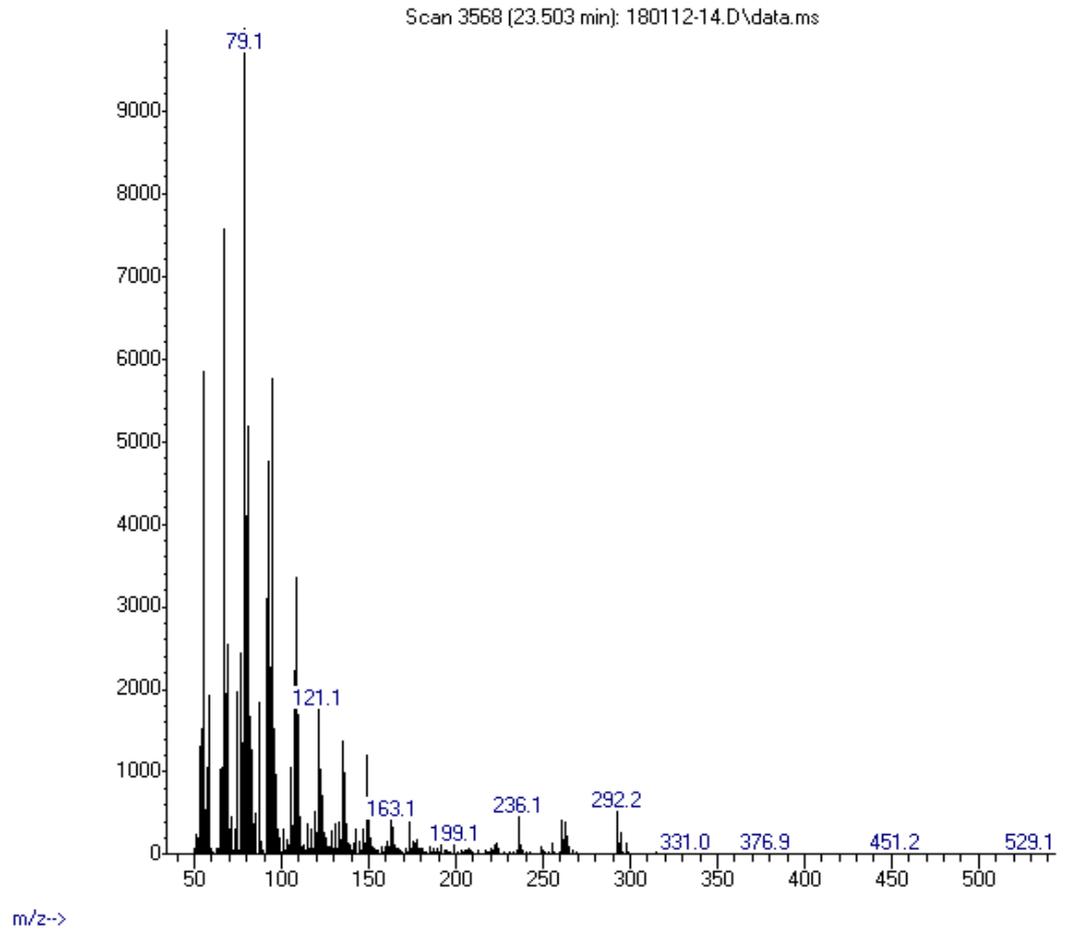


Figure 4: Spectre scan SM de extrait 3