

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Spécialité pharmaco-toxicologie



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de l'activité antioxydante des extraits
phénoliques de *Spergularia rubra L***

Présenté par :

BENCHILLA Lilia & LOUNIS Soraya

Soutenu le : **25 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme BOUDRIA A.	MCB	Président
Mme METROUH-AMIR H.	MCB	Encadreur
Mr GHIDOUCHE A.	MCB	Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

*D'abord nous remercions notre dieu le tout puissant qui nous
protège tout le temps,
et qui nous a donné le courage et la patience pour réaliser
ce modeste travail.*

Nous tenons à remercier très particulièrement notre promotrice

Mme METROUH-AMIR H

pour son aide, ses conseils, son orientation et sa grande gentillesse.

Toutes nos expressions de respect à

Mme BOUDRIA A

qui nous a fait honneur par sa présence en qualité de présidente de jury

Nos sincères remerciements et considérations sont exprimés à

Mr GHIDOUCHE A qui a

*Accepté d'examiner ce travail et de consacrer de son
temps pour l'évaluer.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents pour leur amour, leur sacrifice, leur
encouragement,*

*Pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont
enseignées*

Pour leur soutien et leur confiance notamment durant mes études.

A mon frère et ma grand-mère.

A tous mes cousins et ma meilleure amie

A mon binôme Soraya.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents pour leur amour, leur sacrifice, leur
encouragement,*

*Pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont
enseignées pour leur*

Soutien et leur confiance notamment durant mes études.

A mes frères, cousines et mes amies ;

A mon binôme Lilia.



Liste des abréviations

ABTS: 2, 2 Azinobis-(3-Ethyl-Benzothiazoline-6-Sulfonate)

ANOVA: Analysis Of Variance

AOA: antioxidant activity

TC: tannins condensés

DPPH: 2, 2-Di Phenyl-1-Picryl Hydrazyle

EAG: Equivalent Acide Gallique

EC: équivalent catéchine

EQ: Equivalent Quercétine

S-L : solide-liquide

Ms : Matière sèche

PI : pourcentage d'inhibition

PR: pouvoir réducteur

TAC: capacité antioxydante totale

TF: flavonoïdes totaux

TP: Polyphénols totaux



Liste des figures

Figure1 : Photographie de la plante <i>Spergularia rubra L</i>	2
Figure 2 : Structures des polyphénols	5
Figure3 : Représentation schématique des réactions catalysées par la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx).....	7
Figure 4 : Effet du diamètre de la poudre sur la teneur en polyphénols totaux de <i>Spergularia rubra L</i>	13
Figure 5 : Effet du diamètre de la poudre sur la teneur en flavonoïdes de <i>Spergularia rubra L</i>	13
Figure 6 : Effet du diamètre de la poudre sur la teneur en tanins condensés de <i>Spergularia rubra L</i>	14
Figure 7 : Effet du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux de <i>Spergularia rubra L</i>	15
Figure 8 : Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes de <i>Spergularia rubra L</i>	16
Figure 9 : Effet du solvant d'extraction sur la teneur en tanins condensés de <i>Spergularia rubra L</i>	17
Figure 10 : Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux de <i>Spergularia rubra L</i>	18
Figure 11 : Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes de <i>Spergularia rubra L</i>	19
Figure 12 : Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la teneur en tanins condensés de <i>Spergularia rubra L</i>	20
Figure 13 : Effet du rapport solide-liquide sur la teneur en polyphénols totaux de <i>Spergularia rubra L</i>	21
Figure 14 : Effet du rapport solide-liquide sur la teneur en flavonoïdes de <i>Spergularia rubra L</i>	22

Figure 15: Effet du rapport solide-liquide sur la teneur en tanins condensés de <i>Spergularia rubra L</i>	22
Figure 16: Effet du diamètre de la poudre sur le pouvoir réducteur de <i>Spergularia rubra L</i>	23
Figure 17: Effet du diamètre de la poudre sur l'activité scavenger du radical DPPH de <i>Spergularia rubra L</i>	24
Figure 18 : Effet du diamètre de la poudre sur la capacité antioxydante totale de <i>Spergularia rubra L</i>	25
Figure 19 : Effet du diamètre de la poudre sur l'activité scavenger du radical ABTS de <i>Spergularia rubra L</i>	25
Figure 20 : Effet du solvant d'extraction sur le pouvoir réducteur de <i>Spergularia rubra L</i>	26
Figure 21: Effet du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical DPPH de <i>Spergularia rubra L</i>	27
Figure 22 : Effet du solvant d'extraction sur l'activité antioxydante totale de <i>Spergularia rubra L</i>	28
Figure 23 : Effet du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical ABTS de <i>Spergularia rubra L</i>	28
Figure 24 : Effet de la concentration du solvant d'extraction sur le pouvoir réducteur de <i>Spergularia rubra L</i>	29
Figure 25: Effet de la concentration du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical DPPH de <i>Spergularia rubra L</i>	30
Figure 26: Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la capacité antioxydante totale de <i>Spergularia rubra L</i>	31
Figure 27: Effet de la concentration du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical ABTS de <i>Spergularia rubra L</i>	31
Figure 28: Effet du rapport solide-liquide sur le pouvoir réducteur de <i>Spergularia rubra L</i>	32

Figure 29: Effet du rapport solide-liquide sur l'activité scavenger du radical DPPH de <i>Spergularia rubra L</i>	33
Figure 30: Effet du rapport solide-liquide sur la capacité antioxydante totale de <i>Spergularia rubra L</i>	33
Figure 31: Effet du rapport solide-liquide sur l'activité scavenger du radical ABTS de <i>Spergularia rubra L</i>	34

Liste des abréviations

Liste des figures

Revue bibliographique

Introduction	1
I-Généralités sur la plante.....	2
I-1-Description botanique.....	2
I-2- Nomenclature.....	2
I-3- Classification.....	3
I-4-Caractères généraux.....	3
I-5-Répartition botanique.....	3
I-6-Floraison	3
I-7-Propriétés de la plante.....	3
I-8- Usage de la plante.....	3
II-Composés phénoliques.....	4
II-1-Définition.....	4
II-2-Différentes classes de composés phénoliques.....	4
I-2-1-Flavonoïdes.....	4
I-2-2- Tanins.....	4
I-2-3- Acides phénoliques et dérivés	4
I-2-4- Stilbens.....	5
I-2-5- Lignanes.....	5
II-3-Voies de synthèse des composés phénoliques.....	6
III- Activité antioxydante.....	6
III-1- Définition des antioxydants.....	6
III-2-Systèmes de défense des antioxydants.....	6
III-2-1- Système enzymatiques.....	7
III-2-2- Système non enzymatiques.....	7

Matériel et méthodes

I-Récolte du matériel végétal.....	8
------------------------------------	---

II-Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de <i>Spergularia rubra</i>	8
II-1-Effet du diamètre de la poudre	8
II-2-Effet de la nature du solvant d'extraction	8
II-3-Effet de la concentration du solvant d'extraction	8
II-4-Effet du rapport solide-liquide.....	8
III- Dosage des antioxydants.....	9
III -1- Polyphénols totaux.....	9
III -2- Flavonoïdes	9
III-3 -Tanins condensés.....	9
IV- Etude de l'activité antioxydante.....	10
IV-1-Pouvoir réducteur.....	10
IV-2- Capacité antioxydante totale	10
IV- 3-Activité « scavenger » du radical DPPH.....	10
IV-4-Activité « scavenger » du radical ABTS	11
V- Etude statistique.....	11

Résultats et discussion

I-Teneur en antioxydants.....	12
I-1-Effet du diamètre.....	12
I-1-1-Polyphénols totaux.....	12
I-1-2- Flavonoïdes	13
I-1-3-Tanins condensés.....	14
I-2-Effet du solvant d'extraction.....	15
I-2-1-Polyphénols totaux.....	15
I-2-2-Flavonoïdes	16
I-2-3-Tanins condensés.....	17
I-3- Effet de la concentration du solvant.....	17
I-3-1-Polyphénols totaux.....	18
I-3-2-Flavonoïdes	19
I-3-3-Tanins condensés.....	20
I-4- Effet du rapport solide-liquide.....	20

I-1-1-Polyphénols totaux.....	21
I-1-2-Flavonoïdes	22
I-1-3-Tanins condensés.....	22
II-Etude de l'activité antioxydante.....	23
II-1-Effet du diamètre.....	23
II-1-1-Pouvoir réducteur.....	23
II-1-2-Activité « scavenger » du radical DPPH.....	24
II-1- 3-Capacité antioxydante totale	25
II-1-4-Activité « scavenger » du radical ABTS	25
II-2-Effet du solvant d'extraction.....	26
II-2-1-Pouvoir réducteur.....	26
II-2-2-Activité « scavenger » du radical DPPH.....	27
II-2- 3-Capacité antioxydante totale	27
II-2-4-Activité « scavenger » du radical ABTS	28
II-3- Effet de la concentration du solvant.....	29
II-3-1-Pouvoir réducteur.....	29
II-3-2-Activité « scavenger » du radical DPPH.....	30
II-3- 3-Capacité antioxydante totale	30
II-3-4-Activité « scavenger » du radical ABTS	31
II-4- Effet du rapport solide-liquide.....	32
II-4-1-Pouvoir réducteur.....	32
II-4-2-Activité « scavenger » du radical DPPH.....	33
II-4- 3-Capacité antioxydante totale	33
II-4-4-Activité « scavenger » du radical ABTS	34
Conclusion.....	35
Références bibliographiques.....	37
Annexes.	

Introduction

Introduction

Les produits naturels ont été et continuent d'être une source d'inspiration pour une part substantielle des thérapeutiques humaines. Dans les plantes médicinales les polyphénols sont des métabolites secondaires considérés comme des composés bioactifs et peuvent éventuellement être développés comme médicaments (**Mocan et al., 2015**).

En effet les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal, qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies neuro-dégénératives et cardiovasculaires (**Vauzour et al., 2010**). Ainsi Considérés comme les composés antioxydants les plus fréquents dans les régimes alimentaires humains. Les polyphénols possèdent de multiples propriétés biologiques ce qui rend indispensable de connaître leurs quantités et leurs variétés dans les plantes médicinales et les aliments naturels (**Mocan et al., 2015**).

Les molécules naturelles suscitent beaucoup d'intérêt en raison de leur implication dans diverses industries. Les antioxydants de synthèse sont remis en question à cause de leur potentiel toxicologique, ce qui mené à la recherche d'antioxydants naturels. L'étude de l'activité antioxydante des plantes est devenue une sorte de tendance ces dernières années notamment à cause de questions socio-économiques et culturels des consommateurs et des industriels ce qui a orienté la recherche dans ce champs d'investigation. (**El-Haci et al., 2012**), et dans ce contexte plusieurs efforts sont fournis pour l'extraction et l'isolation de ces composés en vue d'étudier leurs principes actifs et leur implications dans le domaine de la médecine (**Brglez Mojzer et al., 2016**).

Le but de ce travail est l'étude de la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de la plante *Spergularia rubra.L* ainsi que l'influence de la variation des différents paramètres d'extraction sur le rendement en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits obtenus de cette plante.

Partie
bibliographique

I-Généralités sur la plante

I-1-Description botanique

Spergularia rubra L est une plante qui appartient à la famille des Caryophyllacées, qui constituent une famille de 2630 espèces, représentées dans toutes les contrées de l'hémisphère nord et particulièrement dans les montagnes et les régions méditerranéennes (Dupont et Guignard, 2012). Ces herbes sont annuelles vivaces, rarement à souche ligneuse. Elles renferment des tiges avec des ronflements aux zones d'insertion des feuilles qui sont opposées, entières et simples (Spichiger et al., 2002). Leurs fleurs sont roses, petites (3mm), en cymes courtes, lâches, feuillées-pédicelles plus courts que la capsule ou la dépassant peu. Les fleurs présentent 7 à 10 étamines libres. Les filets des étamines sont glabres. Le pistil est surmonté de 3 styles. La corolle est formée de 5 pétales égaux, libres, avec l'extrémité arrondie. Le calice poilu-glanduleux est formé de 5 lobes lancéolés, soudés à la base, disposés en coupe, aussi longs que la corolle. Le fruit est une capsule globuleuse, glabre, formée à partir des carpelles (Ke et al., 2001).

I-2-Nomenclature

I-2-1-Synonymes: *Arenaria rubra* L., *Arenaricampestris* L., *Spergularia campestris*(L.) Ascherson, *Spergularia rubra* var. *pérennes*(Kindb.) BL Robins, *Tissa Rubra* (L.) Britt.(Nawrocki, 2011).



Figure 1 : Photographie de la plante *Spergularia rubra* L. (Julve, 2017).

I-3-Classification

-Règne : Plantae

-Division : Magnoliophyta

-Classe : Magnoliopsida

-Famille : Caryophyllacée

-Genre : *Spergularia*

-Espèce : *Spergularia rubra*

-Sous-espèce : *Spergularia rubra subsp* (Dobignard et Chatelain, 2010).

I-4-Écologie : Lieux sablonneux et siliceux.

I-5-Répartition : Très répandue en Algérie et très commune dans le Tell. Elle occupe des terrains sablonneux et rocaillieux, depuis le littoral jusqu'aux hautes montagnes (d'où le nom de Sabline) (Kebbas et al., 2008).

I-6-Floraison : Mai-août (Julve, 2017).

I-7-Propriétés de la plante

Spergularia est une halophyte, qui est considérée comme une source d'agents potentiellement thérapeutiques, comme les flavonoïdes et les saponines (Kong, 2014). Des études pharmacologiques de *spergularia rubra* ont montré qu'elle possède des propriétés antidiurétiques, hypo-cholesterolémique, hypoglycémique, hypotensive, elle a également des propriétés antidiabétiques, anti-cholinestérase et antioxydante *in vitro* (Cheap-charpentier et al., 2016).

I-8-Usages de la plante

De nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle sont reconnues par les herboristes pour leurs propriétés anti-lithiasique, antispasmodique et diurétique. *Spergularia rubra* L., communément appelée « Fettat El Hjar » ou « casse-pierre », utilisée en décoction ou en infusion, elle a montré des résultats extraordinaires pour lutter contre les affections des voies biliaires et rénales et dans la lutte contre la lithiase rénale, maladie de plus en plus répandue en Algérie. L'espèce *Arenaria rubra* L. C'est une plante couramment utilisée contre les affections de la vessie (cystite), et des coliques néphrétiques, où elle calme les douleurs (Kebbas et al., 2008).

II- Composés phénoliques

II-1-Définition

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions qui peuvent être hydroxylée et méthylées, acylées ou glycosylées. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (**Hennebelle et al., 2004**).

Les composés phénoliques sont classés selon leur structure chimique en groupes de familles. Il y a plus d'une dizaine de classes de polyphénols, mais les 5 classes majeurs sont: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes et les stilbens, chacune de ces classes ayant des sous-classes avec une centaine de dérivatifs (Figure 2) (**Deepak et al., 2015**).

II-2-Différentes classes de composés phénoliques

II-2-1-Flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti allergéniques, antivirales, anti-inflammatoires et antioxydantes (**Pietta, 2000**). Les flavonoïdes sont des phenylbenzopyrones de bas poids moléculaire. Leur structure de base est composée de 3 noyaux cycliques ; 2 cycles benzènes reliés par un hétérocycle pyranique. Leurs substituant déterminent plusieurs sous classes de flavonoïde (**Middleton et al., 2000**).

II-2-2-Tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes, ils peuvent être solubles ou insolubles. Leur caractéristique la plus marquée est leur capacité à précipiter les protéines, cette propriété est inhérente aux tanins ayant un poids moléculaire de 500-3000 DA. Les tanins sont subdivisés en deux groupes majeurs, les tanins condensés et les tanins hydrolysables (**Theisen et al., 2014**).

II-2-3-Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont retrouvés dans la paroi des cellules végétales comme des produits dérivatifs de la voie de monolignols et des produits issus de la dégradation de la lignine. Ils sont aussi bien présents sous forme libre que conjuguée avec des résidus de

sucre qui se lie grâce aux groupements hydroxyles, et parfois comme des esters conjugués. Suivant la distribution de leurs carbones ils peuvent être classés en acides hydroxycinnamiques ou acides hydroxybenzoïques (Bonta, 2017).

II-2-4-Stilbens

Les stilbens sont des composants issus du métabolisme secondaire, connus pour leurs propriétés antifongiques. Ce sont des molécules phénoliques composées de 14 carbones. Les stilbens sont des diphenyléthylènes, ils sont incolores ou rougeâtres. Ils sont solides à température ambiante. Ils ont un poids moléculaire de 200-300, et leur point de fusion est entre 150-300 °C (Hart, 1981).

II-2-5-Lignanes

Les lignanes sont un vaste groupe de substances naturelles de nature polyphénolique très répandu chez les végétaux supérieurs. C'est un groupe de dimères de phénylpropanoïdes dans lesquels les unités phénylpropanes sont liées par le carbone central (C8) de chaque chaîne propyle. Des centaines de molécules ont déjà été identifiées dans plusieurs dizaines de familles de plantes. Leur structure chimique se caractérise par le couplage de deux unités dérivées du 1-phénylpropane, provenant elles-mêmes du métabolisme de la phénylalanine et de précurseurs appelés monolignols (Lamblin et al., 2008).

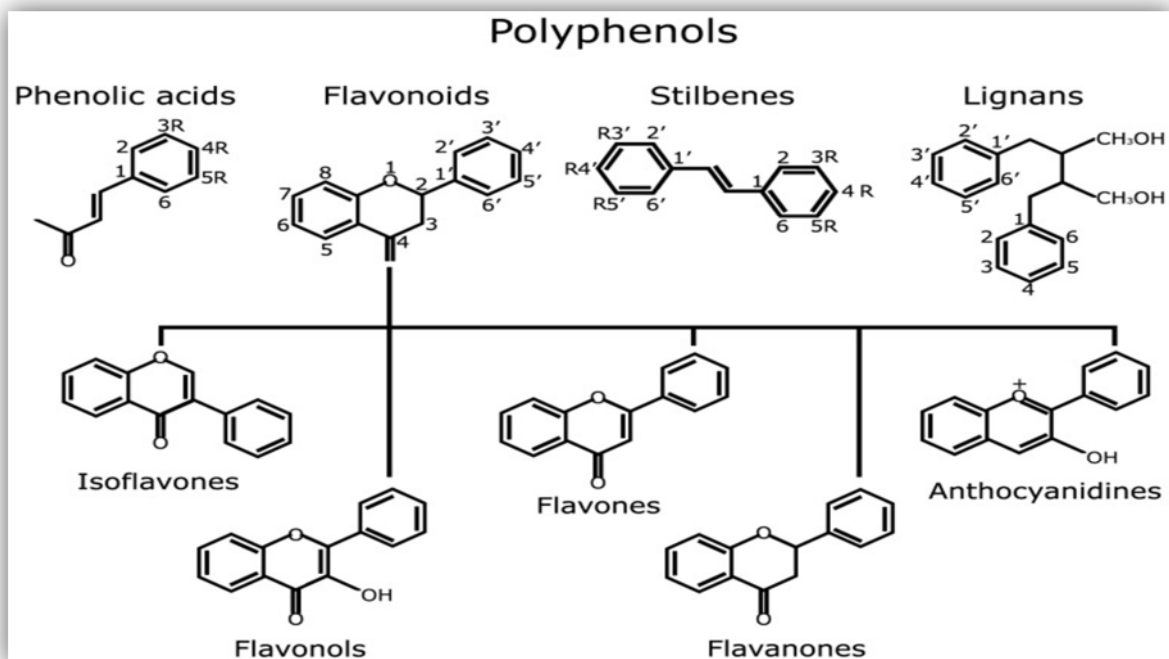


Figure 2: Structures des polyphénols (Losada-Echeberría et al., 2017).

II-3- Voies de synthèses des composés phénoliques

Le critère de biosynthèse des composés phénoliques est nécessaire pour mieux cerner les limites de ce groupe. On distingue ainsi deux grandes voies de synthèse :

La voie des shikimates: est la voie la plus courante elle conduit des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) (Deepak et al., 2015), puis désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à leur très nombreux dérivés (acides benzoïques, coumarines,...) (Bruneton, 1999).

La voie de l'acétate : elle part de l'acétate et conduit à des poly- β -cétosters de longueur variable, les polyacétates, qui engendrent, la cyclisation (réaction de Claisen ou condensation aldolique), des composés souvent polycycliques : chromones, isocoumarines, orcinols, depsides, depsidones, xanthones et quinones (Bruneton, 1999).

III-Activité antioxydante

III-1- Définition des antioxydants

Un antioxydant est une substance capable de prévenir ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules. Les antioxydants agissent de plusieurs manières. Leur mécanisme d'action peut être direct ou indirect, en tant que partie de la structure d'enzymes et /ou cofacteur d'enzyme antioxydant, comme dans le cas des éléments traces. Les mécanismes les plus fréquents l'interruption de la spirale oxydative (vitamine C et E, NADPH, glutathion), la prévention des dégâts par la mise à disposition d'électrons (céruloplasmine, vitamine C, superoxyde dismutase, GSHPx) et la réparation des molécules d'ADN (Zn, acide folique, niacine) (Mezouar et al., 2014).

III-2-Systèmes de défense des antioxydants

On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule ; les antioxydants naturels enzymatiques et non enzymatiques. (Benyagoub et al., 2015).

III-2-1-Système enzymatique

Chez les mammifères les espèces réactives oxygénées sont neutralisés par des enzymes antioxydants comme la superoxide dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR), qui sont des antioxydants à action indirecte (Melo et al., 2011).

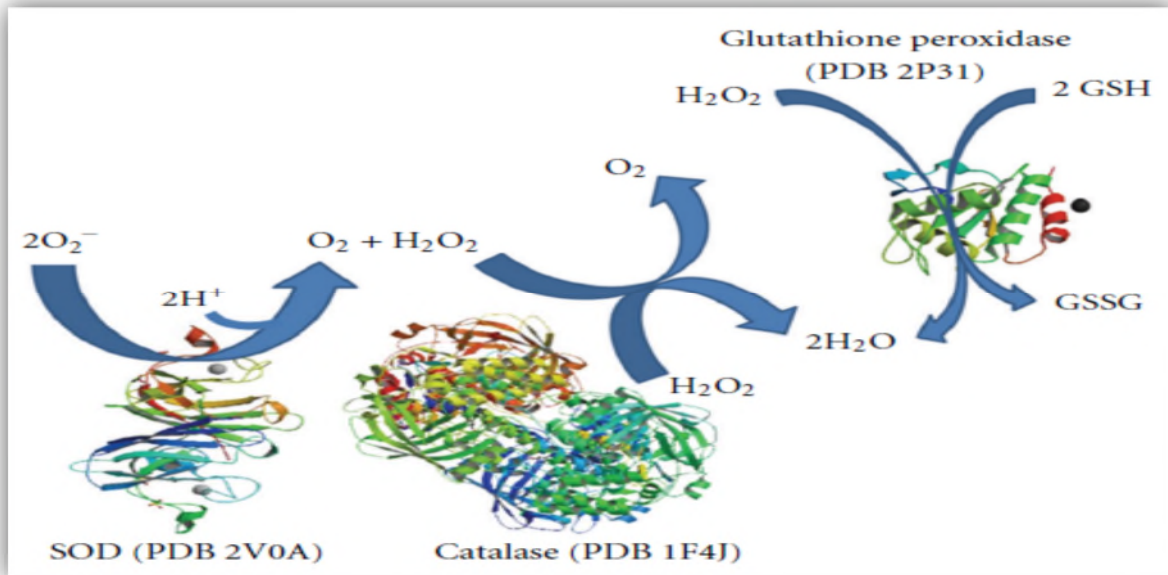


Figure 3: Représentation schématique des réactions catalysées par la superoxide dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx) (Melo et al., 2011).

III-2-2-Système non enzymatique

Les antioxydants incluent des antioxydants à action directe, qui sont extrêmement importants pour la défense contre les oxydants, la plupart comporte l'acide ascorbique et l'acide lipoïque, les polyphénols et les caroténoïdes issus de l'alimentation. Une minorité de ces molécules est synthétisée par la cellule elle-même, leur action directe implique la chélation des agents et la liaison aux métaux oxydo-réducteurs pour prévenir la formation de radicaux libres (Uttara et al., 2009).

Matériel et méthodes

I- Matériel végétal

La plante entière de *Spergularia rubra L* a été récoltée dans la wilaya de Tamanrasset, durant le mois de Mai 2017. Après la récolte l'échantillon a été séché à température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière. La matière sèche obtenue a été réduite en poudre, puis tamisée en utilisant trois tamiseurs de granulométries différentes (125, 250 et 500 μm).

II-Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques

Dans une démarche d'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de *Spergularia rubra L*, une série de paramètres a été étudiée, notamment l'effet du diamètre de la poudre, de la nature et de la concentration du solvant d'extraction, et l'effet du rapport solide-liquide.

Une quantité de 0.4 g de la poudre a été mélangée avec 40 ml de solvant d'extraction. Après 3 heures de macération, les mélanges ont été filtrés et utilisés pour déterminer la teneur en composés phénoliques ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante.

II-1- Effet du diamètre de la poudre

Pour étudier l'effet du diamètre de la poudre d'extraction sur la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et en tanins, ainsi que sur l'activité antioxydante de *Spergularia rubra L*, trois diamètres ont été utilisés à savoir : 125 μm , 250 μm et 500 μm .

II-2-Effet de la nature du solvant d'extraction

Afin d'étudier l'effet de la nature du solvant d'extraction, les composés phénoliques totaux de *Spergularia rubra L* sont extraits en utilisant comme solvants l'eau distillée, l'acétone 50%, le méthanol 50%, l'éthanol 50%, et en utilisant le diamètre 250 μm .

II-3-Effet de la concentration du solvant d'extraction

Concernant l'effet de la concentration du solvant, l'extraction des composés phénoliques totaux de *Spergularia rubra*, a été réalisée en utilisant comme solvant l'acétone à différentes concentration à savoir : acétone 30%, acétone 50%, acétone 70% et acétone 100%.

II-4- Effet du rapport solide-liquide

Pour déterminer l'effet du rapport solide-liquide, l'extraction des composés phénoliques de *Spergularia rubra L* a été effectuée en utilisant une poudre de 250 μm de

diamètre et comme solvant d'extraction l'acétone 70%, et en faisant varier le ratio échantillon/solvant de 0,1/20 ; 0,2/20 ; 0,4/20 à 0,6/20 (g/ml).

III- Dosage des antioxydants

III-1- Composés polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été dosés par la méthode de **Kähkönen et al. (1999)**. Le réactif de Folin-Ciocalteu utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

Un volume de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à 0.2 ml d'extrait. Après 3 minutes, 0.8 ml de la solution de carbonate de sodium (7.5%) sont ajoutés. Après 1 heure d'incubation, l'absorbance est mesurée à 767 nm. La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en gramme équivalent acide gallique par 100 g de matière sèche, est déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (annexe).

III-2- Flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été quantifiés selon la méthode de **Lamaison et Carnet (1990)**. Cette technique est basée sur la formation du complexe flavonoïde-aluminium.

Une partie aliquote de chaque extrait a été ajoutée à un volume égal de chlorure d'aluminium (2%). L'absorbance a été lue à 410 nm après 15 min. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent quercétine par 100 g de matière sèche à partir de la droite d'étalonnage (annexe).

III-3- Tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode décrite par **Swain et Hillis (1959)**. Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupe aldéhydique de la vanilline sur le carbone en position 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore de couleur rouge. Le réactif de la vanilline a été préparé par solubilisation de 1 g de la vanilline dans 100 ml d'acide sulfurique (70%). 2 ml de ce réactif sont mélangés avec 1 ml d'extrait. Après incubation à 50°C pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 500 nm. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent catéchine par 100 g de matière sèche à partir de la droite d'étalonnage (annexe).

IV- Etude de l'activité antioxydante

IV-1- Pouvoir réducteur

L'analyse du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure- Fe^{3+} en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence d'antioxydants réducteurs (**Bijoy et al., 2008**). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Gülçin et al., 2003**).

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de **Yildirim et al., (2001)** ; 1 ml d'extrait est additionné à 2.5 ml de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 min, 2.5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange. Après centrifugation à 3000g pendant 10 min, 2.5 ml du surnageant sont mélangés avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm. Les résultats sont exprimés en absorbances.

IV-2-Capacité antioxydante totale

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate /Mo (V) de couleur verte (**Prieto et al., 1999**).

Une aliquote de 0.1 ml d'extrait est combinée à 1 ml de solution composée d'acide sulfurique (0.6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 mn. Après un repos de 6 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Les résultats sont exprimés en absorbances.

IV-3-Activité « scavenger » du radical DPPH

Le DPPH \cdot (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH \cdot est réduit en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picryl hydrazine) de coloration jaune-verte par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Fadili et al., 2017**).

L'effet « scavenger » du DPPH est déterminé par la méthode de **Kroyer et Hegedus, (2001)** ; 300 µl d'extrait sont ajoutés à 2700 µl de DPPH (60 µM). L'absorbance a été lue à 517 nm après 1 heure d'incubation à l'obscurité. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est exprimé par la formule suivante:

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (300 µl méthanol + 2700 µl DPPH);

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'extrait (300 µl extrait + 2700 µl DPPH).

IV-4-Activité « scavenger » du radical ABTS

La méthode qui détermine l'activité « scavenger » du radical ABTS est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS^{•+} (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleue verte en le transformant en ABTS-H⁺ incolore, par un don d'hydrogène (**Antolovich et al., 2002**). La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

L'activité antioxydante des extraits a été déterminée selon la méthode de **Re et al. (1999)**. La solution ABTS a été préparée avec un mélange de la solution ABTS (7 mM) et la solution de persulfate de potassium (2.4 mM). La solution a été diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance 0.70 ± 0.02 à 734 nm. Un volume de 100 µL d'extrait est additionné à 1 ml de la solution d'ABTS. L'absorbance est mesurée à 734 nm après 6 min d'incubation. Le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS^{•+} est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (ABTS^{•+});

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'extrait (extrait + ABTS^{•+}).

V- Etude statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. L'analyse statistique des résultats est effectuée avec le test ANOVA (STATISTICA 5.5) et la comparaison des données est prise à la probabilité $P < 0.05$.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

La présente étude a été consacrée à étudier l'effet de quelques conditions d'extraction (le diamètre de la poudre, la nature et la concentration du solvant d'extraction, et le rapport solide-liquide) sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de *Spergularia rubra L.*

Afin d'étudier l'activité antioxydante de *Spergularia rubra L.*, quatre méthodes différentes ont été testées à savoir : activité réductrice du molybdate, pouvoir réducteur du fer, activité «scavenger» du radical DPPH, et activité «scavenger» du radical ABTS.

I-Teneur en antioxydants

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols, par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Mahmoudi et al., 2012).

I-1-Effet du diamètre de la poudre

Pour étudier l'effet du diamètre de la poudre sur la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et en tanins de *Spergularia rubra*, trois diamètres ont été testés à savoir : 125, 250 et 500 μ m.

I-1-1- Polyphénols totaux

L'étude statistique montre que les teneurs en polyphénols totaux (PT) de la plante *Spergularia rubra* sont significativement affectées par le diamètre de la poudre utilisé ($p < 0,05$) ; la meilleure teneur est obtenue avec le diamètre 250 μ m avec une teneur de 1.91 g EAG /100g MS. Les teneurs les plus faibles sont obtenues avec les diamètres 125 et 500 μ m avec des teneurs de 1.84 et 1.82 g EAG /100g MS, respectivement (figure 4). Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que pour les extraits issus du diamètre de 125 μ m les particules de poudres sont fines ce qui provoque un tassement et empêche la diffusion du solvant à travers les particules de poudre (Bucic'-Kojic'et al., 2007), pour l'extrait issu du diamètre de 500 μ m les particules de poudres sont volumineuses ce qui réduit la surface d'échange et ainsi la pénétration du solvant d'extraction (D'Alessandro, 2013).

Il ressort de ces résultats que les diamètres des particules de poudre de *Spergularia rubra* ont une incidence significative sur la teneur en polyphénols totaux de cette plante.

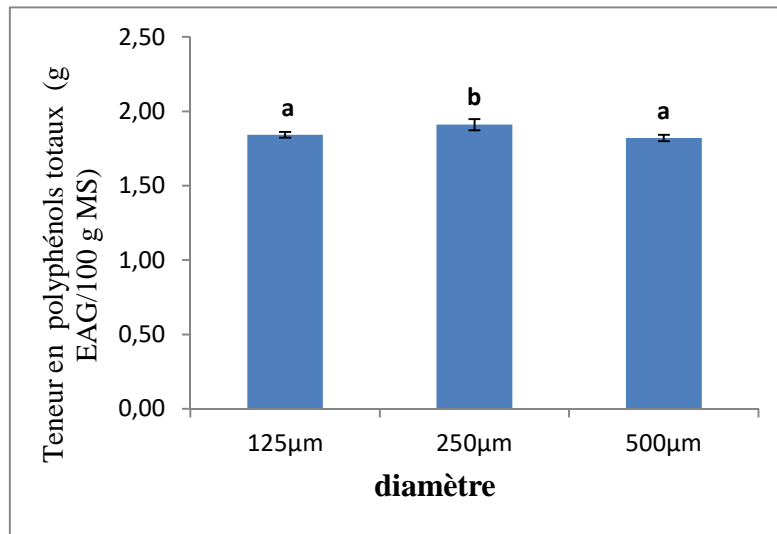


Figure 4 : Effet du diamètre de la poudre sur la teneur en polyphénols totaux de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

I-1-2- Flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux (FT) des extraits obtenus en utilisant différents diamètres sont représentés dans la figure suivante :

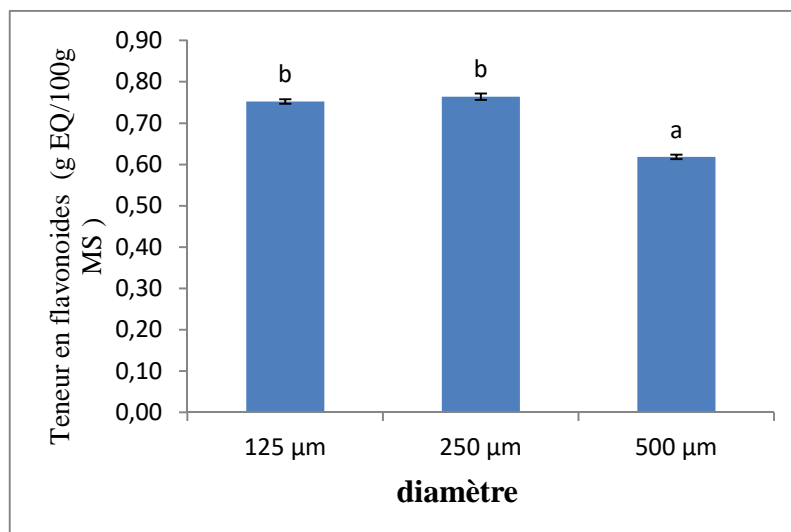


Figure 5 : Effet du diamètre de la poudre sur la teneur en flavonoïdes de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

L'étude statistique montre que les teneurs en FT de *Spergularia rubra* sont significativement affectées par le diamètre de la poudre de la plante ($p < 0,05$). Les meilleurs teneurs sont obtenues avec les diamètres 250 et 125 μm avec des valeurs de 0.76 et 0.75 g EQ /100g MS, respectivement. La plus faible teneur est obtenue avec le diamètre 500 μm avec une valeur de 0.62 g EQ /100g MS.

I-1-3- Tanins condensés

L'étude statistique montre que les teneurs en tanins condensés (TC) de *Spergularia rubra* sont significativement différentes selon le diamètre testé ($p < 0,05$) (figure 6). La meilleure teneur en TC a été obtenue avec l'extrait du diamètre de 250 μm avec une valeur de 0.75 g EC/100 g MS, en revanche les plus faibles teneurs en tanins condensés ont été obtenues avec les extraits des diamètres de 125 et 500 μm avec des teneurs de 0.43, 0.41 g EC/100 g MS, respectivement.

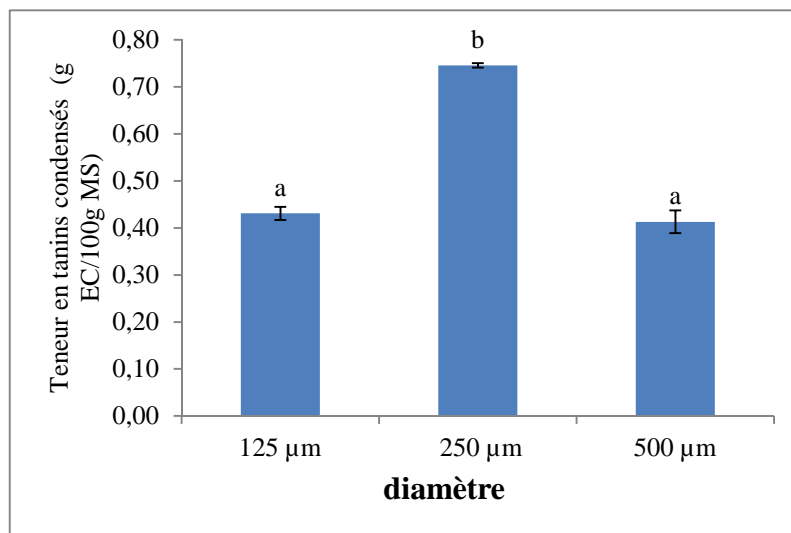


Figure 6: Effet du diamètre de la poudre sur la teneur en tanins condensés de *Spergularia rubra* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Ces résultats s'expliquent par le fait que la réduction de la taille des particules augmente la surface d'échange et ainsi la vitesse d'extraction. La diffusion interne est aussi plus rapide dans le cas des particules fines. Cependant les particules de taille très fines posent des problèmes technologiques comme par exemple un tassement du lit des solides provoquant une diminution de la perméabilité au solvant. Ce principe a été confirmé par (Gbohaïda *et al.*, 2015) dans l'évaluation de l'influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpuserinaceus*.

I-2-Effet du solvant d'extraction

Pour l'étude de l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et en tanins, quatre solvants d'extraction de polarités différentes ont été utilisés (eau distillée, acétone 50%, méthanol 50% et éthanol 50%).

I-2-1- Polyphénols totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux des extraits obtenus en utilisant différents solvants d'extraction, sont représentés dans la figure 7.

L'étude statistique a montré une différence significative entre les teneurs en composés phénoliques selon la nature du solvant utilisé ($p < 0,05$). En revanche aucune différence significative n'a été notée entre l'extrait aqueux, méthanolique aqueux et éthanolique aqueux. La teneur la plus élevée (2.19 g EAG /100 g MS) a été obtenue avec l'extrait acétonique aqueux, suivi de l'extrait éthanolique aqueux et méthanolique aqueux, avec des teneurs de 1.91, 1.91 et 1.76 g EAG /100 g MS, respectivement.

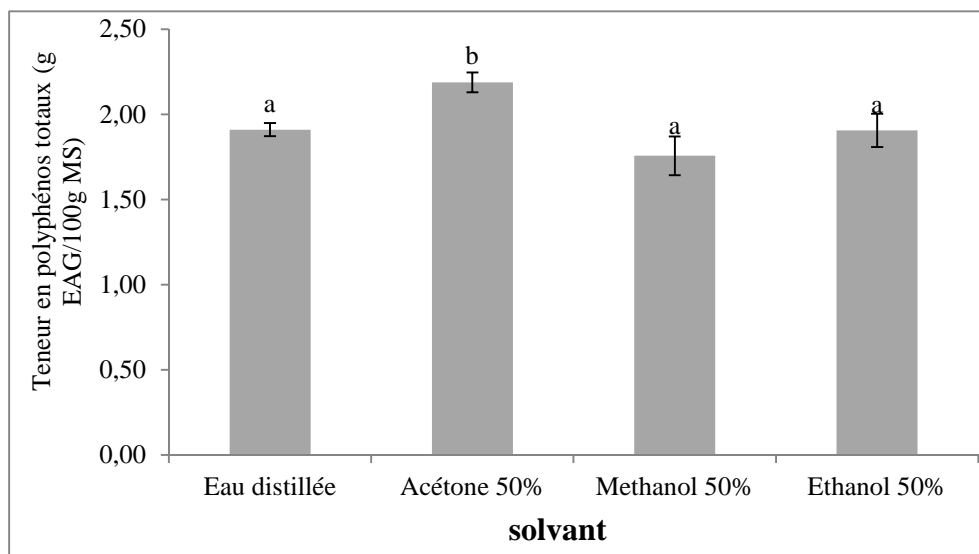


Figure 7 : Effet du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les résultats obtenus révèlent une influence significative du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols de *Spergularia rubra L.*, ce qui indique que la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé et justifie ainsi leurs extractibilité par divers solvants d'extraction, ce qui est confirmé d'après (Telli et al., 2010 ; Bettaieb et al., 2016)

I-2-2- Flavonoïdes

Les résultats de cette étude ont montré une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes selon la nature du solvant utilisé (figure 8) ($p < 0,05$). Les teneurs les plus élevées sont de 1.05 et 1.06 g EQ /100 g MS, ont été obtenues avec l'extrait acétonique aqueux et méthanolique aqueux, respectivement, suivi de l'extrait éthanolique aqueux, avec une teneur de 1.02 g EQ /100 g MS. La plus faible teneur en flavonoïdes a été obtenue avec l'extrait aqueux avec une teneur de 0.76 g EQ /100 g MS.

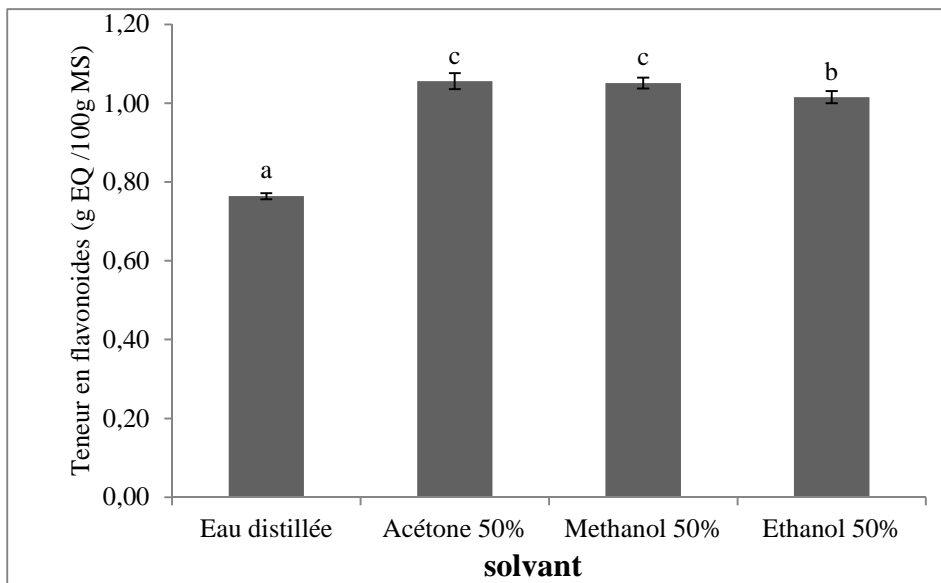


Figure 8: Effet du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes de *Spergularia rubra L*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les résultats obtenus révèlent une influence significative du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes de *Spergularia rubra L*. La faible teneur en flavonoïdes obtenue avec l'extrait aqueux peut s'expliquer par la présence d'impuretés (acide organiques, glucides, protéines solubles) (Vinhole et al., 2011) qui peuvent interférer dans le dosage de flavonoïdes. Chirinos et al. (2007) ont démontré que l'utilisation de l'eau pure comme solvant d'extraction mène à un extrait avec une teneur élevée en impuretés. Les teneurs élevées obtenues dans les extraits aqueux acétoniques, méthanolique et éthanolique, suggèrent que les flavonoïdes sont plus solubles dans les solvants mixtes que le solvant aqueux.

I-2-3-Tanins condensés

Les résultats du dosage des tanins condensés ont montré une différence significative entre les teneurs en tanins condensés selon la nature du solvant utilisé ($p < 0,05$) (figure 9). L'extrait acétonique a présenté la teneur la plus élevée avec une valeur de 1.41 g EC /100 g MS, suivi par les extraits éthanolique et aqueux avec des teneurs de 0.81 et 0.75 g EC /100 g MS, respectivement. La teneur la plus faible a été obtenue avec l'extrait méthanolique, avec une teneur de 0.67 g EC/100 g MS.

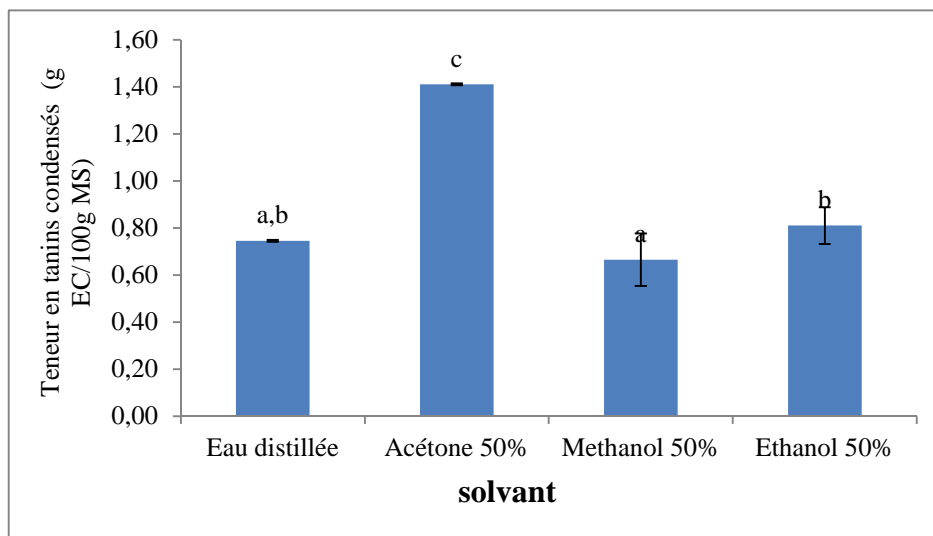


Figure 9: Effet du solvant d'extraction sur la teneur en tanins condensés de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les résultats obtenus révèlent que le meilleur solvant pour l'extraction des tanins condensés est l'acétone, ce qui peut s'interpréter par le fait que les tanins condensés de la spergulaire sont plus solubles dans l'acétone. Plusieurs études ont montré que l'acétone est le meilleur solvant pour l'extraction des proanthocyanidines et des tanins (Chirinos et al., 2007). Ce qui confirme les résultats de la présente étude.

I-3-Effet de la concentration du solvant d'extraction

Pour l'étude de l'effet de la concentration du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, quatre concentrations différentes du meilleur solvant d'extraction retenu précédemment qui est l'acétone sont utilisées (acétone 30%, acétone 50%, acétone 70% et acétone 100%).

I-3-1- Polyphénols totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques ont montré une différence significative entre les différents extraits selon la concentration du solvant testé ($p < 0,05$) (figure 10). Les teneurs en PT les plus élevées étant obtenues avec l'acétone 70% avec une teneur de 2.50 g EAG /100 g, suivi par les extraits acétoniques à 30% et 50%, avec des teneurs de 2.3 et 2,19 g EAG /100 g, respectivement, en revanche la plus faible teneur qui est de 0.12 g EAG /100 g est obtenue avec l'acétone pur.

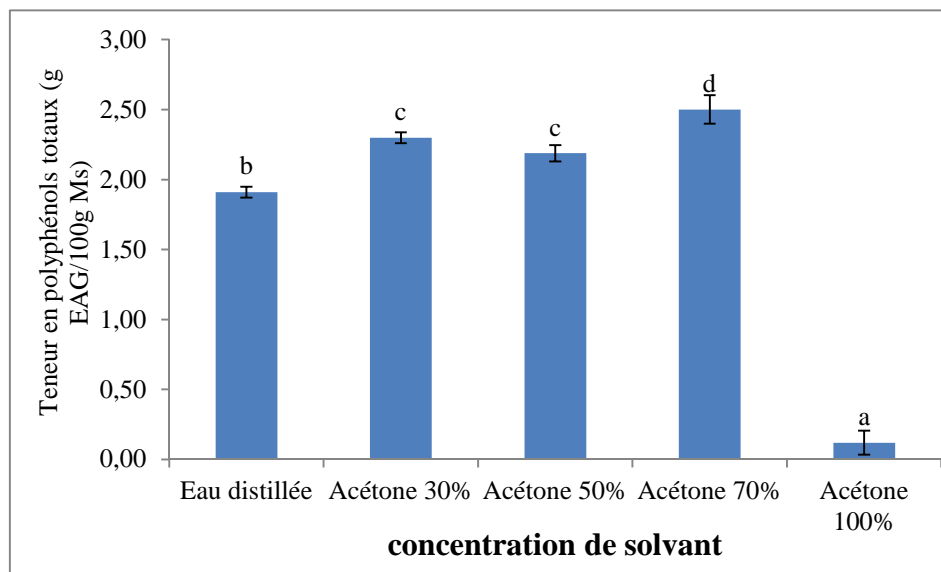


Figure 10 : Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

La faible teneur en composés phénoliques obtenue avec le solvant pur, pourrait s'expliquer par la faible solubilité des constituants de *Spergularia rubra* dans les solvants purs, indiquant que la plante contiendrait plus de substances polaires qu'apolaires.

Les solvants mixtes sont particulièrement plus efficaces et présentent de meilleurs teneurs en polyphénols que les solvants purs ou aqueux (**Bourgou et al., 2016**), ce qui est confirmé dans ce travail

Les combinaisons de solvants tels que l'acétone avec l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques glycosylés. Il a été rapporté dans la littérature que *Spergularia rubra* est une plante riche en composés phénoliques (**Bouillant et al., 1978; Vinholes et al., 2011**). Ce qui confirme les résultats obtenus dans la présente étude.

I-3-2-Flavonoïdes

L'étude statistique a montré une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes selon la concentration du solvant utilisé ($p < 0,05$) (figure 11). La teneur la plus élevée est de 1.29 g EQ /100 g MS a été obtenue avec l'extrait acétonique à 70% suivi par les extraits acétonique à 50% et 30% et l'extrait aqueux avec des teneurs de 1.07, 0.95, 0.76 g EQ /100 g MS, respectivement. La plus faible teneur en FT a été obtenue avec l'extrait acétonique à 100% avec une teneur de 0.40 g EQ /100 g MS ($p < 0,05$).

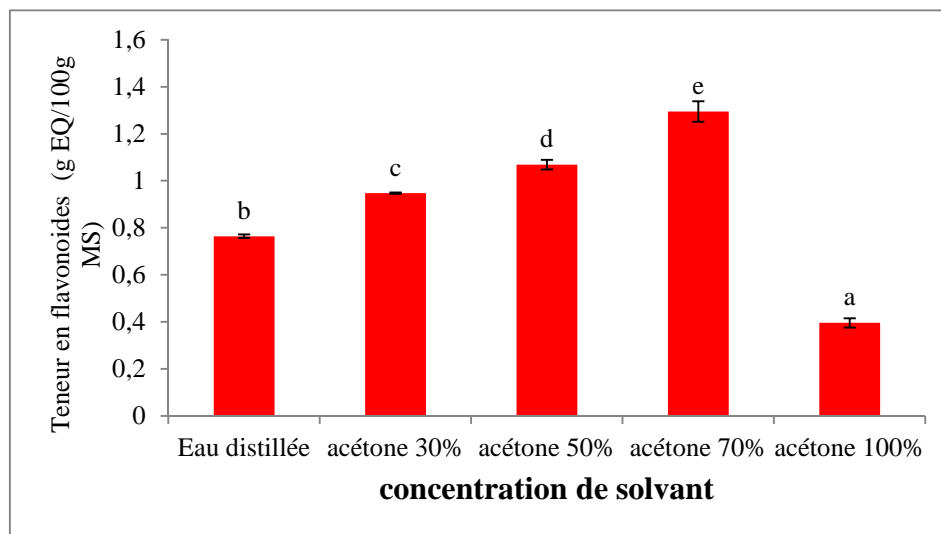


Figure 11: Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la teneur en flavonoïdes de *Spermoglossa rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Il ressort de ce qui précède que la concentration du solvant d'extraction exerce une influence évidente sur la teneur en flavonoïdes de la spergulaire. Comme précédemment rapporté les solvants mixtes sont particulièrement plus efficaces dans l'extraction des composés phénoliques cela est due au fait que l'eau est responsable du gonflement de la matière végétale et le solvant est impliqué dans la rupture des liaisons entre les solutés et la matrice végétale permettant ainsi une meilleur extraction des composés phénoliques d'où la double action résultante de l'utilisation de solvants mixtes, et de ce fait ils permettent l'obtention de meilleurs teneurs en composés phénoliques et en l'occurrence en flavonoïdes dans ce cas (Cujic et al., 2016).

I-3-3- Tanins condensés

L'étude statistique a montré une différence significative dans la teneur en tanins condensés suivant la nature du solvant utilisé ($p < 0,05$) (figure 12). La teneur la plus élevée est de 1.42 g EC /100 g MS est obtenue avec l'extrait acétonique dilué à 70% et à 30% et l'extrait acétonique pur, suivi par l'extrait acétonique à 50% avec une teneur de 1.41 g EC /100 g. La plus faible teneur en flavonoïdes a été obtenue avec l'extrait aqueux avec une teneur de 0.75 g EC /100 g MS.

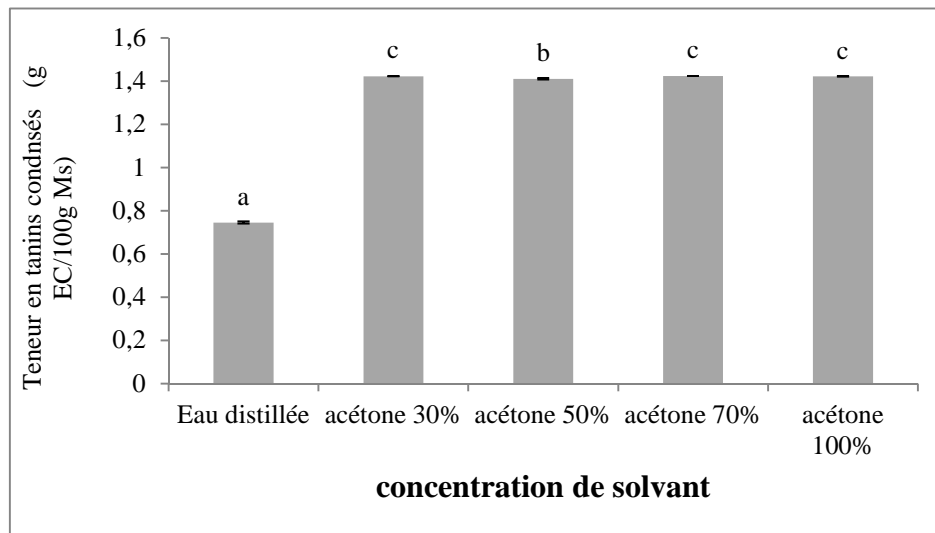


Figure 12 : Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la teneur en tanins condensés de *Spargularia rubra* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les résultats obtenus montrent que l'acétone permet d'obtenir les meilleurs teneurs en tanins condensés que le solvant aqueux ce qui suggère que les tanins sont plus apolaires que polaires, cependant aucune différence significative n'est observée entre les différentes concentrations d'acétone en terme de teneur en tanins condensés.

I-4-Effet du rapport solide –liquide

Pour l'étude de l'effet du rapport solide-liquide sur la teneur en polyphénols quatre rapports solide-liquide ont été utilisés (0.1 g /20 ml, 0.2 g /20 ml, 0.4 g /20 ml et 0.6 g /20 ml), en utilisant comme solvant d'extraction l'acétone à 70%

I-4-1-Polyphénols totaux

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative entre les teneurs en polyphénols totaux selon le rapport 0.6 g /20 ml et les rapports 0.1 g /20 ml, 0.2 g/20 ml et 0.4 g /20 ml ($p < 0,05$) (figure 13). La meilleur teneur a été obtenue avec le rapport 0.2 g /20 ml avec une teneur de 2.50 g EAG/100 g, suivi des rapports 0.4 g /20 ml avec une teneur de 2.33 g EAG/100 g, en revanche la teneur la plus faible qui est de 2.05 g EAG/100 g est obtenue avec le rapport 0.6 g /20 ml. Ces résultats indiquent que le rapport solide/liquide de 0.2 g /20 ml est celui qui a permis d'obtenir la meilleure teneur en PT, au-delà de ce rapport, les teneurs diminuent. Un résultat similaire est obtenu par **Telli et al. (2010)** dans une étude réalisée sur *Phoenix dactylifera L.*

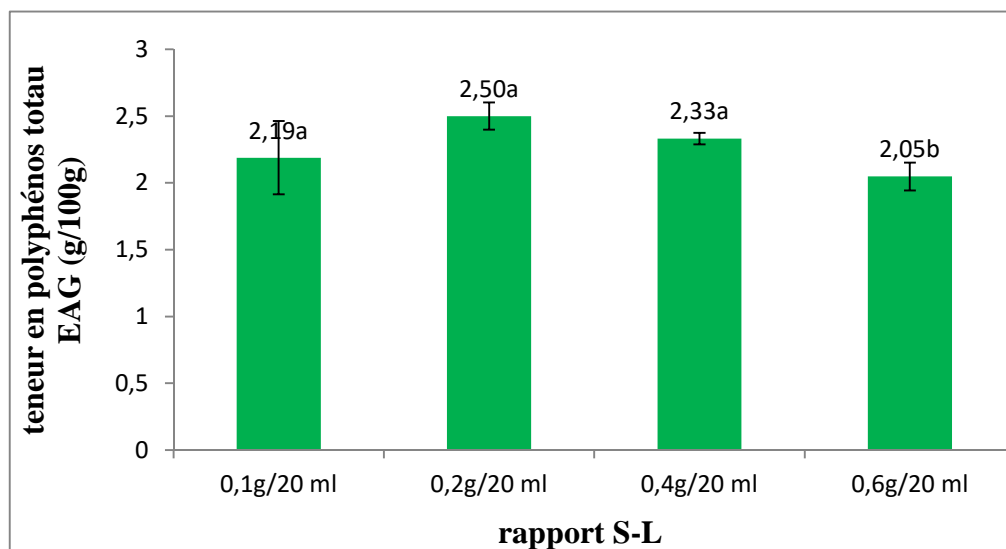


Figure 13: Effet du rapport solide-liquide sur la teneur en polyphénols totaux de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les résultats obtenus rapportent une influence significative du rapport solide-liquide sur la teneur en polyphénols totaux. Des auteurs dans la littérature rapportent une corrélation positive entre la teneur en polyphénols totaux et l'augmentation du rapport solide-liquide (**Cujic et al., 2016**).

Le rapport 0.2 g /20 ml est le rapport qui a donné la teneur optimale en polyphénols totaux PT, ce qui pourrait s'expliquer par une meilleure diffusion du solvant d'extraction entre les particules de la poudre en raison de l'absence de sursaturation de la matière végétale.

I-4-2-Flavonoïdes

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative entre les teneurs en FT selon le rapport S-L étudié ($p < 0,05$) (figure 14). La meilleur teneur a été obtenue avec le rapport 0.2 g /20 ml avec une teneur de 1.29 g EQ/100 g, suivi de rapport 0.1 g / 20 ml avec une teneur de 1.21 g EQ /100 g, alors que les teneurs les plus faibles qui sont de 1.06 et 1.01 g EQ /100 g sont obtenues avec le rapport 0.4 et 0.6 g /20 ml, respectivement.

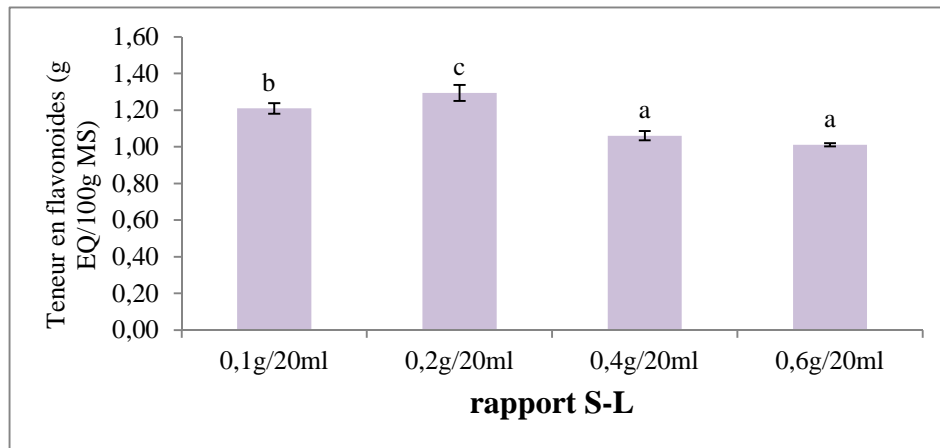


Figure 14: Effet du rapport solide-liquide sur la teneur en flavonoïdes de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

I-4-3-Tanins condensés

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative entre les teneurs en tanins condensés selon le rapport solide liquide testée ($p < 0,05$) (figure 15).

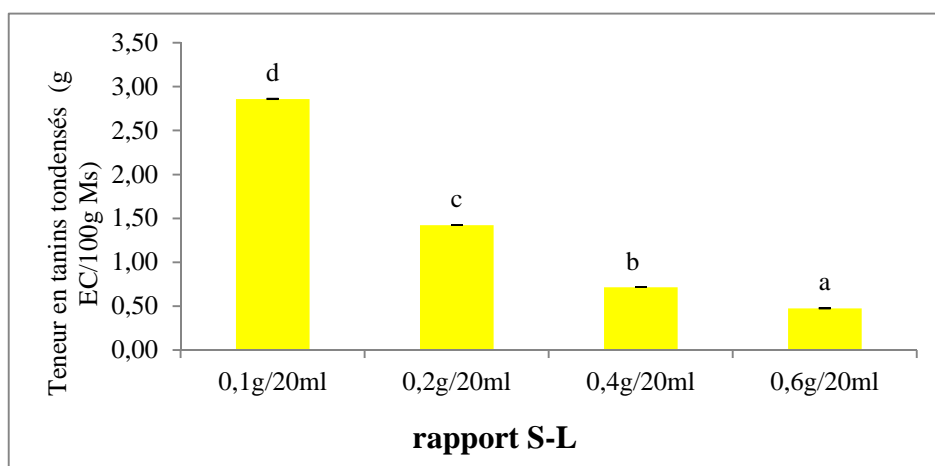


Figure 15: Effet du rapport solide-liquide sur la teneur en tanins condensés de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

La meilleure teneur en tanins condensés a été obtenue avec le rapport 0.1 g /20 ml avec une teneur de 2.86 g EC /100 g, tandis que la teneur la plus faible qui est de 0.48 g EC /100 g a été obtenue avec le rapport 0.6 g/20 ml. Ces résultats indiquent que le rapport solide/liquide de 0.1 g/ 20 ml est celui qui a permis d'obtenir la meilleure teneur en TC, au-delà de ce rapport, les teneurs diminuent.

Ces diminutions de teneurs en tanins condensés s'expliquent par le fait que l'hydratation de la poudre de la plante par le solvant d'extraction provoque un important gonflement de la matrice végétale. Par conséquent, si le volume de solvant n'est pas suffisant par rapport à la quantité de poudre de la plante durant l'extraction, la mise en contact entre le solide et le liquide peut ne pas être optimale et les rendements d'extraction seront faibles. A l'inverse, si le volume du solvant est trop important, la concentration en molécules d'intérêt dans l'extraction obtenue sera faible (Pradal, 2016).

II-Etude de l'activité antioxydante

II-1-Effet du diamètre de la poudre

Pour étudier l'effet du diamètre de la poudre sur l'activité antioxydante de *Spergularia rubra*, trois différents diamètres ont été testés (125, 250 et 500 μm).

II-1-1-Pouvoir réducteur

Les résultats de l'activité réductrice du fer de *Spergularia rubra* sont significativement affectés par le diamètre de la poudre testés ($p < 0,05$) (figure 16).

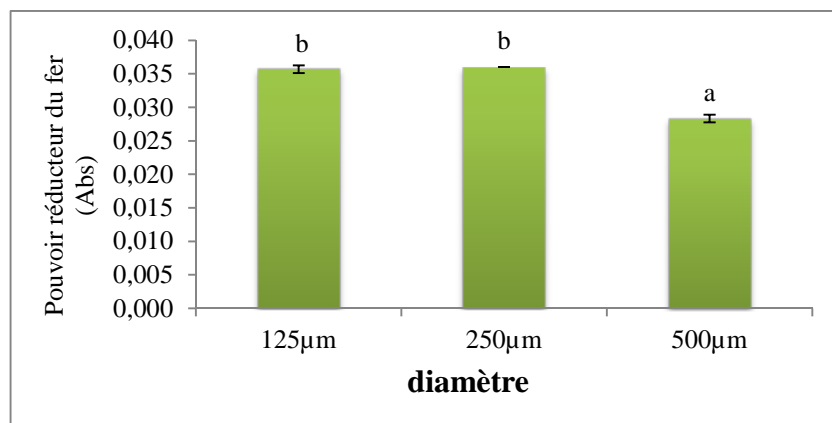


Figure 16: Effet du diamètre de la poudre sur le pouvoir réducteur de *Spergularia rubra*
L. Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les meilleures absorbances ont été obtenues avec les extraits du diamètre de 250 μm et 125 μm avec une absorbance de 0.036, alors que la plus faible absorbance a été obtenue avec l'extrait de 500 μm du diamètre avec une absorbance de 0.028.

La différence des résultats observés entre les extraits de différents diamètres peut s'expliquer par la différence entre les teneurs en FT de ces extraits, ce qui a été également rapporté par une étude effectuée sur l'AAO de *Spergularia Marina L* (Miri et al., 2016).

II-1-2-Activité « scavenger » du radical DPPH

L'étude a montré que la capacité de neutralisation du radical DPPH de *Spergularia rubra* est significativement affectée par le diamètre testé ($p < 0,05$) (figure 17).

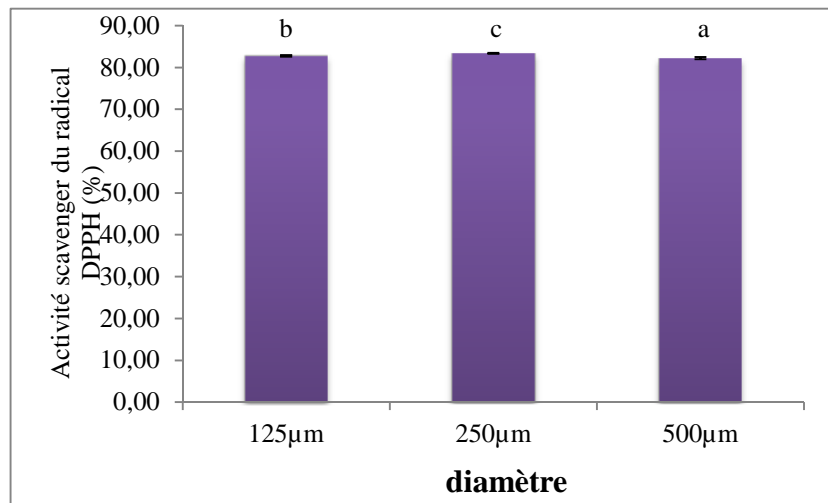


Figure 17 : Effet du diamètre de la poudre sur l'activité scavenger du radical DPPH de *Spergularia rubra L*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Le meilleur pourcentage d'inhibition du radical DPPH (83.38%) a été obtenu avec l'extrait du diamètre de 250 µm, tandis que le plus faible pourcentage d'inhibition (82.20%) a été obtenu avec l'extrait du diamètre de 500 µm.

Il ressort de ces résultats que l'activité de piégeage du radical DPPH est influencée par le diamètre des particules de la poudre de *spergularia rubra*. Ces résultats peuvent être assimilés au fait que l'extrait issu du diamètre de 250 µm soit l'extrait le plus riche en polyphénols, flavonoïdes et en tanins condensés selon les résultats du dosage obtenus précédemment, ce qui a également été confirmé par **Bentabet et al. (2014)**.

II-1- 3-Capacité antioxydante totale

L'étude statistique montre que la capacité antioxydante totale de *Spergularia rubra* n'est pas significativement affectée par le diamètre de la poudre de la plante (figure 18). Les absorbances obtenues varient entre 0.047 et 0.058.

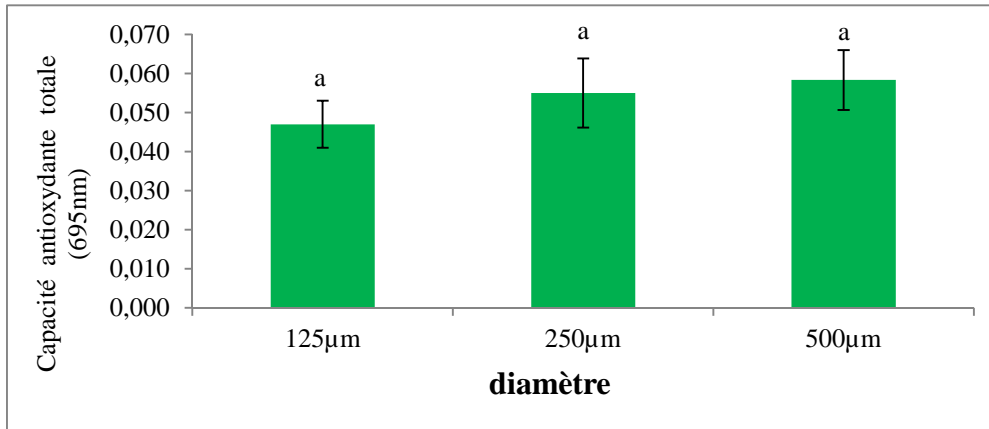


Figure18 : Effet du diamètre de la poudre sur la capacité antioxydante totale de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

II-1-4-Activité « scavenger » du radical ABTS

L'analyse des résultats de la capacité de neutralisation du radical ABTS de *Spergularia rubra* n'a révélé aucune différence significative entre les extraits obtenus en utilisant différents diamètres (figure 19). Les pourcentages d'inhibition obtenus varient entre 83.23 et 88.32%.

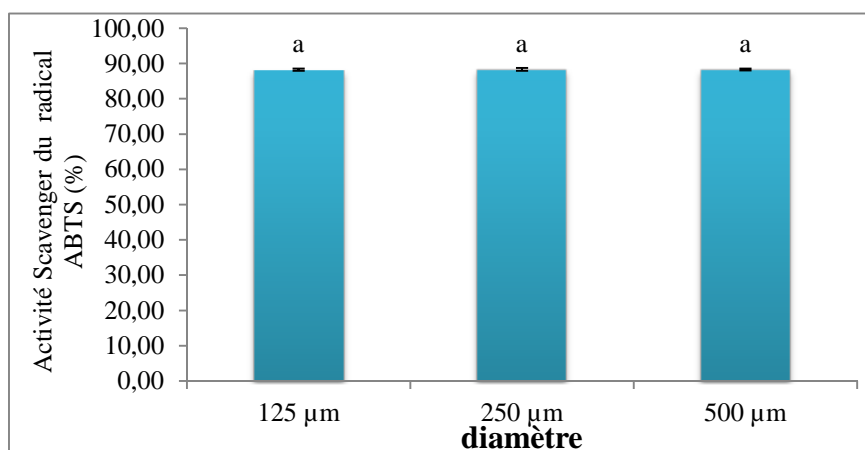


Figure 19 : Effet du diamètre de la poudre sur l'activité scavenger du radical ABTS de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Il ressort de ces résultats que tous les extraits de *Spergularia rubra* possèdent un puissant pouvoir anti-radicalaire vis à vis du radical ABTS.

Dans la présente étude, la granulométrie de la matière sèche ne possède aucune influence sur l'activité scavenger du radical ABTS.

II-2-Effet du solvant d'extraction

Afin d'étudier l'effet de solvant d'extraction sur l'activité antioxydante de *Spergularia rubra L.*, quatre solvants de différentes polarité ont été utilisés à savoir l'eau distillée, le méthanol 50%, l'éthanol 50%, et l'acétone 50%.

II-2-1-Pouvoir réducteur

Les résultats de cette étude montrent que le meilleur pouvoir réducteur de *Spergularia rubra* a été trouvé avec l'extrait acétonique à 50% avec une absorbance de 0.16, suivi de l'extrait méthanolique à 50% avec une absorbance de 0.10. La plus faible absorbance a été obtenue avec l'extrait aqueux et éthanolique avec une absorbance de 0.04. Ces valeurs présentent des différences significatives selon le type du solvant d'extraction ($p < 0,05$) (figure 20).

Les résultats obtenus montrent l'influence évidente du solvant d'extraction sur le pouvoir réducteur de *Spergularia rubra*, en effet l'extrait acétonique enregistre la meilleur absorbance. **Turkmen et al. (2006)** ont rapporté que l'acétone 50% est le solvant qui a donné la meilleure activité antioxydante du thé noir. Ce qui concorde avec les données de cette étude

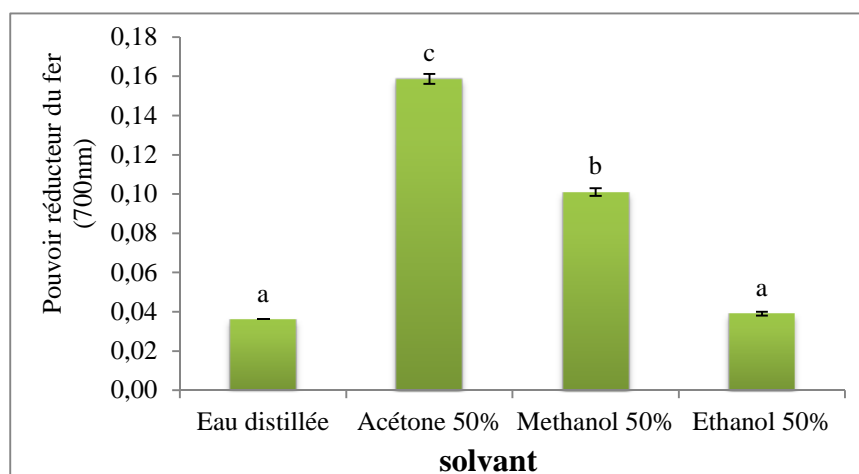


Figure 20 : Effet du solvant d'extraction sur le pouvoir réducteur de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

II-2-2-Activité « scavenger » du radical DPPH

L'étude statistique montre que la capacité de neutralisation du radical DPPH de *Spergularia rubra* n'est pas significativement affectée par type du solvant d'extraction ($p < 0,05$) (figure 21).

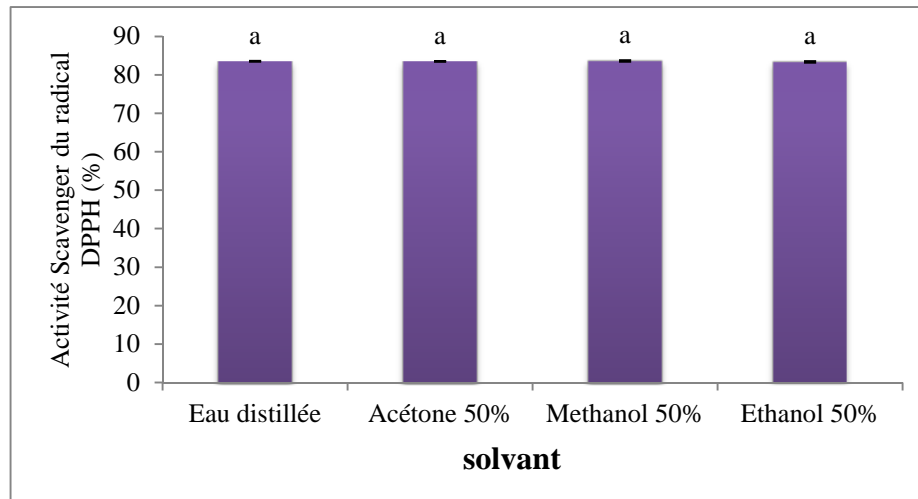


Figure 21 : Effet du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical DPPH de *Spergularia rubra* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les pourcentages d'inhibition des extraits de *spergularia rubra* ont une capacité de piégeage du radical DPPH assez élevée, variant entre 83.38 et 83.61%.

Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas d'influence de solvant sur l'activité anti-radicalaire du DPPH par les différents extraits de la plante, cependant des résultats différents sont rapportés dans la littérature; selon **Rocha-Guzman et al. (2007)** l'acétone montre une activité anti-radicalaire meilleure que celle du méthanol.

II-2- 3-Capacité antioxydante totale

L'étude statistique montre que les extraits préparés par le méthanol 50%, l'acétone 50% et l'éthanol 50%, présentent d'une façon significative les meilleures Capacité antioxydante totale de *Spergularia rubra*, avec des absorbances de 0.242, 0.240 et 0.226, respectivement, et ne présentent aucune différence significative entre eux ($p < 0,05$). En revanche la capacité antioxydante totale la plus faible a été obtenue avec l'extrait aqueux avec une absorbance de 0.055 (figure 22).

L'étude menée par **Leccese et al. (2011)** sur le fruit d'abricot, n'a montré aucun effet du solvant d'extraction sur la capacité antioxydante totale. Ce qui est en accord avec les résultats de ce travail.

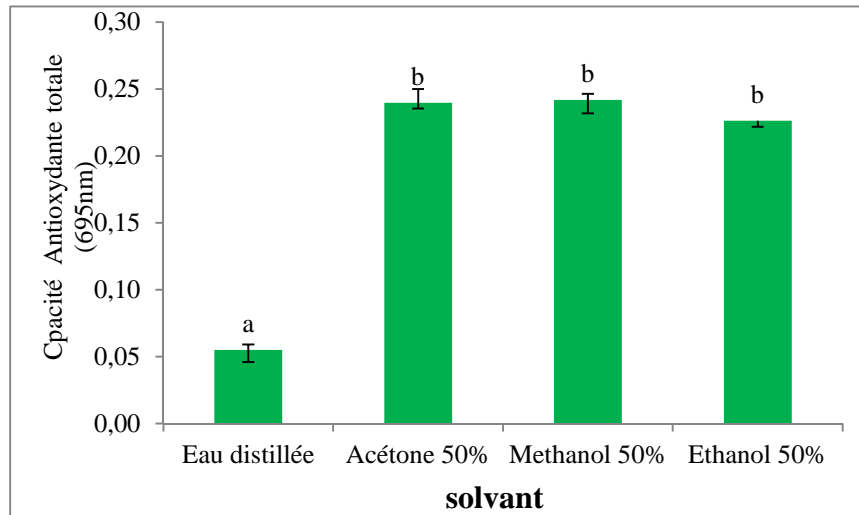


Figure 22 : Effet du solvant d'extraction sur la capacité antioxydante totale de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

II-2-4-Activité « scavenger » du radical ABTS

Les résultats de la capacité de neutralisation du radical ABTS de *Spergularia Rubra* obtenus montrent que l'activité scavenger du radical ABTS est influencée par la nature du solvant utilisé ($p < 0,05$) (figure 23).

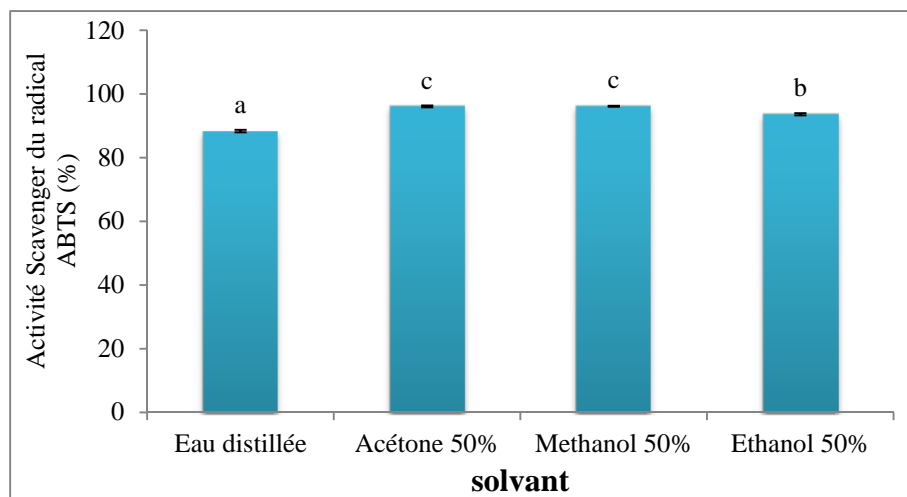


Figure 23 : Effet du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical ABTS de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les meilleurs pourcentages d'inhibition 96.10 et 96.08%, sont obtenus avec l'extrait méthanolique à 50% et l'extrait acétonique à 50%, respectivement. La plus faible activité scavenger du radical ABTS est enregistrée avec l'extrait aqueux avec un pourcentage

d'inhibition de 88.32%. Ces données montrent que les extraits de *Spergularia Rubra* possèdent une très bonne activité scavenger du radical ABTS.

Addai et al.(2013) ont démontré que l'acétone 50% et le méthanol 50% étaient les solvants qui ont donné la meilleure activité scavenger du radical ABTS. Selon **Zhang (2015)**, l'acétone, l'éthanol et le méthanol sont les solvants qui ont donné la meilleure activité scavenger du radical ABTS pour la plante *Juglans Regia L.*

II-3- Effet de la concentration du solvant

Dans la présente étude l'activité antioxydante de *Spergularia rubra L.*, a été déterminée pour tous les extraits obtenus en utilisant comme solvant d'extraction l'acétone à différentes concentration; eau distillée, acétone 30%, acétone 50%, acétone 70% et acétone 100%.

II-3-1-Pouvoir réducteur

L'étude statistique montre que le pouvoir réducteur de *Spergularia rubra* est significativement affecté par la concentration du solvant d'extraction ($p < 0,05$) (figure 24). La meilleure absorbance 0.30 a été obtenue avec l'extrait acétonique à 70%, en revanche la plus faible absorbance a été obtenue avec l'extrait aqueux avec une absorbance de 0.036.

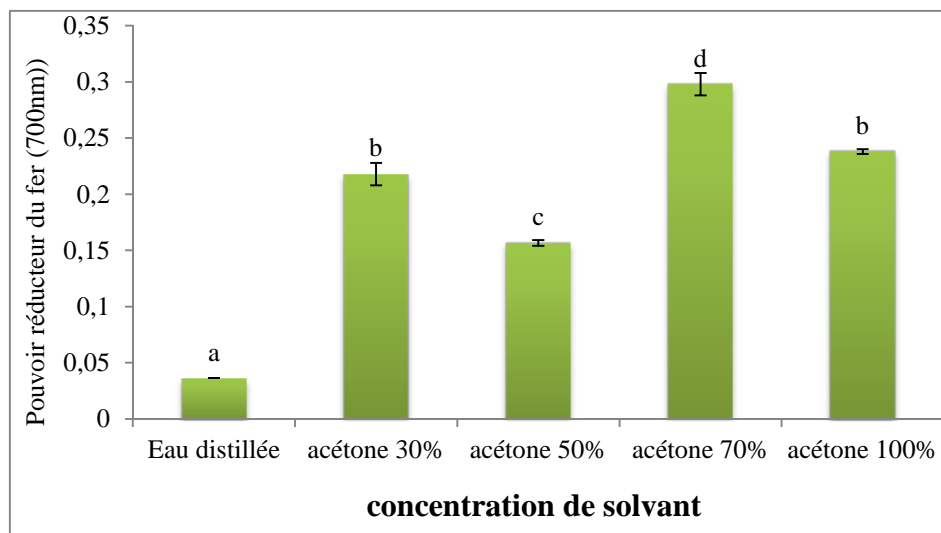


Figure 24 : Effet de la concentration du solvant d'extraction sur le pouvoir réducteur de *Spergularia rubra L.*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les résultats obtenus montrent qu'il y'a une influence significative de la concentration du solvant sur le pouvoir réducteur la plante étudiée, ce qui a été confirmé par **Turkmen et al. (2006)**.

II-3-2-Activité « scavenger » du radical DPPH

L'étude statistique montre que la capacité antioxydante du radical DPPH de la plante entière de *Spergularia rubra* est significativement affectée par la concentration du solvant d'extraction ($p < 0,05$) (la figure 25). Les meilleurs pourcentages (85.72, 85.65 %) ont été obtenus avec les extraits acétoniques à 70% et 30%, respectivement, tandis que le plus faible PI a été obtenu avec l'extrait acétonique pur avec une valeur de 80.14%.

La forte activité anti-radicalaire constatée dans les extraits acétoniques de *Spergularia rubra* par rapport à l'extrait aqueux pourrait être liée à la richesse de ces extraits en composés phénoliques. Selon **Rocha-Guzman *et al.* (2007)**, il existe une très forte corrélation entre le contenu en composé phénolique et l'activité anti-radicalaire déterminée par le test de DPPH.

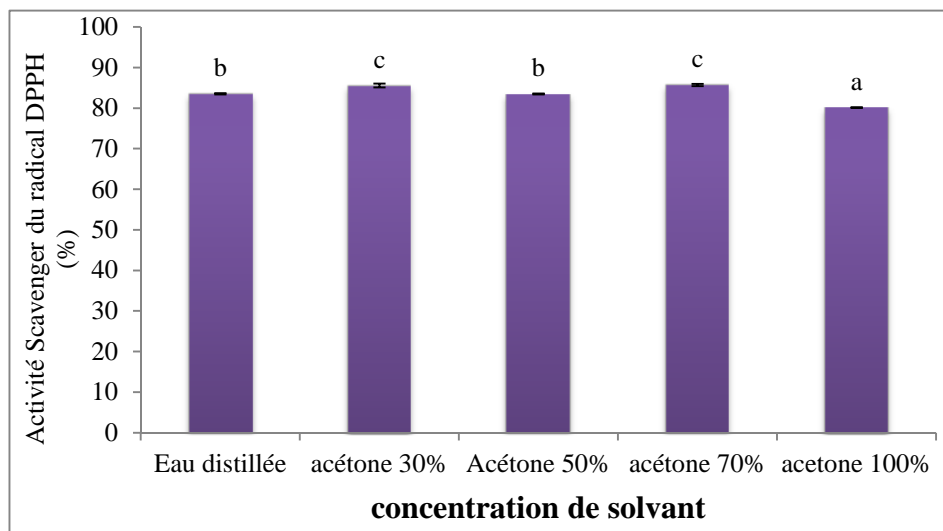


Figure 25: Effet de la concentration du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical DPPH de *Spergularia rubra* L

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

II-3- 3-Capacité antioxydante totale

Les résultats de la capacité antioxydante totale de *Spergularia rubra* obtenus révèlent que les différents extraits *Spergularia rubra* L présentent des différences significatives selon la concentration du solvant d'extraction ($p < 0,05$) (figure 26).

La meilleure capacité antioxydante totale de *Spergularia rubra* a été obtenue avec l'extrait acétonique à 50%, avec une absorbance de 0.24, alors que la plus faible absorbance 0.06 a été obtenue avec l'extrait aqueux.

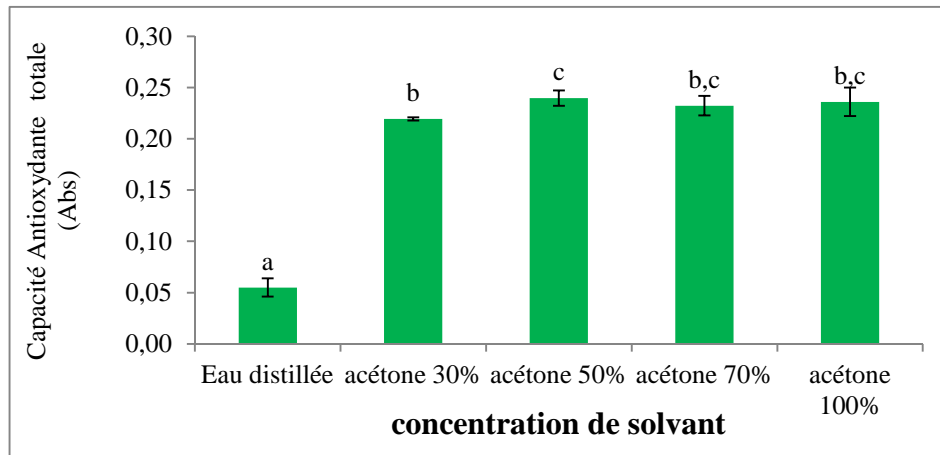


Figure 26: Effet de la concentration du solvant d'extraction sur la capacité antioxydante totale des extraits de *Spergularia rubra* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

II-3-4-Activité « scavenger » du radical ABTS

L'étude statistique montre que l'activité « scavenger » du radical ABTS de la plante entière de *Spergularia rubra* est significativement affectée par la concentration du solvant d'extraction ($p < 0,05$) (figure 27). Le meilleur pourcentage d'inhibition (96.08%) a été obtenu avec l'extrait acétonique à 50%. Cependant l'extrait acétonique pur a donné le plus faible pourcentage d'inhibition (80.08%).

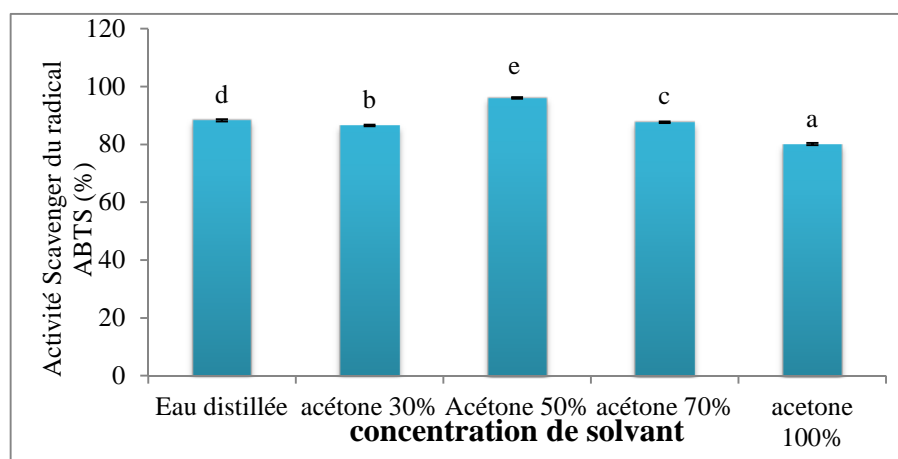


Figure 27: Effet de la concentration du solvant d'extraction sur l'activité scavenger du radical ABTS des extraits de *Spergularia rubra* L.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

L'influence de la concentration du solvant est évidente entre les différentes concentrations de solvant, ces variations peuvent être expliquées par la diversité structurale et chimique des divers métabolites impliqués dans l'activité antioxydante et leurs spécificités d'extraction selon les solvants adéquats.

II-4- Effet du rapport solide-liquide

Dans la présente étude l'activité antioxydante a été évaluée pour tous les extraits obtenus en appliquant différents rapport solide-liquide (0.1g /20 ml, 0.2 g/20 ml ,0.4 g /20 ml et 0.6g / 20ml).

II-4-1-Pouvoir réducteur

L'analyse des résultats du pouvoir réducteur de *Spergularia rubra L* révèle l'existence d'une différence significative entre les différents extraits obtenus selon le rapport solide-liquide testé ($p < 0,05$) (figure 28). Le meilleure pouvoir réducteur (0.30) a été obtenue avec le rapport 0.2 g /20 ml, alors que la plus faible activité (0.04) a été obtenue avec le rapport 0.6 g/20 ml.

Ces résultats indiquent que le rapport S-L de 0.2 g /20 ml est celui qui a permis d'obtenir le meilleur le pouvoir réducteur, au-delà de ce rapport, le pouvoir réducteur diminue, ces résultats concordent avec ceux de **chaalal (2014)**.

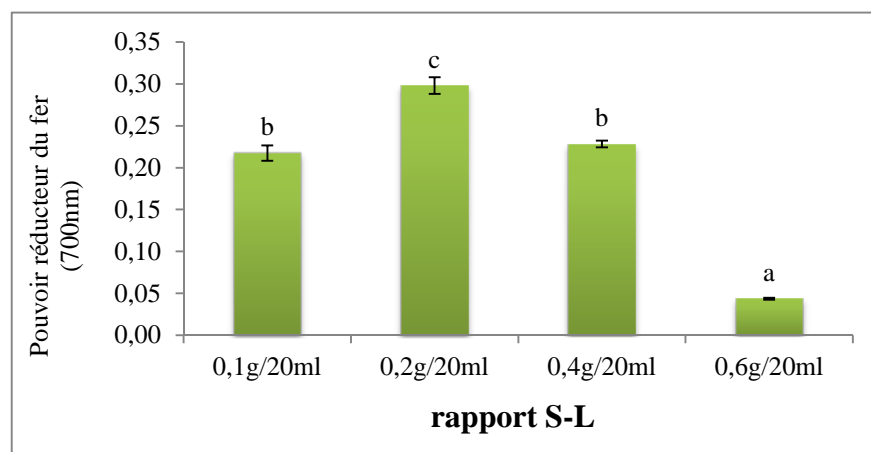


Figure 28: Effet du rapport solide-liquide sur le pouvoir réducteur de *Spergularia rubra L*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

II-4-2-Activité « scavenger » du radical DPPH

L'étude statistique de l'activité anti-radicalaire du DPPH de *Spergularia rubra L* montre qu'il existe une différence significative entre les différents extraits selon le rapport S-L testé ($p < 0,05$) (figure 29). La meilleure activité (90.03 %) a été obtenue avec le rapport 0.4g/20 ml, suivi des rapports 0.2 g/20ml (85.72%) et 0.6g/20 ml (81.86%), en revanche l'activité la plus faible (81.45%) est celle de l'extrait préparé par le rapport 0.1 mg/20ml.

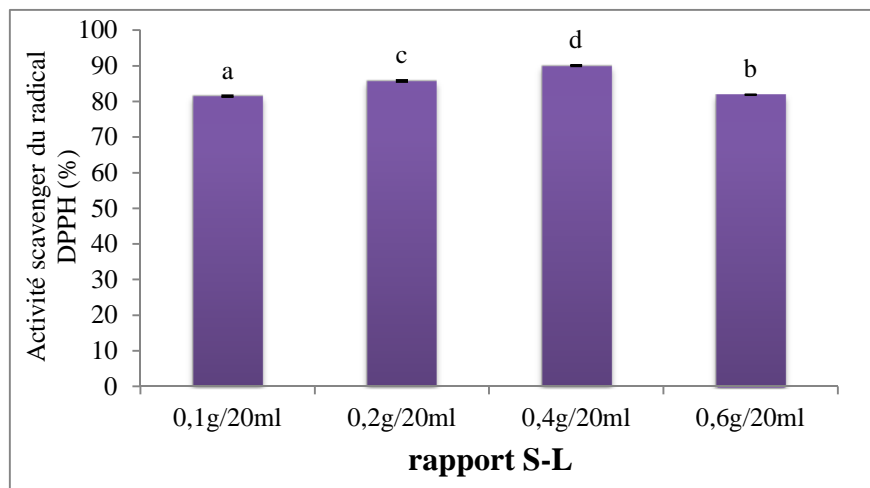


Figure 29: Effet du rapport solide-liquide sur l'activité scavenger du radical DPPH de *Spergularia rubra L*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

II-4- 3-Capacité antioxydante totale

L'étude statistique de la capacité antioxydante totale montre qu'il existe une différence significative entre les extraits des différents rapports testés ($p < 0,05$) (figure 30).

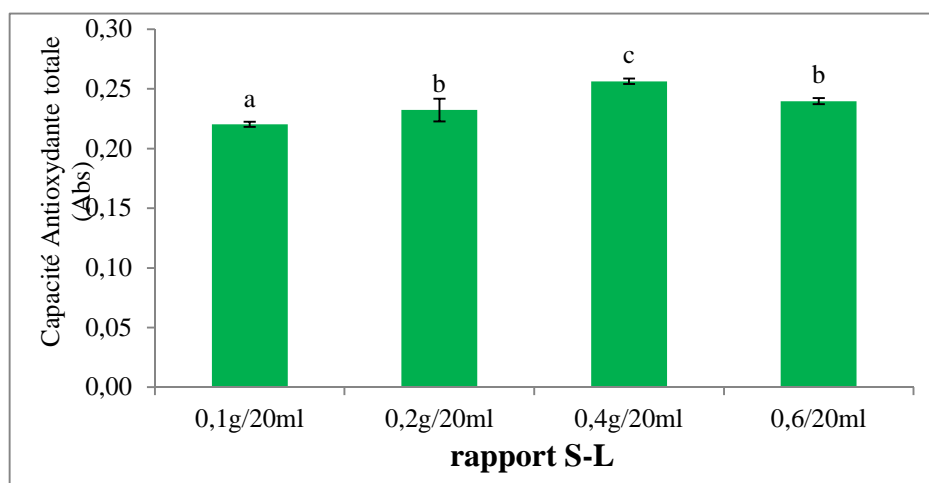


Figure 30: Effet du rapport solide-liquide sur la capacité antioxydante totale de *Spergularia rubra L*.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

La meilleure activité (0.26) a été obtenue avec le rapport 0.4 g /20 ml, en revanche l'activité la plus faible (0.22) est obtenue avec le rapport 0.1 g/20ml.

II-4-4-Activité « scavenger » du radical ABTS

L'étude statistique de l'activité antioxydante évaluée par le test d'ABTS montre qu'il existe une différence significative entre les extraits des différents rapports testés ($p < 0,05$) (figure 31). La meilleure activité (96.93%) a été obtenue avec le rapport 0.4 g /20 ml, suivi des rapports 0.6 g/20 ml (96.36%) et 0.1g/20 ml (91.90%), en revanche l'activité la plus faible (87.68%) a été obtenue avec le rapport 0.2 g/20ml.

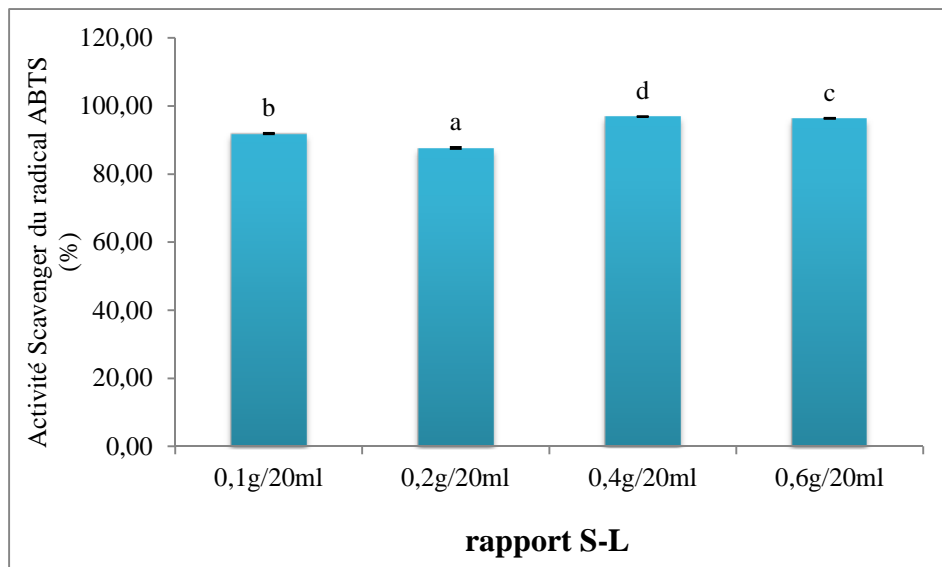


Figure 31: Effet du rapport solide-liquide sur l'activité scavenger du radical ABTS de *Spergularia rubra L*

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les composés phénoliques sont considérés comme de puissants antioxydants naturels, ce qui les rends comme les métabolites secondaires les plus intéressants dans la recherche suscitant un intérêt particulier auprès des scientifiques, d'où l'importance de l'extraction et de la purification de ces composés.

Le but de ce travail est l'étude de quelques paramètres d'extraction afin d'obtenir le maximum de composés phénoliques avec une importante activité antioxydante. Dans cette démarche d'optimisation les paramètres étudiés sont : le diamètre de la poudre de *Spergularia Rubra L* qui a montré une influence significative sur la teneur en composés phénoliques ($p < 0.05$) ; le diamètre de 250 μm étant celui qui a donné les meilleures teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés. Le deuxième paramètre qui est le solvant d'extraction, qui a révélé que l'acétone 50% est le meilleur solvant qui permet d'obtenir les meilleurs teneurs pour les polyphénols totaux et les tanins condensés ainsi que le méthanol 50% pour les flavonoïdes. Pour le troisième paramètre qui est la concentration du solvant d'extraction l'acétone 70% s'est révélé la meilleure concentration en acétone qui a donné les meilleurs teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et en tanins condensés et l'acétone pure et l'acétone 30% également pour les tanins condensés. Le quatrième paramètre qui est le rapport solide-liquide, le rapport de 0.2 g /20 ml s'est révélé le meilleur rapport qui a donné les meilleures teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, cependant pour les tanins condensés le rapport de 0.1 g /20 ml est celui qui a donné la meilleure teneur.

Pour l'étude de l'activité antioxydante le diamètre de 250 μm est celui qui a permis d'obtenir la meilleure AAO avec le test de DPPH et le PR, cependant pour le test d'ABTS et la TAC le diamètre s'est montré sans effet significatif. Pour le solvant d'extraction l'acétone 50% et le méthanol 50% sont ceux qui ont donné les meilleures activités AAO déterminées par le test d'ABTS et la TAC, tandis que pour le PR c'est l'acétone 50%. L'AAO évaluée par le test de DPPH s'est révélée non influençable par le solvant d'extraction. L'étude de l'influence de la concentration de solvant sur l'AAO anti-radicalaire a montré que les extraits préparés par l'acétone 70% et 30% sont ceux qui ont donné la meilleure activité testée par le DPPH. Concernant le test d'ABTS, c'est l'acétone 50% qui est a donné la meilleure activité, pour le PR c'est l'acétone 70% qui adonné la meilleure activité et enfin pour la TAC c'est l'acétone 50% ,70% et l'acétone pur qui ont

donné les meilleures activités. Pour le rapport solide-liquide, le rapport de 0.4 g /20 ml est celui qui a donné les meilleures AAO par la TAC, le test d'ABTS et de DPPH, alors que pour le PR c'est le rapport de 0.2 g /20 ml qui a donné la meilleure activité.

Les résultats obtenus montrent l'influence significative des paramètres d'extraction testés sur la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et en tanins condensés ainsi que l'AAO de *Spergularia Rubra L* et ont également montré que cette plante possédait un potentiel antioxydant élevé notamment par son activité anti-radicalaire par le test de DPPH et d'ABTS ce qui fait de cette plante une puissante source d'antioxydants à exploiter.

En perspectives, ça serait intéressant d' :

- Etudier d'autres paramètres d'extraction des composés phénoliques de *Spergularia Rubra*
- Utiliser d'autres techniques d'extraction telles que l'extraction par sonication, extraction par micro-ondes ;
- Identifier les composés phénoliques présents dans les différents extraits obtenus.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Addai, Z.R., Abdullah, A et Abd Mutalib, S. (2013).** Effect of extraction solvents on the phenolic content and antioxidant properties of two papaya cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(47) : 3355-3359.
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2002.** Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127: 183–198.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z et Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12 : 364-371.
- Benyagoub, E., Nabbou, N et Moghtet, S. (2015).** Propriétés anti radicalaires d'une plante saharienne de la région extrême sud-ouest algérien « *Anastaticahierochuntica* L. ». *Revue des BioRessources*, 5(2): 54-66.
- Bijoy, M., Jayati, S., Prabir, K.S., (2008).** Antioxidant activities of soybean as affected by *Bacillus*-fermentation to kinema. *Food Research International*, 1: 586–593.
- Bonta, R.K. (2017).** Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7: 349-364.
- Bouillant, M-L., Ferreres De Arce, F., Favre-Bonvin, J., Chopin, J., Zoll, A et Mathieu, G. (1979).** Nouvelles C-glycosylflavones extraites de *Spergularia Rubra*. *Phytochemistry*, 18 : 1043-1047.
- Bourgou, S., Serairi Beji, R., Medini, F et Ksouri, R. (2016).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 28(12): 1649-1655
- Brglez Mojzer, E., Hrnčič, M-K., Škerget, M., Knez, K et Bren, U. (2016).** Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules Review*, 21(901): 1-38.
- Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. Paris : Édition TEC et DOC, EM inter. 3^{ème} édition. 227-228.
- Bucic-kojic, A., Planinic, M., Tomas, S., Bilic, M et Velic, D. (2007).** Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 81 :236–242.
- Chaalal, M. (2013).** *Etude de quelques propriétés antioxydantes et biologiques de graines de la figue de Barbarie (Opuntia ficus indica(L.) Mill)*. Thèse de doctorat, science alimentaire, Université Abd-Errehmane Mira, Faculté science de la nature e de la vie, Bejaia. 43.
- Cheap-charpentier, H., Gelus, D., Pécou, N., Pérrot, H., Lédian, J., Horner, O., Sadoun, J., Cachet, X., Litaudon, M., Roussi, F. (2016).** Antiscalant properties of *Spergularia rubra* and *Parietaria officinalis* aqueous solutions. *Journal of Crystal Growth*, 443: 43-49.

- Chirino, R., Rogez, H., Campos, D., Pedrischi, R et Larondelle, Y. (2007).** Optimization of extraction conditions of antioxidants phenolic compounds from Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) tubers. *Separation and purification technology*, 55 : 217-225.
- Cujic, N., Savikin, K., Jankovic, T., Pljevljakusic, D., Zdunic, G et Ibric, S. (2016).** Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technic. *Food chemistry*, 194 : 135-142.
- D'alessandro, L-G. (2013).** *Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits*. Thèse de doctorat d'ingénierie des fonctions biologiques, Université Lille 1, sciences et technologies, Faculté de sciences de la matière, rayonnement et de l'environnement. 28.
- Deepak, M., Kasote, S., Katyare., Mahabaleshwar, V., Hegde., Hanhong, B.(2015).** Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8): 982-991.
- Dobignard, A et Chatelain, C. (2010).** *Spergularia rubra* (L.) J. Presl & C. Presl. eFlore, la flore électronique de Tela Botanica. Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du Nord. Version : 2013, 1-3. www.tela-botanica.org. Consulté le 8 Avril 2018 à 12 :30.
- Dupont, F et Guignard, J-L. (2012).** *Les familles des plantes*. France : Édition Elsevier Masson, 210.
- El-Haci, I-A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M et Didi, M-A. (2012).** Total phenolic and antioxidant activity of medicinal plant endemic to the Algerian Sahara. *Phytotherapie*, 10(5): 280-285.
- Fadili, K., Zerkani, H., Amalich, Set Zair, T. (2017).** Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 108-118.
- Gbohaïda, V., Mèdoatinsa, S.E., Nonviho, G., Bogninou-Agbidinokoun, G.S.R., Agbangnan, D.C.P., et Sohounhloué, C.K.D. (2015).** Etude chimique et évaluation de l'influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpus erinaceus* acclimaté au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12(2) : 325-333.
- Gülçin, I., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö.I., (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3): 371–382.
- Hart, J.H. (1981).** Role of phytoalexins in decay and disease resistance. *Annual review of phytopathology*, 19 : 437-458.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

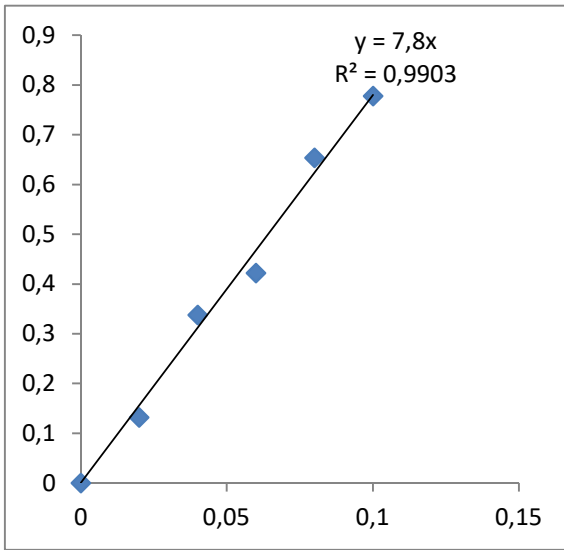
- Julve, Ph. (2017).** *Spergula rubra* (L.) D.Dietr. eFlore, la flore électronique de Tela Botanica. Baseflor. *Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France*. Version : 09 février 2017,1-3. <http://www.tela-botanica.org>. Consulté le 7 Mai 2018 à 18 :30.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., 1999.** Antioxidant Activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954–3962.
- Ke, S-Z., Dequan, L., Zhengyi, W., Lihua, Z., Shilong, C., Gilbert, G-M., Lidé, M., McNeill, J., Morton, J-K., Oxelman, B., K-Rabeler, R., Thulin, M., J-Turland, N et Wagner, W-L.(2001).** Caryophyllaceae. *Flora of China*, 6: 1–113.
- Kebbas, S., Saidi, F., Cherif, H.S., Rouibi, A., Chaouia, C. (2008).** *Effet antimicrobien de l'huile essentielle d'une caryophyllacée médicinale : spergularia rubra L.* Bulletin of university of agricultural sciences and veterenary medicine cluj- napoca. *Horticultur*,65(1): pp.1
- Kong, C-S. (2014).** Anti-Inflammatory Activity of the Solvent-Partitioned Fractions from *Spergularia marina* in LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells. *Prev. Nutr. Food Sci*, 19(4): 261-267.
- Kroyer, G., Hegedus, N. (2001).** Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science and Emerging Technologie*, .2: 171–174.
- Lamaison, J.L.C. et Carnet, A. (1990).** Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D.C) en fonction de la végétation. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 65, 315–320.
- Lamblin, F., Hano, C.,Fliniaux, O., Mesnard, F., Fliniaux, M-A et Lainé, E. (2008).** Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers. *Med Sci* ,24(5): 511–520.
- Leccese, I.A., Viti, R., Bartolini, S. (2011).** The effect of solvent extraction on antioxidant properties of apricot fruit. *Central European Journal of Biology*, 6(2): 199-204.
- Li, A-N., Li, S., Zhang, Y-J., Xu, X-R., Chen, Y-M et Li, H-B. (2014).** Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients Review*, 6: 6020-6047.
- Losada-Echeberría, M., Herranz-López, M., Micol, V et Barrajon-Catalán, E. (2017).** Polyphenols as Promising Drugs against Main Breast Cancer Signatures. *Journal List Antioxidants (Basel)*, 6(4): 88.
- Mahmoudi, S., Khali, M et Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Revue « *Nature & Technologie* ». *B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, 35-40.
- Melo, A., Monteiro, L., Lima, R-M-F., de Oliveira, DM., de Cerqueira, M-D., El-Bacha, R-H. (2011).** Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Mechanisms

- and Therapeutic Perspectives. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011: 1-14.
- Mezouar.D, Lahfa.F-B , djaziri.R, Boucherit-otmani.Z. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante de Berberis L. *Phytothérapie*, 12, 297-301.
- Middleton,JR.E , Kandaswami.C et Theoharides.TC.(2000).** The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4): 673-751.
- Miri, A., Rashki Ghalehnoo, Z et Shaharaki, E. (2016).** Evaluation Of Antioxidant And Antimicrobial Activity Of Spergularia Marina (L.) Griseb Extract. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8: 501-517.
- Mocan, A., Vodnar, D-C., Vlase, L., Crişan, C., Gheldiu, A-M et Crişan, G.(2015).** Phytochemical Characterization of *Veronica officinalis* L.,*V.teucrium*L. and *V.orchidea* Crantz from Romania and Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 21109-21127.
- Nawrocki, T. (2011).** Red sandspurry *Spergularia rubra* (L.) J. Presl & C. Presl. Alaska natural heritage program university of Alaska Anchorage.1-3.<http://aknhp.uua.alaska.edu>
- Paradal, D. (2016).** *Eco-procédé d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un coproduit agro-alimentaire.* Thèse de doctorat d'ingénierie des fonctions biologiques, Université Lille 1, sciences et technologies, Faculté de sciences de la matière, rayonnement et de l'environnement.115.
- Pietta, PG. (2000).** Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7): 1035-1042.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M.(1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337–341.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourisation assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237.
- Rebey, B., Sriti, J., Besbess, B., Mkaddmini Hammi, K., Hamrouni Sellami, I., Marzouk,B., Ksouri, R. (2016).** Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of new sciences*, 27(4) : 1478-1487.
- Rocha-gozmane, N.E., Herzog, A., Gonzalez-Laredo, R.F., Ibarra-Perez, F.J., Zambrano-Galvan, G et Gallegos-Infante, J.A. (2007).** Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*). *Food chemistry*, 103 : 521-527.
- Spichiger, R-E., Savolainen, V-V., Figeat, M., Jeanmond, D et Perret, M. (2002).** *Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle*

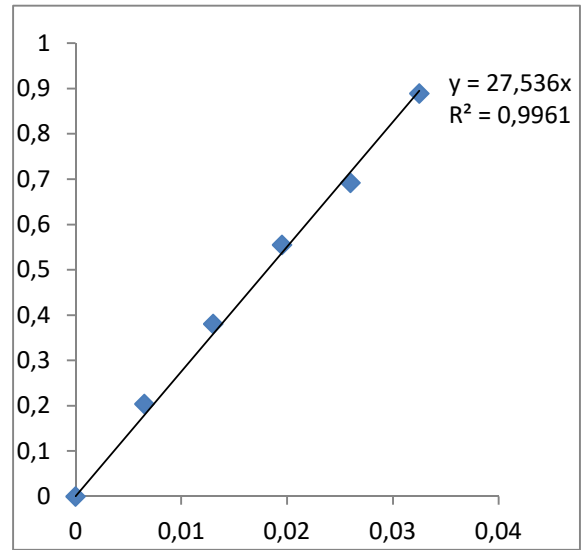
des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Lausanne France : Edition Presses Polytechnique et Universitaire Romandes, 192.

- Swain, T., Hills, W.E. (1959).** The phenolics constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolics constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10: 63–68.
- Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O.E.K et Moulti-Mati, F. (2010).** Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété ghars. *Annales des Sciences et Technologie*, 2(2) : 7-114.
- Theisen, L.L., Erdelmeier, C.A.J., Spoden, G.A., Boukhallouk, F., Sausy, A., Florin, L., Muller, C.P. (2014).** Tannins from Hamamelis virginiana Bark Extract: Characterization and Improvement of the Antiviral Efficacy against Influenza A Virus and Human Papillomavirus. *PLoS ONE*, 9(1): 1-14.
- Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y-S. (2006).** Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate teapolyphenols determined by ferrous tartrate and folin-ciocalteu methods. *food chemistry*, 99 : 835-841.
- Uttara, B., Singh, A-V., Zamboni, P et Mahajan, R.T. (2009).** Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Current Neuropharmacology*, 7(1): 65-74.
- Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M-J et Spencer, J-P-E. (2010).** Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action. *Nutrients review*, 2: 1106-1131.
- Vinholes, J., Grosso, C., Andrade, P.B., Gil-Izquierdo, A., Valentão, P., Guedes dePinho, P et Ferreres, F. (2011).** *In vitro* studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. *Food Chemistry*, 129(2): 454-462.
- Yildirim, A., Oktay, M., Bilaloğlu, V. (2001).** The antioxidant activity of the leaves of *Cydonia vulgaris*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 31: 23–27.
- Zhang, Q. (2015).** Effects Of Extraction Solvents On Phytochemicals And Antioxidant Activities Of Walnut (*Juglans Regia* L.) Green Husk Extracts. *European Journal of Food Science and Technology*, 3(5): 15-21.

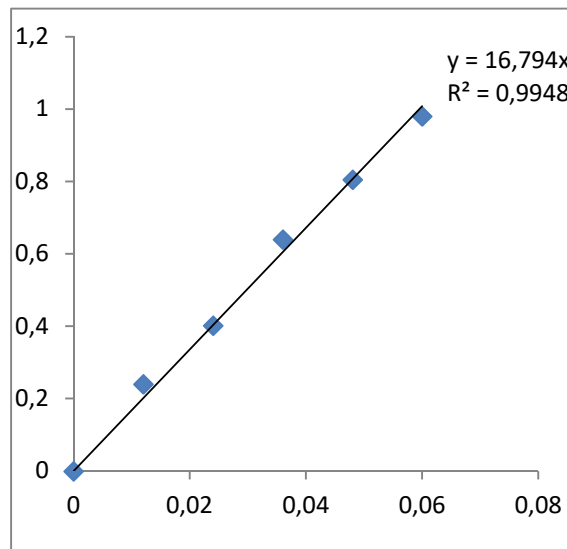
Liste des annexes :



Annexe 1. Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux



Annexe 2. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes



Annexe 3. Courbe d'étalonnage des Tanins condensés.

Annexe 4. Réactifs utilisés

- ABTS: 2, 2 Azinobis-(3-Ethyl-Benzothiazoline-6-Sulfonate)
- Acétone 50%
- Acétone 30%
- Acétone 70%
- Acétone pure
- Acide sulfurique H₂SO₄
- Acide trichloroacétique
- Carbonate de sodium
- Chlorure d'aluminium
- Chlorure ferrique (AlCl₃) (0.1%)
- DPPH (Diphényle-picryl-hydrazyle)
- Eau distillée
- Ethanol 50%
- Ethanol pure
- Ferricyanure de potassium (1%)
- Méthanol 50%
- Molybdate d'ammonium
- Persulfate de potassium
- Phosphate de sodium Na₃PO₄
- Réactif de Folin –Ciocalteu (Sigma-aldrich)
- Réactif de la vanilline
- Tampon phosphate (0.2M, pH 6.6)

Résumé : Le but de cette présente étude est l'évaluation de l'effet des paramètres d'optimisation qui sont : la granulométrie (125µm,250µm et 500µm), le type de solvant (éthanol 50%, méthanol 50%, acétone 50% et l'eau distillée), concentration de solvant (30-50-70-100%,), le ratio solide-liquide (0.1,0.2 ,0.4 et 0.6g/20ml), sur la teneur en polyphénols totaux (TPC), flavonoïdes totaux (TFC), tanins condensés (TC), et sur l'activité antioxydante par : capacité antioxydante totale (TAC), activité scavenger du radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH-RSA), activité scavenger du radical 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS-RSA) et le pouvoir réducteur (RP) de (*Spergularia Rubra.L.*).En utilisant la même approche expérimentale. Les résultats ont montré un effet significatif TPC, TFC, TC, DPPH-RSA, ABTS-RSA, TAC et le RP. Sur la base de TPC et de l'activité antioxydante, les meilleurs paramètres d'optimisation sont 250µm , acétone 50% et acétone 70% pour la concentration de solvant , le ratio 0.2g/20ml pour le dosage TPC et 0.4g/20ml pour AAO. Suivant les conditions d'optimisation la plus grande teneur en TPC, DPPH-RSA et RP des extraits de *Spergularia Rubra L* ont été obtenus avec des valeurs de 2.50g EAG/100g, 90.03 % pourcentage d' inhibition et 0.30 (Abs), respectivement.

Mots clés : *Spergulariarubra*, activité antioxydante, dosage, composés phénoliques, optimisation.

Abstract : The aim of the present study is to investigate the effects optimization parameters which are: granulometry (125µm,250µm and500µm) of solvent type (ethanol 50%, methanol 50%, acetone 50% and water), acetone concentration (30-50-70-100%,), solid-liquid ratio (0.1,0.2,0.4 and 0.6g/20ml), on total phenolic compounds (TPC), total flavonoid compounds (TFC), condensed tanins (CT), and on the antioxidant activity by: total antioxidant capacity (TAC), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH-RSA), 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS-RSA) and reducing power (RP) of (*Spergularia Rubra.L.*). Using single factor experiments approach. The results showed significant effect ($p < 0.05$) on TPC, TFC, TC, DPPHRSA, ABTS-RSA, TAC and RP. On the basis of TPC and antioxidant activity (AOA) parameters, the best optimizing parameters were 250µm, acetone 50% and acetone 70% for the solvent concentration, 0.2g/20ml ratio for the TPC dosage and 0.4g/20ml for AOA. Based on these optimized conditions, high content of TPC, DPPH-RSA and RP of *Spergularia Rubra L* extracts were obtained with values of 2.50g GAE/100g, 90.03 % percentage of inhibition and 0.30 (Abs), respectively.

Key words: *Spergularia rubra*, antioxidant activity, dosage, phenolcompound, optimization.

ملخص: هدف هذه الدراسة هو تقييم تأثير قطر جزيئات مسحوق نبات فتاة الحجر (µm500,250,125) نوع المذيب: إيثانول 50%, الميثانول 50%, الأستونول 50% والماء المقطر, تركيز الأستونول (30,50,70,100%) وعلاقة سائل-صلب (0.1, 0.2, 0.4, 0.6 غ/20مل) على كمية البوليفينولات (TPC), الفلافونيد (TFC), التانات (TC) وكذلك الأنشطة المضادة للأكسدة (TAC), الناشط المضاد للجذر 1,1-ديفينيل-2-بيكريل هيدريزيل (DPPH), 2,2-أزيبوبيس (3- إيثيل بنزو تيزولين-6- سلفو نيك) (ABTS) والقدرة المرجعة (PR) لنبات فتات الحجر. باتباع طريقة تجريبية على TPC و TFC و TC وكذلك الأنشطة المؤكسدة. أفضل العوامل التي ($p < 0.05$) موحدة. النتائج تبين تأثير كبير) وجدت هي 250µm, الأستونول 50% والأستونول 70% لتركيز المذيب و 0.2 غ/ 20ملل للبوليفينولات و 0.4 غ/20ملل من أنشطة المضادة للأكسدة بالاعتماد على هذه العوامل على التوالي اكبر و لفئات الحجر التي تم الحصول عليها كانت بالقيم 2.5 غ معادل حمض فاليك/100 غ من المادة الجافة, 90.03% بنسبة تثبيط و 0.30 نسبة إمتصاص كلمة المفتاح: فتات الحجر, الأنشطة المضادة للأكسدة, البوليفينول, تجويد, تقدير الجرعات.