

Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional

Samira BELHADJ TAHAR^{1,*}, Mahfoud HADJ-MAHAMMED¹ et Mohamed YOUSFI²

¹ Univ Ouargla, Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière,
Lab. de Biogéochimie des milieux désertiques, Ouargla 30000, Algérie

² Université Amar Tlili Laghouat, Faculté des sciences et des sciences de la matière,
Département de Chimie, Laghouat 03000, Algérie

* Email : douaa71@gmail.com

ملخص: المركبات المضادة للأكسدة هي موضوع العديد من الدراسات لأنه، بالإضافة إلى استخدامها كمادة حافظة في المنتجات الغذائية عن طريق استبدال المواد المضادة للأكسدة الاصطناعية، فإنها تتدخل في علاج الكثير من الأمراض.

قمنا في هذا البحث بتقييم خصائص التضاد للأكسدة، لأوراق *Atriplex halimus* و كذا قضبان و زهور نبتة *Haloxylon scoparium* الأجزاء البيوتانولية لزهور النبتتين، تحتوي على نسبة عالية من مجموع الفينولات؛ الجزء الخاص بالبيوتانول و خلاص الإيثيل يبرز أفضل قدرة مضادة للأكسدة الشاملة، وأعلى نشاط لفخ الجذر DPPH و الجذر الشاردي ABTS.

كلمات دالة: النباتات الطبية، المركبات الثانوية، النشاط المضادة للأكسدة، الصحراء الشمالية..

RÉSUMÉ : Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme conservateurs dans les produits alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies.

Dans ce travail, nous avons évalué les propriétés antioxydantes des feuilles de l'*atriplex halimus* L ainsi que les fleurs et tiges de l'*haloxylon scoparium* pomel. Les fractions butanoliques des fleurs des deux plantes possèdent une teneur élevée en phénols totaux; la fraction acétate d'éthyle et butanolique de ces deux plantes présente une meilleure capacité antioxydante totale, et une activité plus élevée pour piéger le radical DPPH et le radical cation ABTS.

MOTS-CLÉS : plantes médicinales, métabolites secondaires, activité antioxydante, Sahara septentrional.

ABSTRACT: The antioxidants are the subject of many studies, because in addition to their use as preservatives in food products by replacing the synthetic antioxidants, they intervene in the treatment of many diseases.

In this study, we evaluated the antioxidant properties of leaves of *atriplex halimus* L as well as flowers and stems of *haloxylon scoparium* pomel. Butanolic Fractions of flowers of the two plants have a higher total phenols content; the fraction of ethyl acetate and butanol, for these two plants, presents a better total antioxidant capacity, and higher activity to trap the DPPH radical and the ABTS radical cation.

KEYWORDS: medicinal plants, secondary metabolites, antioxidant activity, northern Sahara.

1. Introduction :

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires [1] [2] [3]. L'intérêt accru des antioxydants d'origine naturelle dans le but d'augmenter la conservation des aliments s'explique par le fait que certains antioxydants synthétiques présentent des risques de cancérrogénicité [4]. De nombreuses plantes, alimentaires ou médicinales, renferment des constituants antioxydants. L'apport régulier en phytonutriments possédant des capacités antioxydantes significatives est associé à une faible prévalence de maladies liées au stress oxydatif (cancers, maladies cardiovasculaires et athérosclérose) et à un faible taux de mortalité [5].

La caractérisation des métabolites secondaires dans le règne végétal, est toujours d'actualité au vu de leur effet antioxydant (entre autres) qu'ils procurent pour parer à l'apparition d'un grand nombre de maladies. Les composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes font partie de cet arsenal de produits naturels que les chercheurs œuvrent à l'élucidation de leurs structures et la mise en

évidence des différents principes actifs dont revêt un grand nombre de plantes dites médicinales. Dans ce travail, nous nous sommes proposé d'étudier l'activité antioxydante des extraits polyphénoliques issus de deux plantes : *Atriplex halimus* L et *Haloxylon scoparium* pomel (famille des chénopodiacées) poussant à l'état spontané dans la région de Laghouat. Ces plantes sont endémiques et utilisées traditionnellement comme plantes médicinales dans le Sahara algérien. L'espèce *Atriplex halimus* L., est connue par ces propriétés hypoglycémiantes et hypolipidémiantes [6] [7]. Certains travaux ont montré que l'espèce *Haloxylon scoparium* pomel, possède des propriétés anticancéreuses ainsi que des activités antiplasmodiales et larvicides [8] [9].

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les plantes "*Atriplex halimus* L et *Haloxylon scoparium* pomel " ont été récoltées durant les mois de novembre et mars, dans deux régions de Laghouat, Algérie (Kasr El Hiran et Sidi Mekhlouf, respectivement). Le matériel végétal a été identifié [10] et lavé au laboratoire et séché à l'obscurité dans un endroit bien aéré, à la température ambiante.

2. 2. Extraction des composés phénoliques

Le matériel végétal séché à l'air a été extrait en utilisant le système de solvant méthanol-eau (8/2). L'extrait brut a été collecté puis concentré à l'évaporateur rotatif à 40 °C et fractionné successivement avec l'éther de pétrole, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le butanol, afin de fractionner les composés dans les matières brutes en fonction de leur polarité.

2. 3. Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu [11][12]. Un volume de 200 µl pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, le mélange : 1 ml de Folin Ciocalteu, dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5 %, est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre Jenway 6405 UV/ Vis. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

2. 4. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée [13] [14]. Une quantité de 500 µl de solution méthanolique de quercétine à différentes concentrations ou de l'extrait méthanolique dilué, est ajoutée à 500 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2 %. Après l'incubation de 15 min à la température ambiante, l'absorbance de la solution de couleur rosâtre est mesurée à 430 nm contre le blanc. La teneur en flavonoïdes totaux des extraits des plantes est exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme du poids de la matière sèche (EQ)/g). Chaque test est répété trois fois.

2. 5. Dosage des tannins condensés

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide [15]. Un volume de 500 µl de l'extrait brut est ajouté à 2500 µl de la solution Vanilline (1%) l'acide chlorhydrique (8%) et puis mélangé à l'aide d'un vortex et laissé réagir à 30 °C dans un bain marie pendant 20 min. L'absorbance à 500 nm est mesurée contre un blanc. La concentration des tannins est estimée en milligrammes équivalents de catéchine par gramme du poids de la matière sèche (EC)/g).

3. Activité antioxydante

3.1. Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène [16]. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent

sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide. Un volume de 0.2 ml de chaque extrait méthanolique est mélangé avec 2 ml de solution du réactif (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 2 ml de la solution du réactif et 0.2 ml du méthanol, puis il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les expériences sont répétées 3 fois.

3.2. Test DPPH

Le test antioxydant a été réalisé par la méthode au DPPH [17] [18] avec quelques modifications. Ce radical libre (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl, $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$; M: 394.33) possède une coloration violet foncé, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle. Le DPPH est solubilisé dans du méthanol pour en avoir une solution de 250 μM . 1 ml de cette solution est ajouté à 1 ml de l'extrait en solution dans du méthanol à différentes concentrations. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité, à la température ambiante pendant 30 minutes. Le test est répété 3 fois pour chaque concentration. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Pour chaque dilution, on prépare un blanc. Le contrôle négatif est composé de 1 ml de la solution DPPH (250 μM) et de 1 ml de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique, α -tocophérol et 3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test. Les résultats ont été exprimés en activité antioxydante et les valeurs de l'EC50 ont été déterminées graphiquement.

3.3. Test ABTS

Le test antioxydant a été réalisé selon la méthode ABTS [19]. Le radical cation $\text{ABTS}^{+\cdot}$ est produit en faisant réagir 10 ml d'ABTS [2,2'-azino-bis (3-éthylebenzothiazoline-6-sulfonique)] (20 mM) avec 100 μl de persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (70 mM) , le mélange est laissé à l'obscurité à température ambiante pendant 24 h. 1 ml de ce dernier, est ajouté à 25 ml de solution tamponnée de phosphate (0.2 M) ; (pH=7,4).

Une prise de 10 μl de chaque extrait est mise en présence de 1ml du radical cation $\text{ABTS}^{+\cdot}$. L'absorbance est enregistrée à 734 nm pendant 6 min. contre un blanc. Les résultats obtenus nous ont permis de calculer le pouvoir inhibiteur (PI) en fonction de la concentration de l'extrait (l'antioxydant), les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement.

Calcul des pourcentages d'inhibition

Nous avons ainsi calculé les pourcentages d'inhibition suivant l'équation suivante :

$$\text{PI \%} = ((\text{Ac}-\text{At})/\text{Ac}) * 100$$

Ac : absorbance du contrôle et **At** : absorbance du test effectué.

4. Résultats et discussion

4.1. Rendements des extraits bruts

L'extraction des composés phénoliques par le méthanol des plantes étudiées, nous a permis de déterminer les rendements (Tableau 1).

Tableau 1 : Rendement des extraits bruts

	Extraits des plantes	Rendements (%)
Atriplex halimus (partie aérienne)	AHAE	0,40 ± 0,01
	AHDCM	0,60 ± 0,02
	AHB	5,96 ± 0,23
Haloxylon scoparium (tiges, feuilles)	HTFAE	0,80 ± 0,01
	HTDCM	0,40 ± 0,03
	HTB	6,20 ± 0,34
Haloxylon scoparium (fleurs)	HFAE	1,12 ± 0,03
	HFDCM	0,60 ± 0,01
	HFB	15,38 ± 1,12

AHAE : Atriplex halimus, fraction acétate d'éthyle

AHDCM : Atriplex halimus, fraction dichlorométhane

AHB : Atriplex halimus, fraction butanolique

HTFAE : Haloxylon scoparium (tiges), fraction acétate d'éthyle

HTDCM : Haloxylon scoparium (tiges), fraction dichlorométhane

HTB : Haloxylon scoparium (tiges), fraction butanolique

HFAE : Haloxylon scoparium (fleurs), fraction acétate d'éthyle

HFDCM : Haloxylon scoparium (fleurs), fraction dichlorométhane

Les extraits des fractions butanoliques de nos plantes sont les plus élevés en termes de rendements, comme illustré dans le tableau 1 : à commencer par les fruits de *Haloxylon scoparium* (15,38 %), suivi par les feuilles de cette même plante (6,2 %) et enfin la partie aérienne de *Atriplex halimus* (5,96 %). Les autres rendements plus ou moins considérables ont été observés, le plus important étant pour les extraits de la fraction acétate d'éthyle des fleurs d'*Haloxylon scoparium pomel* (1,12%).

A titre indicatif, certains auteurs ont montré que le méthanol reste le solvant le mieux adapté pour extraire les antioxydants d'une plante [20] [21].

4.2. Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tannins :

L'extraction des composés phénoliques des plantes étudiées, nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tannins (Tableau 2).

Les résultats indiquent que la fraction butanolique de l'extrait d'*A. halimus* possède une teneur élevée en phénols totaux (3,648± 0,001 mg EAG/g MS), celle des flavonoïdes 0,120± 0,003 mg EQ/g MS et les tanins 1,036 mg EC/g MS. En second rang, vient la fraction acétate d'éthyle de la même plante avec des teneurs en polyphénols totaux de 1,616± 0,005 mg EAG/g MS, les flavonoïdes et tanins : 0,058± 0,001 mg EQ/g MS et 0,122± 0,002 mg EC/g MS respectivement. Les aux résultats observés dans la littérature [22] font apparaitre des teneurs en phénols totaux dans l'extrait des tiges d'*atriplex halimus* égales à 3,77 mg EAG/ g MS et 10,12 mg EAG/ g MS) alors que chez l'extrait des feuilles de la même plante les résultats sont nettement supérieurs aux nôtres.

Tableau 2 : teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins dans les extraits bruts

	Phénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/g MS)	Tannins (mg EC/g MS)
AHAE	1,616 ± 0,005	0,058 ± 0,001	0,122 ± 0,002
AHDCM	1,582 ± 0,034	0,026 ± 0,001	0,039 ± 0,001
AHB	3,648 ± 0,001	0,120 ± 0,003	1,036 ± 0,002
HTFAE	2,416 ± 0,008	0,128 ± 0,001	0,315 ± 0,003
HTDCM	2,104 ± 0,023	0,090 ± 0,002	0,019 ± 0,001
HTB	18,666 ± 0,176	0,305 ± 0,001	2,862 ± 0,012
HFAE	4,163 ± 0,028	0,531 ± 0,003	1,641 ± 0,017
HFDCM	2,456 ± 0,003	0,058 ± 0,001	1,468 ± 0,033
HFB	62,590 ± 2,051	0,139 ± 0,003	10,501 ± 1,435

Chez *Haloxylon scoparium*, les résultats obtenus indiquent que les fractions butanoliques des fleurs possèdent les teneurs les plus élevées en phénols totaux ainsi qu'en tanins. Les teneurs en flavonoïdes sont plus faibles ($0,139 \pm 0,003$ mg EQ/gMS). Ensuite viennent la fraction acétate d'éthyle de la même plante avec des teneurs en polyphénols totaux égales à $4,163 \pm 0,028$ mg EAG/g MS, les flavonoïdes et tanins à $0,531 \pm 0,003$ mg EQ/g MS et $1,641 \pm 0,017$ mg EC/g MS respectivement. Ces valeurs sont importantes par rapport à celles trouvées dans les tiges. Ces résultats indiquent que la distribution des métabolites secondaires peut fluctuer entre les différents organes de la plante [23] [24] [25]. Nous constatons que les plantes du Sahara possèdent des teneurs élevées en tanins par rapport aux flavonoïdes.

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est due probablement à la composition phénolique des extraits [26], aux facteurs génotypiques [27], les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) [25], la nature du sol et le type du microclimat [28], et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes.

4.3. Pouvoir antioxydant des composés phénoliques :

Les résultats représentés dans le tableau 3 montrent que tous les extraits présentent des activités antioxydantes différentes.

Tableau 3 : pouvoir antioxydant des composés phénoliques

Extrait	Capacité antioxydante totale(mgAA/gMS)	EC50(mg/ml)	IC50(mg /ml)
AHAE	0,241	0,230	0,233
AHDCM	0,110	0,094	0,283
AHB	0,112	0,405	0,202
HTFAE	0,224	0,088	0,687
HTDCM	0,035	0,326	0,218
HTB	0,046	0,233	0,007
HFAE	0,023	0,971	0,027
HFDCM	0,034	0,343	0,174
HFB	0,414	0,329	0,003
AA	-	0,006	0,002
Vit E	-	0,012	0,005
BHA	-	0,006	0,002

AA :acide ascorbique , **vit E** : α -tocophérol , **BHA** : 3-tertio-butyl-4, hydroxyanisole.

EC50 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH.

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical cation ABTS.

(mgAA/gMS): milligramme d'acide ascorbique par gramme de matière sèche.

Les meilleurs antioxydants naturels sont ceux des fractions butanoliques et/ou acétate d'éthyle, non seulement pour ce test, mais aussi pour les autres méthodes appliquées dans ce travail. L'extrait de la fraction butanolique des fleurs d'*haloxylon scoparium* pomel possède la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de $0,414$ mgAA/gms par rapport à celle trouvée par les tiges de la même plante; par contre la fraction acétate d'éthyle des tiges révèle une activité réductrice plus importante par rapport aux fleurs (de l'ordre de $0,224$ mgAA/gMS) et pour la fraction dichlorométhane de la même plante, on remarque que les résultats sont presque les mêmes ($0,035$ mgAA/gMS pour les tiges et $0,034$ mgAA/gMS pour les fleurs).

Les valeurs de la capacité antioxydante totale de la fraction acétate d'éthyle de l'*atriplex halimus* révèlent la meilleure activité (de l'ordre de $0,241$ mgAA/gms), ensuite vient la fraction butanolique (de l'ordre de $0,112$ mgAA/gMS) et enfin $0,110$ mgAA/gMS pour la fraction dichlorométhane de la même plante. Les autres activités réductrices restent faibles (de l'ordre de $0,023$ mgAA/gMS à $0,046$ mgAA/gMS).

Diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturels à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres : la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule.

Les piègeurs les plus efficaces du radical libre DPPH et ABTS sont ceux possédant les valeurs EC50 les plus basses. Tous les extraits de nos plantes ont montré une activité de piéger les radicaux libres DPPH. Les concentrations les plus faibles sont signalées dans la fraction acétate des feuilles de la plante *haloxylon scoparium* et la fraction dichlorométhane de la plante *Atriplex halimus L.* De même, des valeurs de EC50 importantes sont de 0,230 mg/ml pour la fraction acétate d'éthyle de *l'Atriplex halimus* à 0,233 mg/ml pour la fraction butanolique des feuilles de la plante d'*haloxylon scoparium*.

Ces résultats montrent clairement que les extraits ayant la même activité peuvent être composés des mêmes molécules. En effet, la concentration la plus élevée est enregistrée pour la fraction acétate d'éthyle des fleurs de la plante *haloxylon scoparium*.

Ces résultats nous ont permis de conclure que la fraction acétate d'éthyle des feuilles, présente une meilleure activité antioxydante.

Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés antioxydantes des plantes choisies. Les valeurs de EC50 trouvées dans la littérature [22] pour *l'Atriplex halimus L* sont supérieures à nos résultats tandis que d'autres valeurs [29] pour *Haloxylon scoparium* sont presque les mêmes.

la fraction acétate d'éthyle de *l'Atriplex halimus L* détient une bonne capacité à piéger le radical DPPH. Cette activité est due probablement à l'abondance des flavonols (kaempferol, quercétine...) qui représentent la classe majeure des espèces d'*Atriplex* [30] [31].

D'après le tableau 2, on note que les valeurs d'IC50 d'ABTS des extraits phénoliques varient globalement de 0,003 mg/ml à 0,687 mg/ml. Les concentrations les plus faibles sont signalées dans l'extrait de la fraction butanolique des fleurs de la plante *Haloxylon scoparium* ; l'extrait de la fraction butanolique des feuilles de la même plante présente aussi une valeur d'IC50 importante de l'ordre de 0,007 mg/ml. Pour les autres extraits, les valeurs d'IC50 varient entre 0,174 mg/ml et 0,283 mg/ml, par contre la valeur la plus élevée est enregistrée pour la fraction acétate d'éthyle des feuilles de *l'Haloxylon scoparium pomel*.

D'après ces résultats, il apparaît que l'extrait de la fraction butanolique des fleurs de la plante *Haloxylon scoparium* possède la meilleure activité antioxydante par rapport à la vitamine E.

Cette activité de nos extraits peut être attribuée aux composés phénoliques notamment les flavonoïdes qui sont signalés dans plusieurs recherches comme les meilleurs antioxydants. Les acides phénoliques et les diterpènes phénoliques peuvent être aussi impliqués dans cette activité [32]. Néanmoins, la variabilité structurale de ces mêmes flavonoïdes affecte de façon non négligeable cette activité [33] et à titre indicatif, les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

* La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.

* La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.

* La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.

Récemment, il y a un grand intérêt aux potentiels thérapeutiques des plantes médicinales comme des antioxydants grâce au potentiel réducteur des composés phénoliques. L'activité antioxydante de nos extraits a été comparée à celle des antioxydants synthétiques et des composés phénoliques purs.

L'ensemble des résultats montrent que nos extraits peuvent remplacer les antioxydants de Synthèse.

5. Conclusion

Les résultats obtenus dans ce travail, nous ont montré que les extraits de nos plantes ont une importante teneur en phénols totaux et particulièrement dans les fractions butanoliques et acétate d'éthyle et qu'ils sont dotés d'une capacité antioxydante, et donc de capture de radicaux libres intéressante, ce qui nous incite à isoler leurs composantes et de caractériser leurs structures pour

aboutir éventuellement à la mise en évidence des principes actifs responsables de cette activité. Cet aspect fera l'objet d'un travail ultérieur. Par ailleurs, l'activité antioxydante de nos extraits a été comparée à celle des antioxydants synthétiques et des composés phénoliques purs. Il en ressort que nos extraits peuvent remplacer certains antioxydants de synthèse.

Références

- [1] Sanchez-Moreno C.; Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; *Food Science and Technology International* **8** (3), 121-137 (2002).
- [2] Marc Fr., Davin A., Deglene-Benbrahim L. and Ferrand C.; Methodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments; *Erudit, M/S : médecine sciences* **20**(4), 458-463 (2004).
- [3] Huang D., Ou B. and Prior R. L.; The chemistry behind antioxidant capacity assays; *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1841-1856 (2005).
- [4] Velioglu Y. S, Mazza G, Gao L. and Oomah B. D.; Antioxidant activity and total phenolics in; selected fruits, vegetables, and grain products; *J. Agric. Food. Chem.* **46**, 4113–17 (1998).
- [5] Anderson K. J., Teuber S. S., Gobeille A., Cremin P., Waterhouse A. L. and Steinberg F. M.; Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation : Biochemical and molecular action of nutriments; *J. Nutrition* **131**, 2837–42 (2001).
- [6] Yaniv Z., Dafni A., Friedman J. and Palevitch D.; Plants used for the treatment of diabetes in Israel; *J. Ethnopharmacol* **19** (2), 145 (1987).
- [7] Mirsky et Nitsa. Naturally extracted and synthetic hypoglycemic or hypolipidemic compositions. Application N° 09/842-971 (2001).
- [8] Salah H. B., Jarraya R., Martin M.-T., Veitch N. C., Grayer R. J., Simmonds M. S. J. and Damark M.; Flavonol triglycosides from the leaves of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin ; *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 1268–1270 (2002).
- [9] Sathiyamoorthy P., Lugasi-Evgi H., van-Damme P., Abu-Rabia A., Gopas J. and Golan-Goldhirsh A.; Larvicidal activity in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products; *Int. J. Pharmacog.* **35**, 265–273 (1997).
- [10] Quezel P., Santa S.; Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris (1963).
- [11] Singleton V. L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R.M.; Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent; *Methods Enzymol.* **299**, 153-178 (1999).
- [12] Singleton V. L. and Ross J. A.; Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent; *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144-158 (1956).
- [13] Zhishen J., Mengcheng T. and Jianming W.; The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals; *Food Chem.* **64**, 555-559 (1999).
- [14] Dewanto V., Wu X., Adom K. K. and Liu R.H.; Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity; *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3010-3014 (2002).
- [15] Sadashivam S. and Manickam A.; Phenolics. *Biochemical Methods*. New age international (P) publishers, (New Delhi), 195-197 (2004).
- [16] Prieto P., Pineda M. and Aguilar M.; Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E1; *Analytical Biochemistry* **269**, 337–341 (1999).
- [17] Williams W. B., Cuvelier M. E. and Berset C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft und- technologie, Lebensmittel - Wissenschaft und technologie* **28**, 25–30 (1995).
- [18] Kulisic T., Radonic A., Katalinic V. and Milos M.; Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil; *Food Chem.* **85**, 633–640 (2004).
- [19] Miller N. J. and Rice-Evans C.; Spectrophotometric determination of antioxidant activity; *Redox Report.* **2**(3), 161–171 (1996).

- [20] Sun T. and Ho C-H.; Antioxidant activities of buckwheat extracts; *Food Chem.* **90**, 743-749 (2005).
- [21] Sun T., Powers J. R. and Tang J.; Evaluation of the antioxidant activity of asparagus broccoli and their juices; *Food Chem.* **105**, 101-106 (2007).
- [22] Benhammou N.; Atik Bekkara F. and Kadifkova Panovska T.; Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*; *C. R. Chimie* **12**, 1259–1266 (2009).
- [23] Bano M. J., Lorente J., Castillo J., Benavente-Garcia O., Rio J. A., Otuno A., Quirin K. W., Gerard D.; *J. Agric. Food Chem.* **51**, 4247 (2003).
- [24] Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C.; *C. R. Biol.* **331**, 372 (2008).
- [25] Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdelly C.; Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes; *C. R. Biol.* **331**, 865- 873 (2008).
- [26] Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M. and Hamdi M.; The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts; *Food Chem.* **105**, 1126-1134 (2007).
- [27] El-Waziry A.M.; Nutritive value assessment of ensiling or mixing *Acacia* and *Atriplex* using in vitro gas production technique; *Res. J. Agric. Biol. Sci.* **3**(6): 605-614.
- [28] Atmani D.; Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants; *Food Chem.* **112**, 303–309 (2009).
- [29] Bakchiche Boulanouar, Gherib Abdelaziz, Smail Aazzab, Custódia Gago, M. Grac,a Miguel; Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils; *Industrial Crops and Products* **46**, 85–96 (2013).
- [30] Bylka W., Stobiecki M. and Frahski R.; Sulphated flavonoid glycosides from leaves of *Atriplex hortensis*; *Acta Physiol. Plant* **23** (3): 285-290 (2001).
- [31] Bylka W.; A new acylated flavonol diglycoside from *Atriplex littoralis*; *Acta. Physiol. Plant* **26**(4), 393-398 (2004).
- [32] Prosper-Cabral N. B., Gabriel A. A., Julius E. O. and Jeanne Y. N.; Phytochemical studies and antioxidant properties of four medicinal plants used in Cameroon, Afr.; *J. Trad. CAM*, Vol. **4**, N° 4, 495 – 500 (2007).
- [33] Marfak A.; Radiolyse gamma des flavonoïdes : étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides; Thèse de doctorat de l'université de Limoges, 30-40 (2003).