
Soumis le : 01 Avril 2012

Forme révisée acceptée le : 21 Décembre 2012

Email de l'auteur correspondant :

bougandouranabila@yahoo.fr

Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq.

Nabila BOUGANDOURA*, Nassima BENDIMERAD*

**Laboratoire des Produits Naturels, Université Abou Bakr Belkaid, BP 119, Tlemcen 13000, Algérie*

Résumé

Satureja calamintha ssp. nepeta (L.) Briq. connue sous le nom vernaculaire « nabta » est une plante médicinale de la famille des Lamiaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne et comme condiment alimentaire. Dans le présent travail deux extraits ont été préparés, à partir des feuilles de cette plante : l'un organique méthanolique et l'autre aqueux. Les rendements en extraits brutes secs sont de l'ordre de 8,58% et 22,19% respectivement. L'estimation quantitative des flavonoïdes et des phénols totaux par la méthode colorimétrique a montré que les extraits sont riches en ces composés. L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer FRAP a indiqué que les extraits aqueux ont montré une bonne activité antioxydante supérieure à 90% à la concentration 4,62mg/ml. D'autre part, le test de FRAP a révélé que l'extrait méthanolique a un pouvoir réducteur plus élevé que celui de l'extrait aqueux mais relativement faible que celui de l'acide ascorbique.

Mots clés : *Satureja calamintha ssp. nepeta* (L.) Briq., flavonoïdes, activité antioxydante, Polyphénols.

Abstract

Satureja calamintha ssp. nepeta (L.) Briq. (Lamiaceae) commonly called nabta is used in traditional Algerian medicine and as condiments. In the present study, two dry extracts were prepared from the leaves of this species: the first one is methanolic and the second is aqueous. Yields are respectively 8,58% and 22,19%. Quantitative estimation of total phenol and flavonoid content by a colorimetric assay showed that the aqueous and methanol extracts are rich in these components. Assessment in vitro antioxidant activity using a 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay and reductive power showed that the aqueous extract exhibited good antioxidant activity with 90% inhibition rate at 4,62mg/ml by the DPPH method. The methanol extract showed the greatest capability in reducing power than the aqueous extract. However, this activity is less inferior to ascorbic acid (positive control).

Key words: *Satureja calamintha ssp. nepeta* (L.) Briq., flavonoïdes, antioxidant activity, Polyphenols.

1. Introduction

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées [1,2]. 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 [3]. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires [9]; ils sont également

utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [1].

Des recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales [5,6,7].

Le genre *Satureja* appartenant à la famille des Lamiacées, comporte 200 espèces qui sont largement répandues dans les régions méditerranéennes, Sud-ouest de l'Asie et d'Amérique [8]. La sarriette qui est une plante médicinale et culinaire peut également être cultivée comme plante ornementale. En effet, le terme « *Satureja* » vient du mot latin "*satura*" c'est-à-dire pot à fleur (ornemental) [9]. Elle jouit d'une grande faveur

populaire en Algérie et au Maroc comme remède contre la toux, l'indigestion et les infections respiratoires bénignes [10]. Cette plante expectorante, stomachique, tonique [11] possède des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et carminatives [12,13]. Les espèces de *Satureja* sont utilisées également comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums [14].

Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'espèce *Satureja calamintha ssp. nepeta* (L.) Briq. (Syn : *Calamintha nepeta*), qui pousse spontanément dans la région de Tlemcen, en particulier dans les montagnes jusqu'à 1500 mètres d'altitude [15]. L'espèce *Satureja calamintha* est une petite plante vivace au parfum mentholé qui ne dépasse pas 40 cm de haut. Les tiges molles et velues, portent des feuilles opposées, à pétiole moyen, légèrement dentées. Les fleurs, visibles de juillet à octobre, sont d'un joli rose ou pourpres [11].

Plusieurs travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja* dont les auteurs avancent la présence des huiles essentielles [16, 17, 18], des flavonoïdes [19], des tanins, des acides phénols (acide rosmarinique, acide cafeïque) et des saponines [9]. Les études menées sur l'espèce *Satureja calamintha* rapportent que l'huile essentielle de cette plante a une activité antibactérienne [20] et antifongique [13]. Toutefois, l'étude de l'activité antioxydante des extraits bruts issus de l'espèce *Satureja calamintha* n'a jamais été réalisée.

Notre étude vise à évaluer *in vitro* l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et aqueux selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer FRAP.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Préparation du matériel végétal

L'espèce *Satureja calamintha* a été récoltée en octobre 2009 dans la région de Tlemcen (Algérie). Les feuilles de la plante sont ensuite séchées, broyées et conservées dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et l'humidité pour des analyses ultérieures.

2.2. Préparation des extraits méthanoliques

Une prise d'essai de 2,5g de poudre des feuilles a été mise à macérer dans 25ml de méthanol absolu sous agitation magnétique pendant 30min. L'extrait a ensuite été stocké à 4°C durant 24 h, filtré et le solvant évaporé à sec sous pression réduite à 50°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R- 200) [21].

2.3. Préparation des extraits aqueux

10g de poudre des feuilles dissous dans 150ml d'eau distillée ont été chauffés à reflux pendant 2h, Après

filtration à froid ; ce filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à 65°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R- 200) [22].

2.4. Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu [23].

Une quantité de 200µl de l'extrait est mélangée avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5% (Na₂CO₃). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par g de matière végétale sèche.

2.5. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium [24]. Une quantité de 100µl de l'extrait a été mélangée avec 0,4ml d'eau distillée et par la suite avec 0,03ml d'une solution de nitrite de sodium NaNO₂ à 5%. Après 5min, 0,02ml d'une solution d'AlCl₃ à 10% a été ajouté. On additionne au mélange 0,2ml de solution de Na₂CO₃ 1M et 0,25ml d'eau distillée après 5 min de repos. L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de catéchine par g de matière végétale sèche.

2.6. Activité antioxydante

Test de piégeage du radical libre DPPH : Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH [25]. 50µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (de 0,0125 à 5mg/ml) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) .

$$I\% = \left[\frac{(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{test}})}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Les valeurs de l'EC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

Test de la réduction du fer FRAP : Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu [26].

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5 mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%.

L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Un aliquote (2,5 ml) de surnageant est combinée avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés [23].

3. Résultats et Discussion

3.1. Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes

La détermination des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les deux extraits de *Satureja calamintha* a été faite en utilisant séparément les méthodes colorimétriques (Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium (AlCl_3)). La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait a été rapportée en mg équivalent d'acide gallique/g du matériel végétal sec. Les résultats montrent que l'extrait aqueux a une forte teneur en phénols totaux ($12,6 \pm 0,775$ mg/g) par rapport à celle de l'extrait

méthanolique ($2,968 \pm 0,809$) (Tableau 1). La teneur en flavonoïdes déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium pour chaque extrait a été rapportée en mg équivalent de catéchine/g du matériel végétal sec. Les résultats révèlent que les deux extraits présentent des teneurs modérées (Tableau 1). En se basant sur ces données, on peut déduire que les flavonoïdes représentent 43,24% des phénols totaux dans l'extrait méthanolique. Ce taux ne dépasse pas 24,84% dans l'extrait aqueux.

Tableau 1

Rendement (%), teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits de *S. calamintha*

Extraits	Rendement (%)	Teneur en phénols totaux	Teneur en flavonoïdes
Méthanolique	8,58%	$2,968 \pm 0,809$	$1,280 \pm 0,077$
Aqueux	22,19%	$12,6 \pm 0,775$	$3,131 \pm 0,154$

Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions \pm écart type

3.2. Activité antioxydante

Test de piégeage du radical libre DPPH : L'activité antioxydante des extraits méthanoliques et aqueux de *Satureja calamintha* et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH^\bullet) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires [22].

Les résultats du pouvoir antioxydant des extraits testés montrent que le pourcentage d'inhibition des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* est supérieur à 90% à des concentrations de l'ordre de 4,624 et 5,0 mg/ml respectivement pour les extraits aqueux et les extraits méthanoliques (Fig. 1a, 1b, 1c).

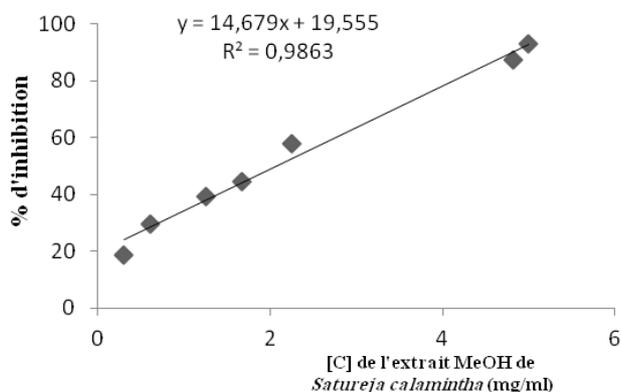


Fig. 1a : % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait

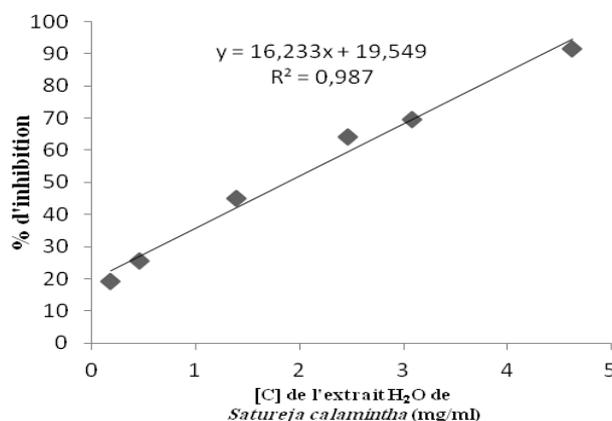


Fig. 1.b : % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux

méthanolique

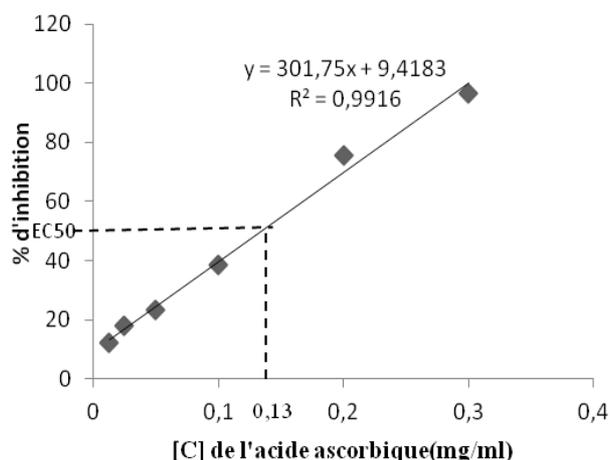
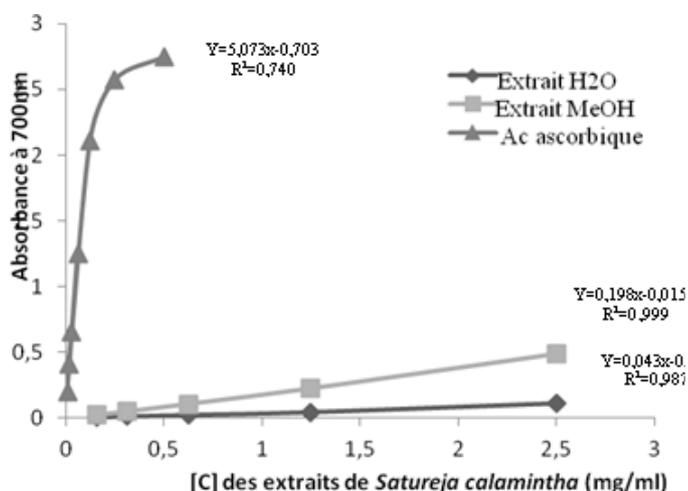


Fig.1.c : % d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique


 Fig.2 Pouvoir réducteur des extraits de *S. calamintha* et de l'acide ascorbique

Les valeurs EC50 déterminées en mg/ml exprimant la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH en dissolution dans du méthanol (Tableau 2).

Tableau 2

Résultat du test Antioxydant exprimant la concentration efficace 50% en mg/ml

Extraits/Standard	EC50±Ecart type
Méthanolique	2,075±0,208
Aqueux	1,876±0,334
Acide ascorbique	0,134±0,030

Selon les résultats enregistrés, les extraits aqueux et méthanolique sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré, leur EC50 respective est de 1,876 et 2,075 mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,134mg/ml.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène [16]. Les polyphénols contenus dans les extraits de *S. calamintha* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. Cela est en accord avec les travaux menés sur les extraits de *S. montana* L. subsp. *Kitaibelii* récoltée dans la région de Sibérie, espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydante et antimicrobienne [27].

Test de la réduction du fer FRAP : L'activité antioxydante des extraits méthanolique et aqueux de *Satureja calamintha* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible [28]. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux [29].

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm [30].

En d'autre terme, le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi-quantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction rédox [31]

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dose dépendante (concentration dépendante). A la concentration de 2,5mg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Satureja calamintha* est largement supérieur (DO=0,484) par rapport à l'extrait aqueux, mais nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique (Fig.2).

Le pouvoir réducteur de l'espèce *Satureja calamintha* est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants [32].

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un

indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle [33, 34]

4. Conclusion

L'étude de l'activité antioxydante des extraits issus de l'espèce *Satureja calamintha* selon la méthode de la réduction du fer et celle du piégeage du radical libre DPPH a montré que les deux extraits méthanoliques et aqueux possèdent une activité antioxydante modérée. Ces extraits pourraient donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques. Cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique, mais il s'agit d'extraits bruts contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc très probable qu'ils contiennent des composés qui, une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de l'acide ascorbique. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants.

Remerciements

Nous remercions sincèrement le professeur BENABADJI N. du laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen pour l'identification de la plante étudiée.

Références

- [1] Suhaj, M., 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 531–537.
- [2] Tadhani, M.B., Patel, V.H., et Subhash, R., 2007. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20, 323-329.
- [3] Koechlin-Ramonatxo C. (2006) Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolique*. 20, 165-177.
- [4] Dugas A. J., Castaneda-Acosta J. Bonin G.C, Price K.H. Fisches N.H. et Winston G.W. (2000). Evaluation of the total peroxyl radical scavenging capacity of flavonoids: structure activity relationships. *Journal of Natural product*. 63, 31-327
- [5] Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 1841-1856.
- [6] Marc Fr., Davin A., Deglène-Benbrahim L., et Ferrand C. (2004) Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit, M/S: médecine sciences*. 20(4), 458-463.
- [7] Sanchez-Moreno C. (2002) Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*. 8(3), 121-137.
- [8] Ayla K., Fatih S. et Fatih G. (2009) Nutlet surface micromorphology of Turkish *Satureja* (Lamiaceae). *Biologia* 64(5), 902—907.
- [9] Vârban D.I., Duda M., Vârban R., et Muntean S. (2009) Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*. 66(2), 225- 229.
- [10] Padrini F., et Lucheron M. T. (1996). Le grand livre des huiles essentielles Guide pratique pour retrouver vitalité bien être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétique avec plus de 100 photographies. Ed. De Vecchi. 15p.
- [11] Baba Aïssa F. (2000) Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba. 46p.
- [12] Lamendin H. (2007) Soignez votre bouche par les plantes : remède d'hier et aujourd'hui. 5ème Ed. L'Harmattan. Paris. 34p.
- [13] Perrucci S., Mancianti F., Cioni P.L., Flamini G., Morelli I., et Macchioni G. (1994). In vitro antifungal activity of essential oils against some isolated of *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*. *Planta Medica*. 60, 184-187.
- [14] Chiej R. (1984) Macdonald encyclopedia of medicinal plants. Ed Macdonald. London. 212p.
- [15] Quezel P., et Santa S. (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 788p.
- [16] De Pooter H.L. et Schamp N. (1986). Comparaison of the volatiles composition of some *Calamintha satureja* species. In : Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 139-150p.
- [17] Perez-Alonso M.J., Velasco-Neguerula A., et Lopez Saez J.A. (1993). The volatiles of two *Calamintha* species growing in Spain, *Calamintha nepeta* (L.) Savi. *Acta horticulturae*. 333, 255-260.
- [18] Ristorecelli D., Tomi F., et Casanova J. (1996). Essential oils of *calamintha nepeta* subsp *nepeta* and subsp. *Glandulosa* from Corsica (France). *Journal of Essential oil Research*. 8, 363- 366.
- [19] Ildiko B., Maria-Loredana S., Dominca R., Simona et Codruta C. (2009). HPTLC quantification of some flavonoids in extracts of *Satureja hortensis* L. obtained by use of different techniques. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. 22(1), 25-28.
- [20] Panizzi L., Flamini G., Gioni P. L. Moreli I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*. 39, 167-170.
- [21] Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., et Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compte Rendu de Biologie*. 331, 372-379.
- [22] Majhenic L., Kergel M.S., et Knez Z. (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104, 1258–1268.
- [23] Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. 16, 144-153.
- [24] Kim D.O., Chun O.K., Kim Y. J., Moon H.Y., et Lee C.Y. (2003) Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51(22), 6509-6515.
- [25] Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., et Saura-calixto F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Science Technology International*. 8, 121-137.
- [26] Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44, 307–315.
- [27] Četković G.S., Čanadanović-Brunet J., Djilas S.M., Tumbas V.T., Markov S.L., et Cetković D.D. (2007) Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*. 8(10), 1013-1027.
- [28] Benzie I.F.F. et Strain J.J. (1996) The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70– 76.

- [29] Li H-B. , Wong C-C., et Cheng K-W., Feng C. (2008) Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology*. 41(3), 385–390.
- [30] Chung Y-C., Chang C-T., Chao W-W., Lin C-F., et Chou S-T. (2002) Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 2454–2458.
- [31] Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., et Weil J.A.(2004) Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84, 551–562.
- [32] Siddhuraju P. et Becker K. (2007) The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*. 101(1), 10-19.
- [33] Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., et Lee S.C. (2004) Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52, 3389–3393.
- [34] Kumaran, A. et Karunakaran, R.J.(2007) In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 40, 344–352.