

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHESCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

**Etude de la teneur et l'activité antioxydante
d'extraits phénoliques de fruits, de feuilles et de
galles de *Pistacia atlantica* Desf. de deux sites
différents de Laghouat**

Présenté par : MARFOUA Fatima

Devant le jury :

RAHMANI Fatima

Président : YOUSFI Mohamed

Rapporteur : GUENANE Hamid

Examinatrice : NEBEG Halima

Soutenu publiquement le : 01/07/2019

Remerciement

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été effectués au laboratoire de recherche univercité amar Thelidji. Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur YOUSFI Mohamed, le directeur du laboratoire de recherche, pour avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de jury. Qu'il trouve ici mes sincères impressions de gratitude et de respect. l'université Amar Telidji de Laghouat, de nous avoir accueilli dans son laboratoire.

Nous remercions tous les membres du Laboratoire de recherche également Monsieur Guenan Hamid, d'avoir accepté d'encadrer notre modeste contribution et nous n'oublions le soutien et les conseils du Melle Chelghoum Manal.

Notre remerciements vont aussi à Madame NEBEG Halima, Maître assistante à l'université de Laghouat, d'avoir ménagé son temps pour juger et critiquer ce travail. Nous sommes particulièrement reconnaissants et honoré par sa participation au jury de cette thèse.

Mes chaleureux remerciements s'adressent toute personne, de près ou de loin ayant fourni la moindre aide pour que cette mémoire se concrétise.

Nous s'adressons tous membres de notre famille. Nos parents, nos enfants, nos frères et Nos sœurs. Qui nous encouragé durant cette étude.

Sommaire

	Pages
Résumé.....	I
Liste des tableaux	II
Listes des figures.	III
Liste des abréviations	IV
Introduction générale	01

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la plante étudiée

I.1	Description du genre <i>Pistacia</i>	03
I.2	Systématique	04
I.3	Caractéristiques botaniques du <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	04
I.4	Utilisations de l'arbre.....	06
I.5	Travaux antérieurs sur <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	07

Chapitre II : les composés phénoliques

II.1	Généralité sur les composés phénoliques	08
II.2	Structure et classification des composés phénoliques	08
II.2.1	Les composés non flavonoïdes.....	08
II.2.2	Les composés flavonoïdes	10
II.3	Biogenèse et diversité.....	12
II.4	Propriétés physicochimiques des polyphénols.....	13
II.5	Propriétés bénéfiques des composés phénoliques	14

Chapitre III : Activité antioxydant

III.1	Généralités.....	16
III.2	Stress oxydant	16
III.3	Les radicaux libres.....	17
III.4	Les antioxydants	18
III.4.1	Classification d'antioxydants	19
III.4.1.1	Les antioxydants endogènes.....	19
III.4.1.2	Les antioxydants exogènes	21
III.4.2	Principaux antioxydants	23

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Méthodes d'études

I.1	Matériel et méthodes	25
I.1.1	Appareillages et produits chimiques	25
I.1.2	Matériel végétal.....	25
I.1.3	Données climatiques des stations météorologiques des deux régions	26
I.1.4	Préparation des échantillons.....	26
I.2	Méthodes	27
I.2.1	Calcul des rendements d'extraction en extraits phénolique.....	28
I.2.2	Analyse quantitative des polyphénols	28
I.2.2.1	Dosage des phénols totaux.....	28
I.2.2.2	Dosage de flavonoïdes	29
I.2.2.3	Dosage des tanins	30
I.2.2.4	Test du DPPH	31
I.2.2.5	Test de FRAP.....	32
I.3	Analyse statistique des donnés.....	33

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1	Rendement d'extraction.....	34
II.2	Dosage des composés phénolique	35
II.3	Dosage des flavonoïdes.....	37
II.4	Dosage des tannins	39
II.5	Evaluation du pouvoir antioxydant.....	41
II.5.1	Piégeage du radical libre DPPH	41
II.5.2	Test FRAP.....	43
II.6	Analyse des composantes principales (ACP) pour les différents paramètres	45
II.6.1	Echantillons de feuilles	45
II.6.2	Echantillons de fruits immatures et à maturité intermédiaire	47
II.6.3	Echantillons de fruits immatures.....	48
II.6.4	Echantillons de galles.....	49
	Conclusion générale.....	50
	Références Bibliographiques	53
	Annexe.....	60

ملخص:

في هذه الدراسة، تم استخراج المستخلصات الفينولية بواسطة الميثانول من أوراق وثمار وعص الفستق الاطلسي من موقعين مختلفين في الأغواط : افلو (الغيشة) وحاسي رمل (تيلغيمت) تم تحديد عائد الاستخراج، ومحتويات الفينولات الكلية، ومحتويات الفلافونويدات والتانينات. كما تم تقييم مقتطف النشاط المضاد للأكسدة (بواسطة FRAP و DPPH). تظهر نتائجنا قيمًا متغيرة وفقًا لتغير العضو النباتي من ناحية، ووفقًا لعدة عوامل (المناخ، درجة نضج الثمار، ...) من ناحية أخرى. فيما يتعلق بعائد الاستخراج، تم تسجيل أعلى قيمة لمستخلصات عصف الغيشة ($8,98 \pm 40,52$ %)، فيما يتعلق بمجموع الفينولات، سجلت أعلى قيمة للمستخلصات الفينولية من أوراق ($734,71 \pm 183,60$ ملغ / غ) وللمحتوى من التانين تم الإبلاغ عنه لأول مرة، وهي أعلى قيمة لمستخلصات العفص ($677,57 \pm 149,99$ ملغ / غ) لمنطقة الغيشة. مقتطفات الأوراق لها أفضل نشاط مضاد للأكسدة حيث يتم تسجيل أعلى قيمة في عينة تلغيمت، لم نلاحظ أي اختلافات كبيرة لجميع المعلمات بين الموقعين. ومع ذلك، تم الحصول على مجموعات منفصلة بعد ACP عينات من الأوراق التي تقدم فيها عينات تلغيمت، ويبدو أن العفص الدائري سيكون له خصائص خاصة به. سيساعد عملنا على فهم تأثير العوامل البيئية بشكل أفضل على المستخلصات الفينولية.

الكلمات المفتاحية: الفستق الاطلسي، مجموع الفينولات، الفلافونويد، العفص، الأوراق، ثمار ودرجة النضوج، نشاط مضاد للأكسدة ACP.

Résumé :

Dans cette étude, des extraits phénoliques ont été extraits, par le méthanol pur, des feuilles, des fruits et des galls de *Pistacia atlantica* Desf, de deux sites différents à Laghouat: Aflou (El Ghicha) et Hassi'Rmel (Tilghimet). Le rendement de l'extraction, les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins ont été déterminés. L'activité antioxydante (par DPPH et FRAP) des extraits a été également évaluée. Nos résultats montrent des valeurs variables selon la variation de l'organe végétatif d'une part, et selon plusieurs facteurs (Climat, degré de maturité des fruits,...) de l'autre part. Concernant le rendement d'extraction, la valeur la plus élevée a été enregistrée pour les extraits de galls de El Ghicha ($40,52 \pm 8,98$ %), pour les phénols totaux la valeur la plus élevée a été enregistrée pour les extraits de feuilles de Telghimet ($734,71 \pm 183,60$ mg EAG/g MS) et pour la teneur en tanins rapporté pour la premier fois, la valeur la plus élevée de l'extraits de galls d'El Ghicha ($677,57 \pm 149,99$ mgEC/gMS). Les extraits de feuilles de Telghimet ont la meilleure activité antioxydante. Nous n'avons pas observé des différences significatives pour l'ensemble des paramètres entre les deux sites. Toute fois, des groupes distincts ont été obtenus par ACP. Selon certain paramètres. Il semblerait avoir un effet sur la teneur et l'activité des extraits phénoliques. Il semble également que la galle circulaire aurait des propriétés qui leur sont propre. Notre travail contribuera à mieux connaître l'impact des facteurs environnementaux sur les extraits phénoliques.

Mots clés: *Pistacia atlantica*, phénols totaux, flavonoïdes, tanins, feuilles, fruits avec degré de maturation, galls, activité antioxydante ACP.

Abstract

In this study, phenolic extracts were extracted by methanol from the leaves, fruits and galls of *Pistacia atlantica* Desf from two different regions in Laghouat (Algeria) : Aflou (El Ghicha) and Hassi R'mel (Tilghimet). Extraction yield, total phenol, flavonoid and tannin contents were determined. Antioxidant activity (by DPPH and FRAP) extracts was also evaluated. Our results show variable values according to the variation of the vegetative organ, on the one hand, and according to several factors (climate, degree of maturity of the fruits, ...) on the other hand. Regarding the extraction yield, the highest value was recorded for El Ghicha gall extracts ($40.52 \pm 8.98\%$), for the total phenols the highest value was recorded in the leaf extracts of Tilghimet (734.71 ± 183.60 mg EAG / g MS) and for the tannin content was reported for the first time, the highest value of the El Ghicha gall extracts (677.57 ± 149.99 mgEC / gMS), leaf extracts have the best antioxidant activity where the highest value is recorded in the Tilghimet samples. Also, through this work, we did not observe any significant differences for all parameters between the two regions. However, separate groups were obtained after ACP. Samples of the leaves where the Tilghemet samples present the parameters. It seems that the circular galls have properties of their own. Our work will help to better understand the impact of environmental factors on phenolic extracts.

Key words : *Pistacia atlantica*, total phenols, flavonoids, tannins, leaves, ripening fruit, galls, antioxidant activity ACP.

Liste des tableaux

Tableau 1	Activités biologiques des composés phénoliques.	15
Tableau 2	Principaux antioxydants exogènes et sources alimentaires associées.	21
Tableau 3	Caractéristiques géographiques des 2 sites Aflou et Telghimet.	25
Tableau 4	Données climatiques de l'année 2018 enregistrées au niveau des stations météorologiques de Hassi R'mel et Aflou.	26
Tableau 5	les abréviations de chaque échantillon.	26
Tableau 6	Teneurs en phénol totaux et en flavonoïdes pour les échantillons testés.	39
Tableau 7	Matrice de corrélation de Pearson pour les différents paramètres (feuilles).	46
Tableau 8	Matrice de corrélation de Pearson pour les différents paramètres (fruits immatures et à maturité intermédiaire).	48
Tableau 9	Matrice de corrélation de Pearson pour les différents paramètres (fruits matures).	49

Liste des figures

	Pages
Partie I : Synthèse bibliographique	
Figure I.1	Photographie illustrant l'Arbre du Pistachier de l'Atlas (<i>Pistacia atlantica</i>) 4
Figure I.2	Photos prises montrant les fruits (à différents degrés de maturité), les gales et les feuilles du Pistachier de l'Atlas (Photos originales) 7
Figure II.1	Les dérivés de l'acide p-hydroxybenzoïque 9
Figure II.2	Les acides hydroxycinnamiques 10
Figure II.3	Structures chimiques de stilbènes 10
Figure II.4	Structure de base des flavonoïdes : la phényl-2 benzopyrone 11
Figure II.5	Structure de base des anthocyanes 11
Figure II.6	Structure des tanins hydrolysables 12
Figure II.7	Tanins condensés 12
Figure II.8	Voies biogénétiques des métabolites primaires et secondaires. 13
Figure II.9	Biosynthèse des flavonoïdes : exemple des flavones 14
Figure II.10	Schéma de la propriété hydro/lipo-solubilité d'hespéridine 14
Figure II.11	Noyaux catéchols, pyrogallols, et Fe, Cu, Al... 15
Figure III.1	Déséquilibre Antioxydant /Oxydant . 16
Figure III.2	Origines des différents radicaux libres oxygènes et espèces réactives de l'oxygène impliqués en Biologie. 17
Figure III.3	Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène. 18
Figure III.4	Action de l'antioxydant au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène 19
Figure III.5	Structure chimique d' α -tocophérol . 22

Figure III.6	Structure chimique Acide ascorbique (Vitamine C)	22
---------------------	--	----

Partie II : expérimentale

Figure I.1	La carte géographique des deux régions de la Wilaya de Laghouat (Hassi R'mel et Aflou google Maps	25
Figure I.2	Diagramme représentant les grandes lignes de nos études	27
Figure I.3	Les réactions de condensation de la vanilline avec un leucocyanidin.	30
Figure I.4	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH .	31
Figure I.5	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).	32
Figure II.1	Les moyennes des rendements d'extraction des différentes parties de <i>Pistacia atlantica</i> des deux sites.	34
Figure II.2	Droite d'étalonnage de l'acide gallique	35
Figure II.3	Les moyennes des teneurs en phénols totaux pour les trois parties de <i>Pistacia atlantica</i> des deux sites.	36
Figure II.4	Droite d'étalonnage de la quercitine	37
Figure II.5	Les moyennes des teneurs en flavonoïdes pour les différentes parties de <i>Pistacia atlantica</i> des deux sites.	38
Figure II.6	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.	39
Figure II.7	Les moyennes des teneurs en tannins pour les différentes parties de <i>Pistacia atlantica</i> des deux sites	30
Figure II.8	La courbe d'étalonnage de la vitamine C.	41
Figure II.9	Valeur moyennes des EC50 obtenus pour les différents extraits des deux sites déterminées par le test DPPH.	42
Figure II.10	La courbe d'étalonnage de la vitamine C	43
Figure II.11	Valeurs moyennes de la capacité équivalente (test FRAP) pour les différents extraits des deux sites	44
Figure II.12	ACP des extraits phénoliques des tourteaux des feuilles des deux sites.	45
Figure II.13	ACP des extraits phénoliques des tourteaux des fruits immatures et à maturité intermédiaire des deux sites	47
Figure II.14	ACP des extraits phénoliques des tourteaux des fruits immatures et à maturité intermédiaire des deux sites	48
Figure II.15	ACP des extraits phénoliques des tourteaux des galles des deux sites	48

Liste des Abréviations

Abs : Absorbance.

ACP: L'analyse des composantes principales.

DPPH : le radical stable [2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl].

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EC₅₀ : concentration effective à 50%.

EQ : Equivalent de quercitine.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

HPLC: chromatographie liquide à haut performance.

NO[•] : Monoxyde d'azote.

O₂^{•-} : Anion superoxyde .

OH[•]: Radical hydroxyle.

TPTZ : un complexe tripyridyltriazine ferrique.

UV : ultra-violet.

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes médicinales restent toujours la source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs. Ces molécules sont très recherchées dans le domaine de la médecine traditionnelle et dans le domaine alimentaire pour les populations locales.

Les espèces du genre *Pistacia* occupent une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique depuis l'antiquité. Elles attirent l'attention des chercheurs grâce à ces potentiels antioxydants et ces activités antimicrobienne, anti-inflammatoire, antipyrétique, antidiabétique, antiradicalaire et cytotoxique (**Topçu et al., 2007**).

De par sa diversité édapho-bioclimatique, notre pays se caractérise par une végétation naturelle très diversifiée (plantes médicinales et aromatiques) et pratiquement inexploitée. La conservation, la valorisation et le développement de cette flore et plus particulièrement les espèces en voie de disparition et localisées dans les étages semi arides et arides, devraient être une priorité des autorités administratives et scientifiques de notre pays.

Le Pistachier d'atlas est l'un des arbres qui s'accommodent de l'étage climatique aride et peuvent vivre dans les conditions écologiques les plus sévères. Ceci est argumenté par sa rusticité, par la caducité de ces feuilles qui produisent de bons sols forestiers, par sa résistance à la sécheresse et par ses faibles exigences pluviométriques.

Les activités biologiques d'extraits de plantes sont dues à des molécules bioactives dont le niveau quantitatif ainsi que l'activité pourraient être influencés par des facteurs multiples tels que le degré de maturation des fruits, l'emplacement géographique de la plante et la variation de saisons. Les facteurs environnementaux sembleraient avoir un effet marqué sur la composition et l'activité d'extraits lipidiques et phénoliques obtenus à partir de fruits, de feuilles et de galles du Pistachier de l'Atlas (**Guersas, 2018**).

Dans ce présent travail, qui est une continuité logique de ce qui a été initié par M. Guersas, nous nous proposons d'étudier des extraits phénoliques obtenus à partir de fruits, de feuilles et de galles d'arbres *Pistacia atlantica* poussant dans deux régions à conditions environnementales différentes (Telghimt et Aflou). Ainsi, nous nous intéressons aux phénols totaux, aux flavonoïdes et à l'activité antioxydante (DPPH et FRAP). En outre, nous avons jugé important de déterminer les teneurs des tanins. Cette étude, de par le

nombre d'arbres impliqués, permettrait de mieux comprendre l'impact des conditions environnementales ainsi que celui des facteurs propres à la saison.

A travers cette étude, nous commençons par donner quelques connaissances bibliographiques concernant la plante étudiée, les composés phénoliques et un survol sur oxydants et antioxydants. Dans la partie expérimentale, nous présentons la démarche expérimentale adoptée suivie de la partie résultats et discussion où nous présentons et discutons nos résultats. L'analyse des composantes principales (ACP) nous permettra de déterminer d'éventuels groupes distincts selon les paramètres étudiés et l'emplacement géographiques des arbres.

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Généralité sur la

plante étudiée

I. 1. Description du genre *Pistacia*

Le genre *Pistacia* est principalement un genre subtropical et comprend onze espèces, dont certains sont de grande importance économique et culturelle (**Zohary, 1952**). Les espèces sauvages jouent un rôle important dans la culture de variétés de pistaches qu'ils fournissent, parmi elles, *Pistacia atlantica* Desf. qui est l'une des espèces les plus importantes des porte-greffes (**Ghaffari et al., 2003**).

Cet arbre (*Pistacia atlantica* Desf.) est une espèce arborée s'appelle *tismelal*, Egegh en langue berbère et *b'toum* est un nom collectif. Au singulier on dit *EL botma* et *el botmaia* pousse dans les zones arides et semi-arides (**Manjauze, 1968**). LE nom commun de cette espèce se rapporte aux montagnes d'Atlas où cette espèce se développe. Cet arbre est généralement connu comme pistache sauvage, faux pistachier. En Algérie, le *Pistacia atlantica* est trouvé en association avec *Zizphus lotus* qui protège ces nouvelles plantes contre les animaux et les vents violents (**Belhadj, 2003**).



Figure I.1 : photographie illustrant l'Arbre du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) (Photo prise par **Guenane 2009**)

I. 2. Systématique

Selon les données rapportées par la littérature (**Zohary, 1952 ; Harfouche *et al.*, 2005 ; Thorne et Reveal, 2007 ; Al-Saghir et Porter, 2012**), *Pistacia atlantica* Desf. est classé taxonomiquement de la façon suivante :

- **Règne:** Végétal.
- **Sous-règne:** Viridiplantae.
- **Embranchement:** Phanerogames.
- **Sous-embranchement:** Angiospermes.
- **Classe:** Dicotyledones.
- **Ordre:** Sapindales.
- **Famille:** Anacardiacees.
- **Genre :** *Pistacia*.
- **Espèce :** *Pistacia atlantica* Desf.

I. 3. Caractéristiques botaniques du *Pistacia atlantica* Desf. (Monjauze, 1980 ; Yaaqobi *et al.*, 2009)

Nom commun : Pistachier.

Nom latin : *Pistacia atlantica* Desf. proche *Pistacia vera*, *Pistacia chinensis*.

Catégorie : Arbre dioïque.

Port : Arrondie à ramification étalée, jeune le rameau est rougeâtre.

Couleur : Vert brunâtre.

Hauteur : 10 à 25 mètre et 1m de diamètre avec une cime volumineuse et arrondie.

Plantation : A l'automne ou au printemps.

Multiplication : Par bouture.

Sol : Tous mais bien drainé.

Emplacement : Au soleil.

Pays d'origine : Méditerranée orientale (Crimée, Grèce et Turquie).

Entretien : Arroser pour augmenter la production, taillée pour faciliter la récolte.

Feuillage : Des feuilles Caduques, composé, imparipenné; 3 à 5 folioles ovales-acuminées, tomenteux puis coriace à l'âge adulte. Elles sont composées, stipulées, à rachis finement ailé et à folioles lancéolées obtuses au sommet. Les feuilles sont caduques et chutent en automne, elles sont de couleur vert pâle et sont imparipennées, glabres et sessiles.

Floraison : En été, en panicule de petites fleurs apétales (1 à 3) et (1 à 5) sépales. Pollinisation effectuée par le vent. Le Pistachier de l'Atlas a une inflorescence en grappe rameuse. La floraison qui apparaît juste avant la feuillaison débute la mi-mars. Les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents. Les fleurs sont petites en panicules axillaires et sont apétales. Ce sont des fleurs régulières avec une tendance à la zygomorphie.

Les fruits : Ce sont des drupes ovoïdes de 6 à 8 mm de long, d'abord jaunes puis vertes foncé à maturité, à un seul noyau osseux ne contenant qu'une graine. Les fruits gros comme un pois sont appelés ELkhodiri par les populations locales en raison de la prédominance de la couleur verte foncée, légèrement ovales quelque fois allongés à épiderme qui se ride en séchant sur un endocarpe induré mais très mince abritant deux cotylédons, récoltés en septembre-octobre.

Les galles : En Algérie, les galles de *P. atlantica* sont utilisées comme agent d'embaumement par les habitants des zones rurales. Ils sont également connus en arabe comme «Afse» et sont comestibles et vendu sur les marchés (Sifi *et al.*, 2015).

Des organismes parasites donnant naissance aux galles détournent les propriétés des plantes pour leur propre bénéfice. Les galles ont démontré qu'ils protégeaient leurs habitants des ennemis naturels tels que les prédateurs et les parasitoïdes en divers moyens chimiques et mécaniques. Beaucoup moins d'attention a toutefois été accordée à la possibilité de défense contre les agents pathogènes microbiens dans un environnement biliaire humide et riche en nutriments (Yoram *et Inbar*, 2011).

Les images de certains caractères botaniques de cette espèce sont rapportées dans la figure I.2 :



Figure I.2 : Photos prises montrant les fruits (à différents degrés de maturité), les gales et les feuilles du Pistachier de l'Atlas (Photos originales).

I.4. Utilisations de l'arbre

Cet arbre peut présenter plusieurs Utilisation :

❖ Utilisations Médicinales

Très utile comme Antiseptique, antifongique et dans des maladies abdominales (**Baba Aissa, 2000**).

❖ Utilisations nutritionnelle

Le fruit donne une excellente huile de table est obtenue à partir des graines qui contiennent environ 55% d'huile fibres (**Yousfi et al., 2003**).

❖ Utilisations locales

Les fruits (*El Khodiri*) de cet arbre sont usagés à des fins culinaires et médicinales. Ils sont riches en huile dense très énergétique, un goût très proche de celui du beurre. L'huile est souvent mélangée aux dattes écrasées et peut être consommée à toute heure de la journée avec du petit lait.

Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes. L'écorce de l'arbre produit une résine-mastic qui exsude naturellement de façon abondante par temps chaud. Les populations locales s'en servent pour usage médical. Le suintement du tronc donne l'encre rouge des tolbas, il est utilisé, également, pour la tannerie des peaux.

Jadis, l'arbre était abondant. L'arbre fournit un bois d'artisanat et toutes les espèces du Pistachier constituent un apport en fourrage considérable pour l'alimentation du bétail surtout en automne. Cette essence peut entrer dans le cadre de la lutte contre la désertification utilisée pour la fixation des dunes, comme brise vents (**Belhadj, 2003**).

I.5. Travaux antérieurs sur *Pistacia atlantica* Desf.

Il y a eu de nombreuses études sur l'arbre de l'Atlas par plusieurs auteurs et des résultats de valeur atteinte. Parmi les quelle, l'étude phytochimique des diverses parties de l'arbre de Pistachier de l'Atlas a été l'objet des études la composition du fruit en acides gras, en acides amines, en éléments minéraux et le dosage quantitatif des protéines, de l'amidon, de stéroïdes et des fibres (**Daneshard et al., 1980 ; Yousfi et al., 2002, 2003, 2005 ; Benamar et al., 2018**).

En outre, une étude plus récente sur les extraits phénoliques des différentes parties de l'arbre de Pistachier de l'Atlas à savoir: les feuilles, l'écorce, les racines, les gales et les fruits. Les résultats ont montré que les différents extraits sont riches en composés phénoliques et de contiennent des acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins. L'analyse de l'activité antioxydant de ces derniers et l'application des techniques spectrale ont permis de mettre en évidence de deux produits à structure phénolique responsable de cette activité (**Yousfi et al., 2008; Hatamnia et al., 2014; Benamar et al., 2018**).

Peu de travaux ont été consacré l'étude comparative des populations des *Pistacia atlantica*, on trouve l'analyse comparative de la micro-morphologie de l'épiderme des feuilles dans huit populations de *Pistacia atlantica* Desf. issues de différentes régions algériennes consacré qui montre l'existence d'un variabilité qui pourrait être due au condition écologiques (**Belhadj et al., 2007**).

Chapitre II :
Les composés
phénolique

II.1. Généralité sur les composés phénoliques

Les plantes possèdent des métabolites secondaires par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (**Li et al., 2008**).

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances ; ils sont en commune cycle aromatique au moins un groupement hydroxyle (**Chopra et al., 1986**). On les appelle indifféremment composé phénolique et polyphénols et comprennent essentiellement les phénols simples, et les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones. Les polyphénols sont présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent de deux voies synthétiques principales: la voie shikimate et acétate (**Lugasi et al., 2003**).

II.2. Structure et classification des composés phénoliques

II.2.1 Les composés non flavonoïdes

Les composés non flavonoïdes regroupent les acides phénoliques ainsi que les stilbènes. Ils ne possèdent pas de squelette «flavone».

➤ Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, composé d'un squelette de sept atomes de carbone (Figure II.1) (**Psotová et al., 2003**).

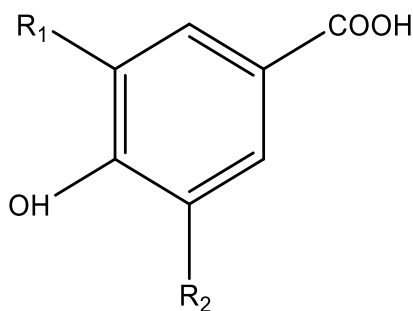


Figure II.1: Les dérivés de l'acide p-hydroxybenzoïque

D'autres composés phénoliques sont également présents, comme les dérivés d'esters hydroxy cinnamiques possédant une structure de type C₆-C₃ (Figure II.2) et qui sont très répandus dans les plantes supérieures, l'acide p-couramique étant le plus important (Manach *et al.*, 2004).

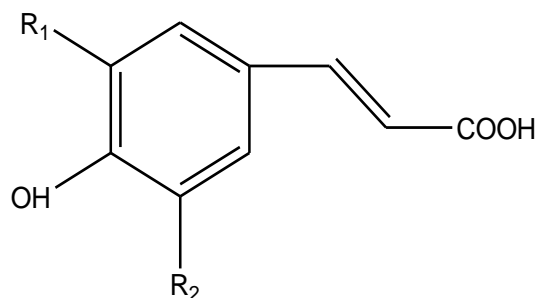


Figure II.2: Les acides hydroxycinnamiques

Parmi les acides hydroxycinnamiques estérifiés, l'acide chlorogénique, ester quinique de l'acide caféique. Ces acides abondant dans les aliments se présentent sous forme d'esters, soit solubles s'accumulant dans les vacuoles, ou bien insolubles comme constituants de la paroi cellulaire (Manach *et al.*, 2004).

➤ **Les stilbènes :**

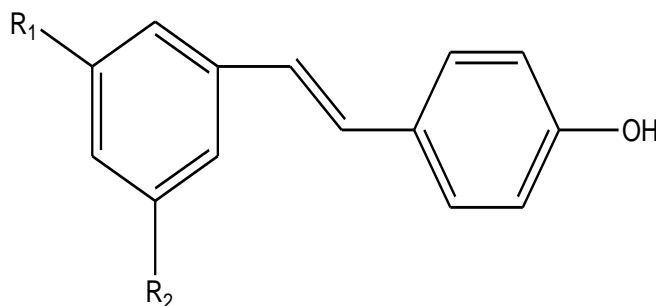


Figure II.3: Structures chimiques de stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, formant un système conjugué (FigureII. 3) (Bruneton, 1999). Les plus abondants dans les fruits sont le trans-resvératrol et son dérivé glucosylé : le picéide, ainsi que les dimères (Crozier *et al.*, 2006).

Les stilbènes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes vis-à-vis des lipoprotéines à basse densité (LDL). Ils pourraient ainsi jouer un rôle protecteur contre les maladies

cardiovasculaires. On leur attribue aussi des activités chimio-préventives contre le cancer (Harborne, 1975).

II.2.2 Les composés flavonoïdes

Les flavonoïdes sont caractérisés par un squelette de base constitué de quinze atomes de carbone ($C_6-C_3-C_6$) comportant deux cycles benzénique A et B reliés entre eux par une chaîne à trois atomes de carbone qui correspond à la phényl-2 benzopyrone (Figure II.4) (Bruneton, 1999), la numérotation notée sera appliquée pour les différentes sous-classes de flavonoïdes. Ces dernières sont différenciées par le niveau d'oxydation du cycle pyrane: on peut aussi distinguer les anthocyanes, les flavonols, les flavanols et d'autres classes, telles que les flavones, les flavanones et dihydrochalcones. (Yao *et al.*, 2004)

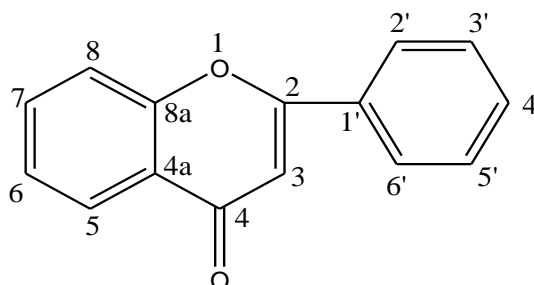


Figure II.4 : Structure de base des flavonoïdes : la phényl-2 benzopyrone

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical ou on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti inflammatoires, anti allergiques et anticancéreuses (Cohen et Chovaniec, 1978).

➤ Les anthocyanes

Les anthocyanes jouent un rôle prépondérant dans la coloration des fruits et des fleurs. Ces pigments rouges hydrolysables sont caractérisés par un noyau de base: le noyau flavylum (phenyl-2 benzopyrilium) qui peut être hydroxylé, méthylé, acylé ou glycosylé. Les anthocyanes sont situés dans les vacuoles, où elles peuvent être intégrées dans les structures appelées anthocyanoplastes (Bruneton, 1999).

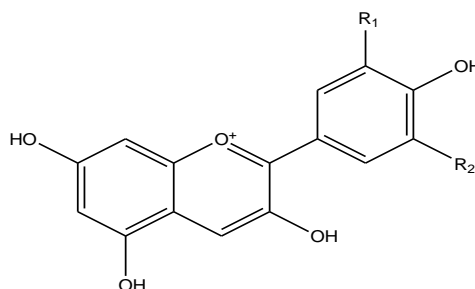


Figure II.5 : Structure de base des anthocyanes

➤ Les tanins

Ce sont des polymères des phénols. Composés phénoliques de haut poids moléculaire utilisés dans l'industrie du cuir, également responsables de l'astringence de certains aliments (**Benarous, 2018**).

On distingue les tanins hydrolysables ou tannoïdes (Figure II.6) qui sont des polymères de l'acide gallique et les tanins vrais non hydrolysables (condensés) (Figure II.7), qui sont des polymères de certains flavanols.

Les tanins condensés sont des polyphénols de masse moléculaire élevée. Ils résultent de la polymérisation oxydative ou enzymatique des unités de flavan -3-ol et/ou de flavan-3,4-diol (**Bruneton, 1999**).

Les tanins ont les propriétés de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux. Les protéines de la salive ce qui correspond à leur action astringente. Cette propriété rend les tissus riches en tanins peu consommables par les herbivores (**Bravo, 1998**).

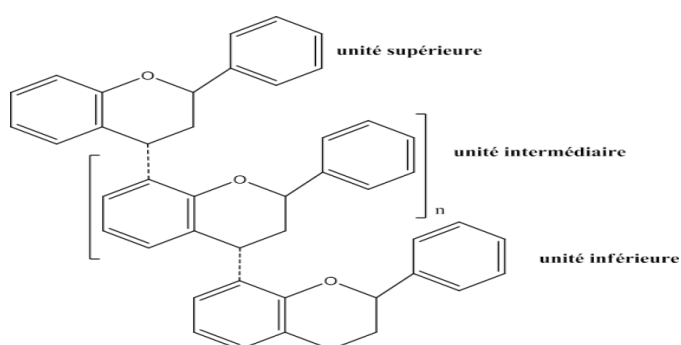


Figure II.6 : Structure des tanins hydrolysables

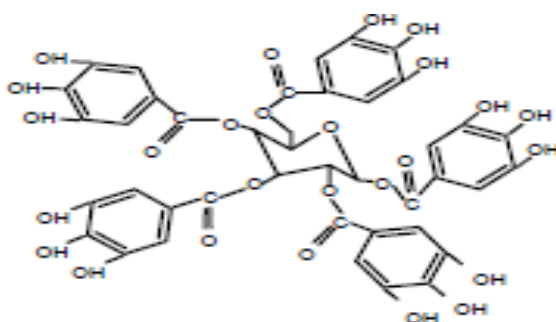
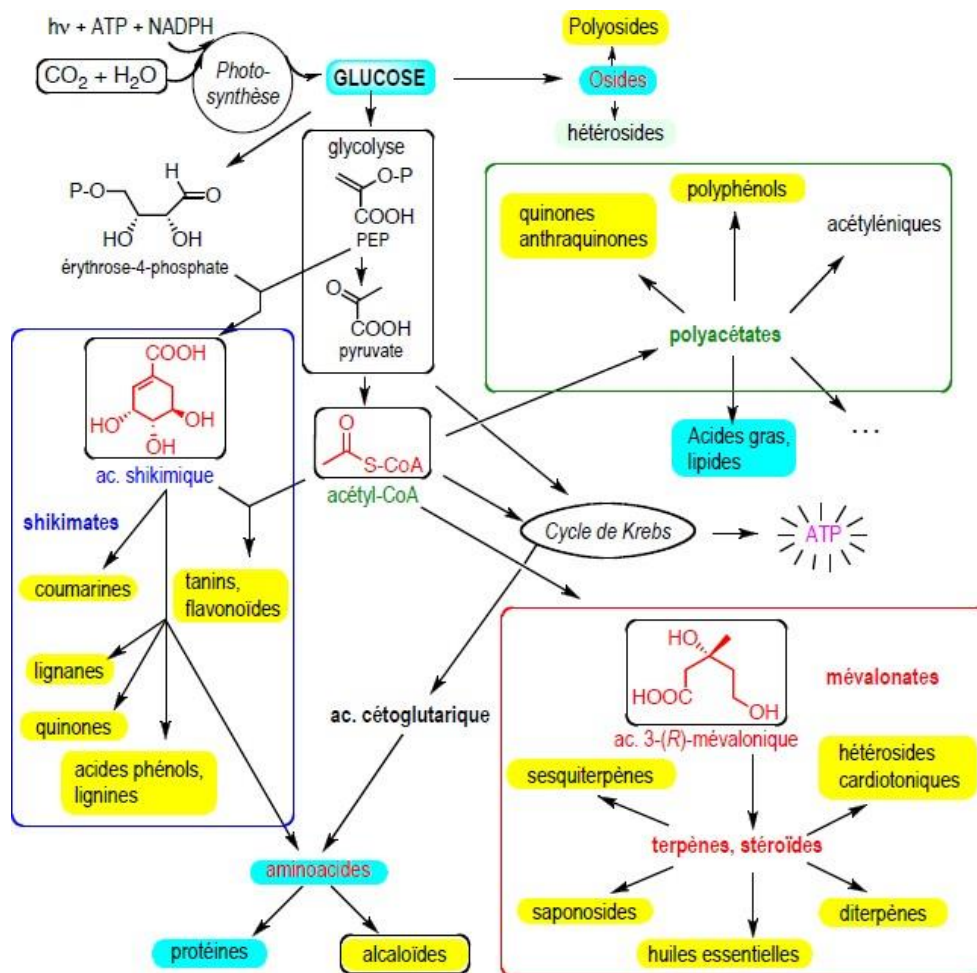


Figure II.7: Tanins condensés

Les tannins ont des propriétés vasoconstrictrices sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte en fluides et en empêchant les agressions extérieures, ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlure. Quelle que soit la voie d'administration, l'effet antiseptique (antibactérien et antifongique) clairement démontré de ces molécules est intéressant (diarrhées infectieuses, dermatose,...) (Bruneton, 1999)

II.3. Biogenèse et diversité

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de la l'acide shikimique (Figure II.8). Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : coumarines, acide benzoïques, lignanes et lignines (Bruneton, 1999).



Les principales classes de SAM : relations biogénétiques entre métabolites primaires et secondaires

Figure II. 8 : Voies biogénétiques des métabolites primaires et secondaires (in Benarous, 2018).

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire.

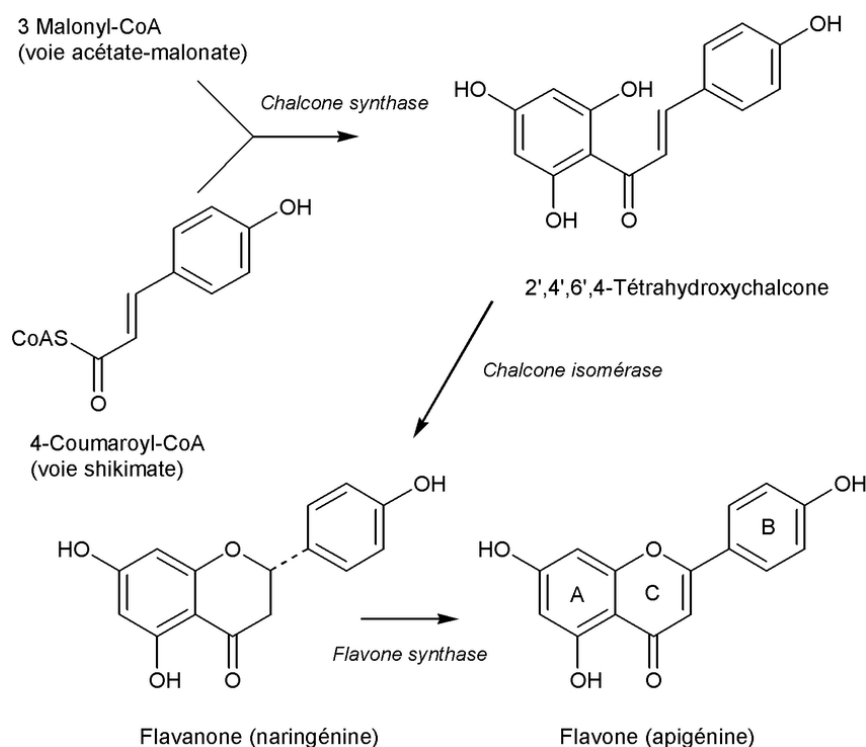


Figure II.9 : Biosynthèse des flavonoïdes : exemple des flavones (Waridel, 2003).

II.4. Propriétés physicochimiques des polyphénols

- ❖ **Hydro/lipo-solubilité** : L'hésperidine chalcone perméthylée, totalement hydrosoluble (Benarous, 2018)

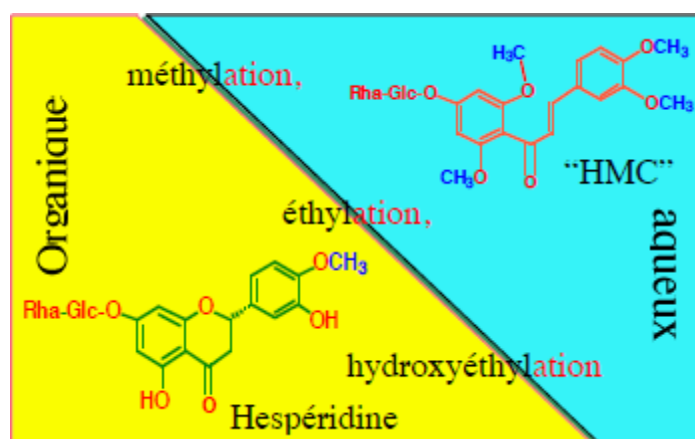


Figure II.10 Schéma de la propriété hydro/lipo-solubilité d'hésperidine

L'activité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le degré de Polymérisation et diminue avec le degré de méthylation et de glycosylation au niveau des groupements hydroxyles (Macheix *et al.*, 2005).

❖ Chélatants des métaux lourds

Les composés phénoliques inhibent la formation de radicaux libres par la chélation des métaux tels que : le Cuivre, le Fer et l'Aluminium. Ces ions métalliques renforcent les effets nocifs du stress oxydant, en stimulant la production des radicaux hydroxyles (OH). Ces composés en chélatant les ions métalliques, forment des complexes de coordination avec ces métaux, en occupant tous les emplacements et peuvent ainsi convertir les ions métalliques en complexes insolubles, empêchant leurs interactions avec les intermédiaires lipidiques (Lee *et al.*, 2004).

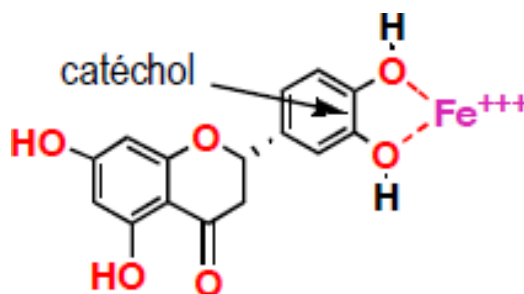


Figure II.11 : Noyaux catéchols, pyrogallols, et Fe, Cu, Al...

II.5. Propriétés bénéfiques des composés phénoliques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Ksouri *et al.*, 2007). Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002). D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Hennebelle *et al.*, 2004).

Le Tableau II.1 : représente quelques propriétés bénéfiques biologiques liées à certains composés phénoliques (**Bruneton, 1999; Harborne *et al.*, 2000; Hennebelle *et al.*, 2004 ;Ksouri *et al.*, 2007**).

Tableau II.1 : Activités biologiques des composés phénoliques

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides Phénoliques	Antibactériennes, Antifongiques, Antioxydantes et Antipyrétiques
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoides	Antitumorales, Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes Neurosédatives, Antispasmodiques, Diurétiques et Anti-œstrogènes (isoflavones)
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux Antiseptiques
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, Antioxydantes, Antitumorales, Antifongiques et Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiqes	Antioxydantes Vasculoprotectrices, Cicatrisantes et Anti-diarrhéiques

Chapitre III :

Activité antioxydante

III.1. Généralités

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Liu et Huang, 2014**).

III.2. Stress oxydant

Le Stress Oxydant (SO) est actuellement défini comme "un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers (**Sies et Jones, 2007**). Ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense (**Morena et al., 2002**).



Figure III.1 : Déséquilibre Antioxydant /Oxydant (**Morena et al., 2002**).

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) (**Smirnoff, 2005**).

Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies (**favier, 2003**). Les maladie d'Alzheimer (**Smith et al., 2004**), de Parkinson (**Bolton et al., 2000**), de Creutzfeldt Jacob, de méningo-céphalites et le cancer (**Ali et al., 2008**), les maladies

cardiovasculaires et déficience cardiaque (**Jha et al., 1995**) et les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau (**Georgetti et al., 2003**).

III.3. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les **radicaux primaires** à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote ($NO\cdot$), le radical peroxyde ($ROO\cdot$) et le radical alkoxyde ($RO\cdot$). Les autres radicaux libres, dits **radicaux secondaires** telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**)

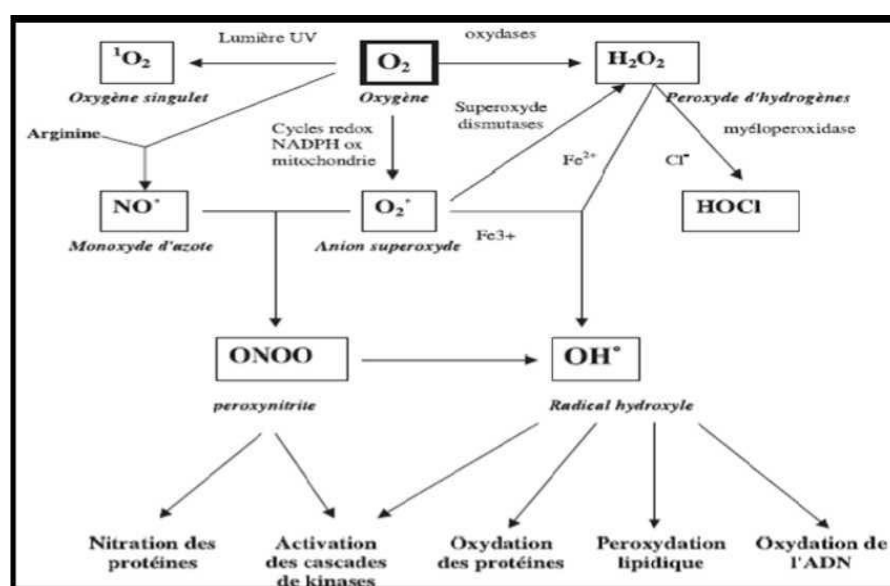


Figure III.2: Origines des différents radicaux libres oxygènes et espèces réactives de l'oxygène impliqués en Biologie (**Favier, 2003**).

Les radicaux libres ne sont pas toujours néfastes; en fait, ils permettent au corps de contrôler la tonicité des muscles lisses, de combattre les inflammations et de lutter contre les bactéries. Cependant, l'opération bénéfique des radicaux libres dépend d'un équilibre délicat qui peut être détruit par de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons et l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons ultraviolets du soleil, d'autres radiations, la fumée de tabac, l'exercice excessif et le stress sont également

des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système (**Favier, 2003**).

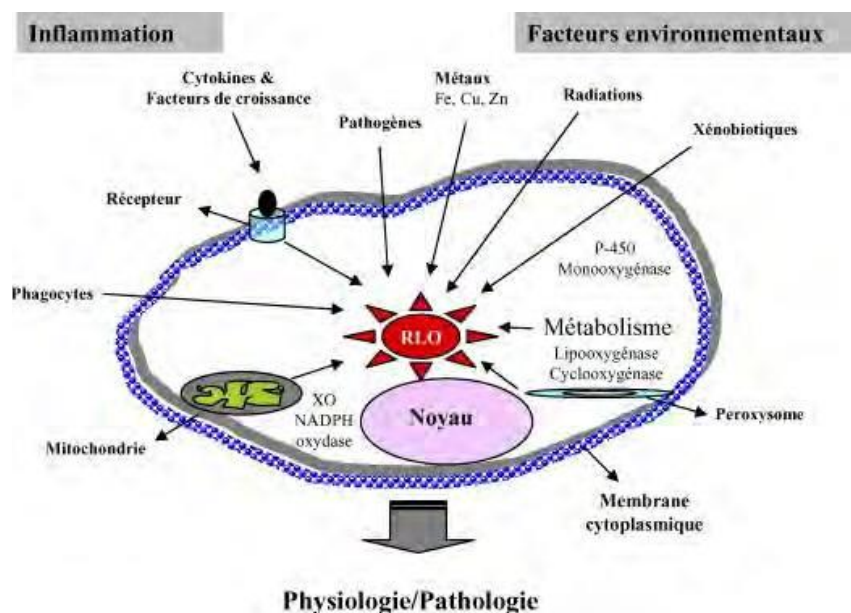


Figure III.3: Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (**Afonso et al., 2007**).

III.4. Les antioxydants

Le terme antioxydant désigne une substance qui, ajoutée à faible dose à des matières spontanément à l'air, est capable d'empêcher l'action de l'oxygène. Elle interfère sur le processus normal d'oxydation en augmentant le temps au bout duquel cette oxydation aura produit des odeurs indésirables et une détérioration décelable (**Favier, 2003**). Les antioxydants sont pour la plupart synthétiques (hydroquinone, pyrogallol, acide gallique et gallate), et sont rajoutés aux huiles dans l'industrie alimentaire. Ils peuvent par contre être présents à l'état naturel dans les huiles végétales (vitamine E, polyphénols de l'olivier et du chêne, flavonoïdes, certaines huiles essentielles) (**White, 1994**).

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques (**Bahorun, 2000**).

III.4.1. Classification d'antioxydants

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (exogènes ou endogènes) (Delattre *et al.*, 2005).

III.4.1.1. Les antioxydants endogènes

La production physiologique des espèces réactives de l'oxygène (ERO) est contrôlée au sein des cellules par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques (Matés *et al.*, 1999).

- Antioxydants enzymatiques

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes : Superoxyde dismutase (SOD), Catalase (CAT) et Glutathion peroxydase (GPX) (Matés *et al.*, 1999). Elaborés par notre organisme avec l'aide des certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika *et al.*, 2004).

Leurs activités et leurs localisations dans la cellule sont complémentaires et assurent l'élimination des anions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène dans tous les compartiments intracellulaires (Haleng *et al.*, 2007).

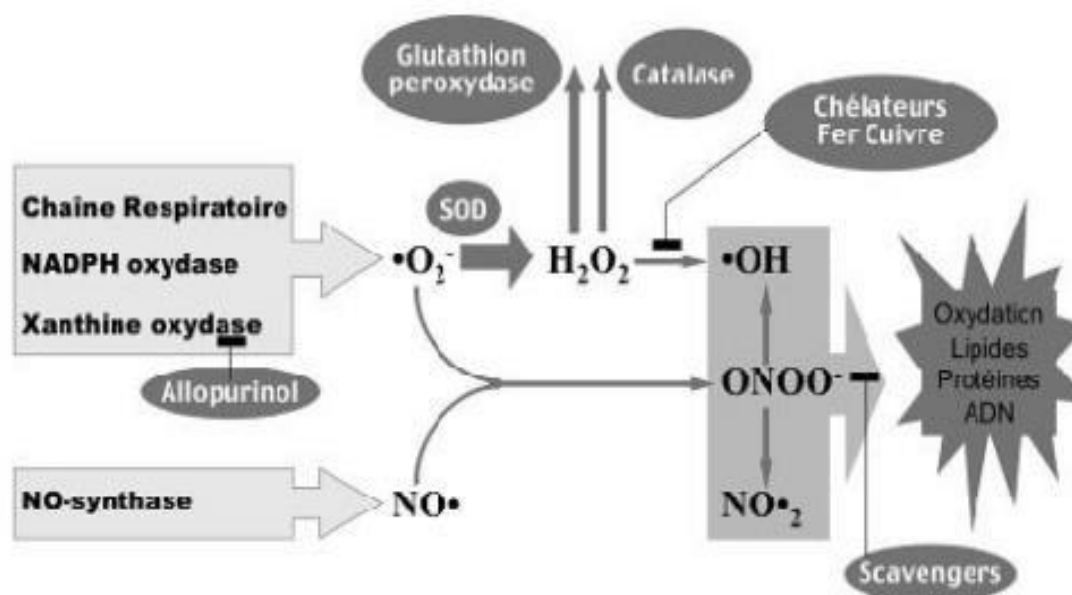


Figure III.4: Action de l'antioxydant au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (Cano *et al.*, 2007).

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en oxygène (**Landis et Tower, 2005**).

Chez l'homme, trois isoformes de l'enzyme SOD qui diffèrent par leur structure et leur localisation cellulaire ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire : La Cu/Zn- SOD ou SOD1 cytosolique, et la EC-SOD ou SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique. Lorsque la SOD2 ou (Mn-SOD) mitochondriale, utilise le manganèse (**Afonso et al., 2007**).

- **Catalase (CAT)**

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène (**Delattre et al., 2005**).

La catalase est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques, elle est localisée essentiellement dans les peroxysomes et les hématies. Mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex : érythrocytes) (**Niki et al., 2007**).

- **La glutathion peroxydase (GPx)**

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion /glutathion désulfite (GSH/GSSG) (**Matés et al., 1999**).

- **Antioxydants non enzymatiques**

L'action protectrice enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. Ces composés antioxydants sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer le glutathion, l'acide lipoïque, L-arginine, ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la transferrine, bilirubine et Coenzyme Q10 (**Haleng et al., 2007**).

De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote (**Favier, 2003**).

III.4.1.2. Les antioxydants exogènes

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Tableau III.1 : Principaux antioxydants exogènes et sources alimentaires associées (Koechlin- Ramonatxo, 2006).

Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile : de tournesol, de soja, de maïs Beurre, œufs, noix
β -carotène	Légumes et fruits orangés, et vert Foncés
Sélénium	Poissons, œufs, viande, céréales, Volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de cystéine, glutathione	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou œufs, poissons, viande

- **β carotène**

Le β carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés anti oxydantes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles HO \cdot et peroxyles ROO \cdot et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet 1O_2 . En outre le β -carotène, tout comme l' α -carotène et β -

cryptoxanthine, sont des caroténoïdes précurseurs de la vitamine A(ou rétinal) chez l'homme, de sorte que le β - carotène est une provitamine A (**Beaudeau et Geneviève, 2011**).

- **Vitamine E (α -tocophérol)**

La vitamine E, représentée en majorité par l'alpha-tocophérol, est un composé antioxydant puissant, notamment du fait de son caractère lipophile, qui lui permet d'agir au site même de la peroxydation lipidique membranaire. En échangeant un électron libre, le tocopherol se transforme en radical tocophéroxyyle, peu réactif de par sa structure cyclique. Le radical tocophéroxyyle peut être régénéré par l'ascorbate, qui devient alors radicalaire. Lors d'un stress oxydatif, ces deux vitamines agissent conjointement en formant une chaîne de détoxication des radicaux libres (**Hussain et al., 2013**).

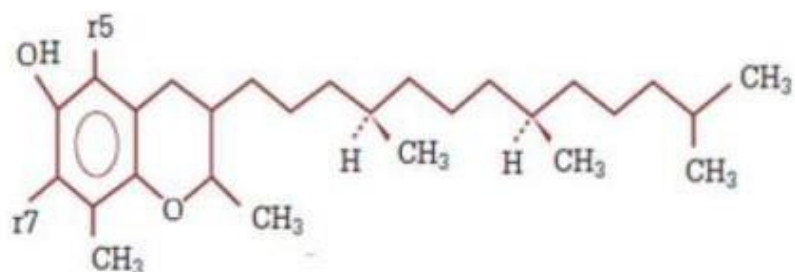


Figure III.5: Structure chimique d'alpha-tocophérol (**Mohammedi, 2013**).

- **vitamine C (acide ascorbique)**

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Après ingestion, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Elle participe dans les réactions avec la vitamine E et l'enzyme glutathion peroxydase pour neutraliser des radicaux libres (**Chehrit-hacid, 2016**).

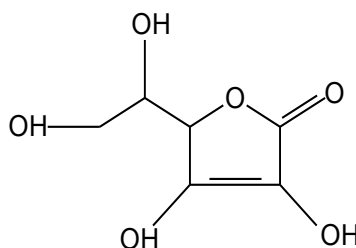


Figure III.6: Structure chimique Acide ascorbique (Vitamine C)

La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement l' $O_2^{\cdot-}$ et l'ONOO), elle joue un rôle antioxydant au niveau des tissus oculaires, en particulier la rétine, où elle participe à la dégradation du H_2O_2 . Elle peut recycler l' α -tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides. L'acide ascorbique peut agir en tant qu'un antioxydant seulement en absence de métaux de transitions sous forme libre (**Valko et al., 2006**).

L'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C), peut s'exercer de quatre manières : (**Kasote et al., 2015**).

- Il peut agir comme capteur d'oxygène.
- Il peut agir comme donneur d'hydrogène aux antioxydants phénoliques, après que ceux-ci aient cédé leurs protons au cours de la réaction en chaîne d'antioxydation.
- Il peut agir comme synergiste.
- Il peut agir comme antioxydant préventif par chélation des métaux.

L'acide ascorbique, à cause de son insolubilité dans les corps gras, sera de préférence utilisé en milieux aqueux (jus de fruit, confiture, etc).

III.4.2. Principaux antioxydants

L'utilisation d'antioxydants synthétiques est en cours de réexamen en raison de leurs risques toxicologiques potentiels. En conséquence, les chercheurs cherchent à antioxydants naturels provenant de plantes, qui ont une plus grande avantage que le synthétique (**Benahmed, 2017**). Les antioxydants naturels sont des substances capables de prévenir ou de retarder le stress oxydatif même à des concentrations relativement faibles en agissant directement sur les espèces réactives de l'oxygène ou en stimulant des gènes endogènes systèmes de défense. Lorsqu'il existe un déséquilibre entre les processus d'oxydation et d'antioxydation, un excès de radicaux libres peut s'accumulent, ce qui peut causer des dommages oxydatifs aux molécules biologiques et aux tissus, entraînant de nombreuses maladies chez l'homme (**Liu et Huang 2014**).

De nombreux principes bioactifs issus de plantes ont été rapportés présenter de fortes activités antioxydants. Les composés phénoliques constituent l'un des groupes les plus

nombreux et les plus répandus, parmi les métabolites secondaires. Ils défendent les plantes contre une variété d'herbivores ou d'agression par des agents pathogènes (**Brunetti *et al.*, 2015**).

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I :

Méthodes d'études

I.1 Matériel et méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au sein dans le Laboratoire de recherche des sciences fondamentales (Université Amar Téledji Laghouat).

I.1.1 Appareillages et produits chimiques

Les équipements et le consommable sont indiqués dans l'annexe.

I.1.2. Matériel végétal

Le présent travail concernera les 3 organes (feuilles, galles et fruits) collectés au début du mois d'octobre 2018 sur deux sites différents de la Wilaya de Laghouat : Telghimet et Aflou (Figure IV.1). Les données GPS et les caractéristiques climatiques des deux régions sont mentionnées dans le tableau :

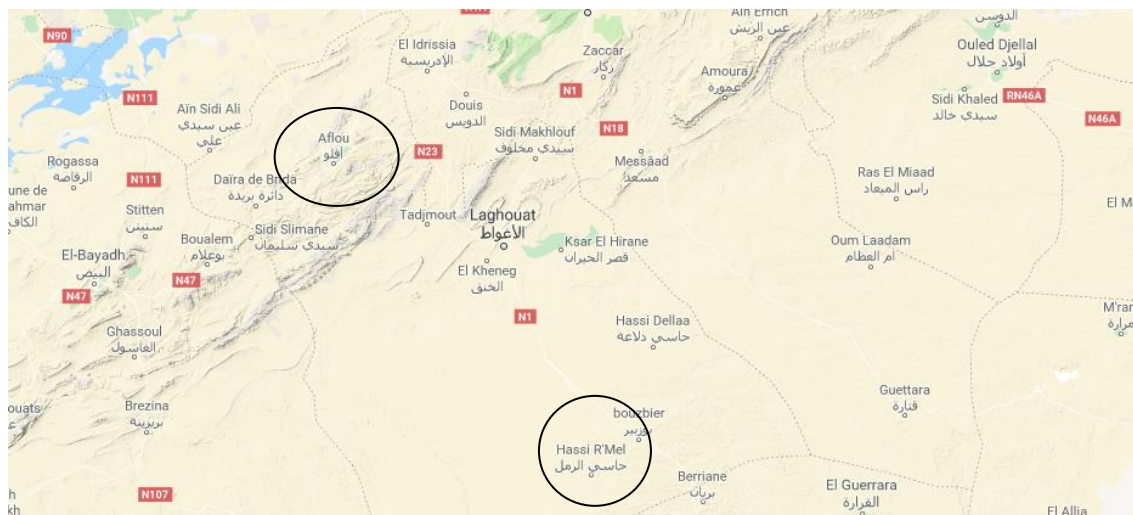


Figure I.1: La carte géographique des deux régions de la Wilaya de Laghouat (Hassi R'mel et Aflou (Google Maps)

Tableau I.1 : Caractéristiques géographiques des 2 sites Aflou et Telghimet

Site	Longitude	Latitude	Altitude	Etage bioclimatique	
Daya Telghimet	3°21'16'07''E	33°09'17'.84''N	736 m	Saharien (aride)	
Aflou	Arbre 1	2°01'05''Est	33°42'35''Nord	1351m	Semi aride
	Arbre 2	2°01'51''E	33°58'48''N	1426m	
	Arbre 3	2°01'45'' E	33°59'15''N	1419m	
	Arbre 4	2°04'49'' E	33°59'39'' N	1443m	

I.1.3 Données climatiques des stations météorologiques des deux régions

Les informations climatiques de température et précipitation de l'année 2018 des deux sites de l'étude sont résumées dans le tableau suivant:

Tableau I.2 : Données climatiques de l'année 2018 enregistrées au niveau des stations météorologiques de Hassi R'mel et Aflou

Mois	Hassi R'mel		Aflou	
	Température moyenne en C°	La précipitation	Température moyenne en C°	La précipitation mm
Janvier	9.3	/	5.1	24.5
Février	9.1	/	4.4	16.4
Mars	14.6	/	9.3	53.2
Avril	17.7	/	12.5	83.8
Mai	21.6	/	15.0	53.1
Juin	28.2	0	21.8	19.1
Juillet	35.3	0	28.3	000
Aout	28.3	26, 6	22.7	52.1
Septembre	26.3	4,4	20.9	47.7
Octobre	18.5	/	8.8	31.4
Novembre	12.8	/	13.9	113.4
Décembre	10.2	/	7.6	12.0

I.1.4. Préparation des échantillons

Pour chaque échantillon, les feuilles, les fruits sont divisés en trois groupes selon la couleur indiquant leur degré de maturité et les galles sont regroupées selon la forme. Nous avons attribué un code à chaque échantillon par un tableau suivant

Tableau I.3 : les abréviations et le nombre de chaque échantillon

les organes		Le code de chaque région	
		Tilghimet	Aflou
les feuilles		5 ECH FT	4 ECH FA
les fruits	Matures de couleur verte ou noir	4 ECH FrTM	4 ECH FrAM,
	immatures de couleur rouge jaunâtre	5 ECH FrTIM	3 ECH FrAIM
	intermédiaires de couleur noir rougeâtres	3 ECH FrTI	/
Les galles	Sphériques	4 ECH GTS	3ECH GAS
	Circulaires	/	2 ECHGAC

Les échantillons séchés à l'abri de la lumière ont servi à l'extraction des lipides par nos collègues Khenifer et Laggoun 2019. Nous avons utilisé les tourteaux délipidés séchés pour l'extraction des composés phénoliques.

I.2. Méthodes

Notre démarche expérimentale est résumée dans le diagramme suivant : figure I.2

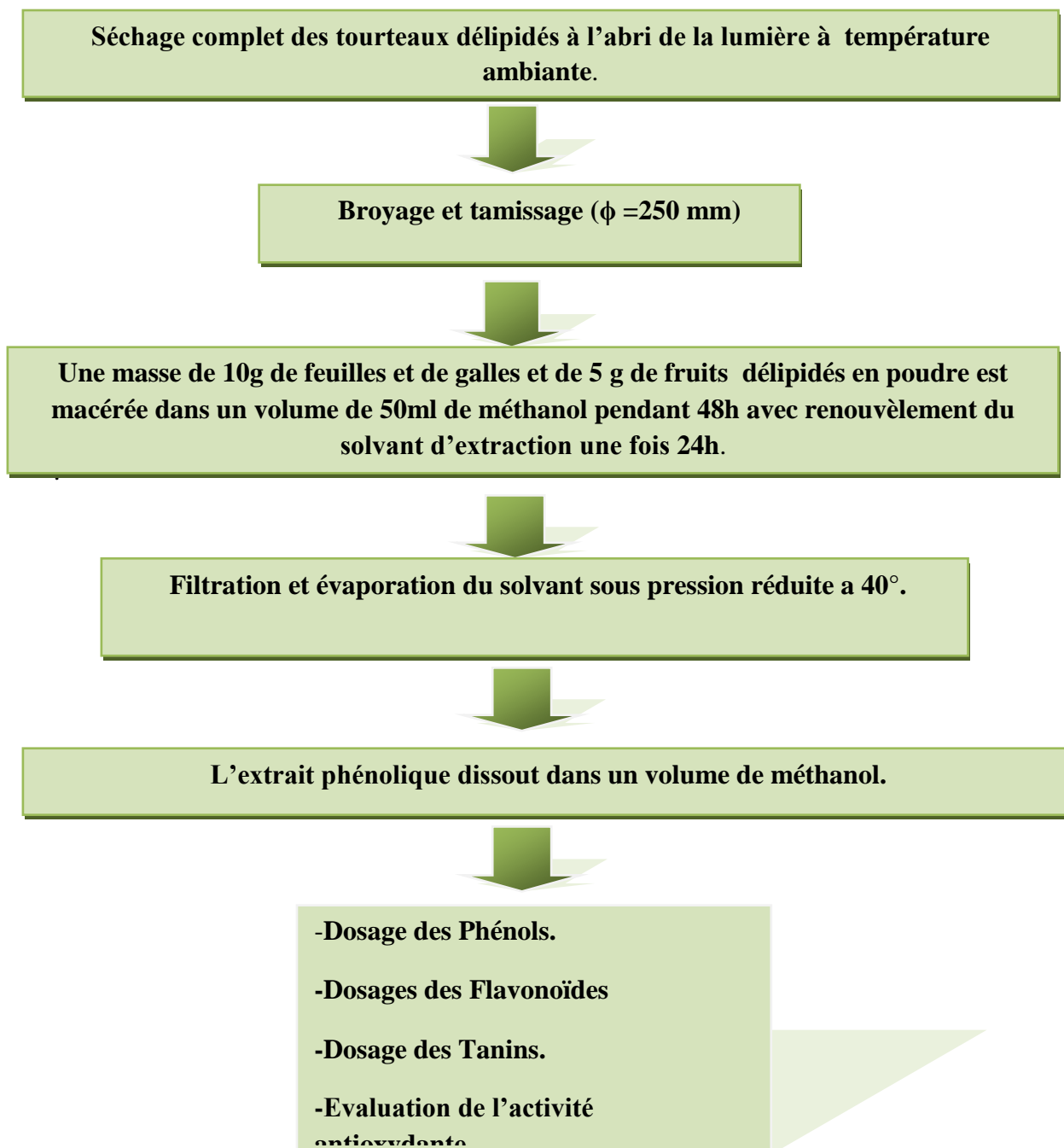


Figure I.2 : Diagramme représentant les grandes lignes de nos études

Nous avons utilisé le méthanol pour l'extraction afin de gagner plus de temps et faciliter le démarche expérimental vue le nombre important des échantillons, ainsi pour avoir un maximum rendement en composés phénoliques.

I.2.1 Calcul des rendements d'extraction en extraits phénolique

Nous pouvons déterminer le rendement d'extraction de différents organes des extraits phénoliques selon le rapport suivant :

$$\text{Rdt cp \%} = [m_1 / m_2] \times 100$$

Rdt cp : rendement de l'extraction

m₁ : masse de l'extrait brut méthanolique

m₂ : masse de la prise d'essai en g.

I.2.2 Analyse quantitative des polyphénols

Le rendement en composés phénoliques est déduit du rapport entre la masse d'extrait phénolique brut et la masse initiale de matière végétale utilisée pour la macération (10g pour les feuilles et galles pour les fruits est 5g.)

I.2.2.1 Dosages des phénols totaux

❖ Principe

L'évaluation des composés phénoliques a été réalisée selon la méthode de Singleton en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**). Réactif, constitué par un mélange d'acide phospho tungstique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), est réduit lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750-765 nm (**Bonnaillie et al., 2012**).

❖ Protocole expérimental

500 µl de réactif de folin-ciocalteu 10% (dilué 10 fois) ont été ajoutés à 100 µl de chaque extrait végétal dilué, après 2 min, 2ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 20% ont été ajoutés, ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30min à température ambiante.

La lecture de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760nm contre un blanc.

Une gamme étalon d'acide gallique à différentes concentrations a également été préparée dans les mêmes conditions. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par g de matière végétale.

I.2.2.2 Dosage des flavonoïdes

❖ Principe

La quantification des flavonoïdes dans les extraits des tourteaux délipidés est basée sur la formation de complexes stables entre les flavonoïdes et l'Aluminium du réactif trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$) selon la méthode de (**Zhishen *et al.*, 1999**).

Le flavonol standard le plus utilisé pour établir la courbe d'étalonnage est la quercitine ou la rutine.

❖ Protocole expérimental

1 ml de chaque extrait dilué est mélangé avec 1 ml du trichlorure d'aluminium 2%. Ces solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 20min à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercitine par gramme de matière végétale sèche.

I.2.2.3 Dosage des tanins

❖ Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en utilisant la procédure rapportée par (**Sun *et al.*, 1998**). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500nm.

La catéchine, un monomère flavane-3-ol, est souvent utilisé comme un standard dans le dosage de la vanilline.

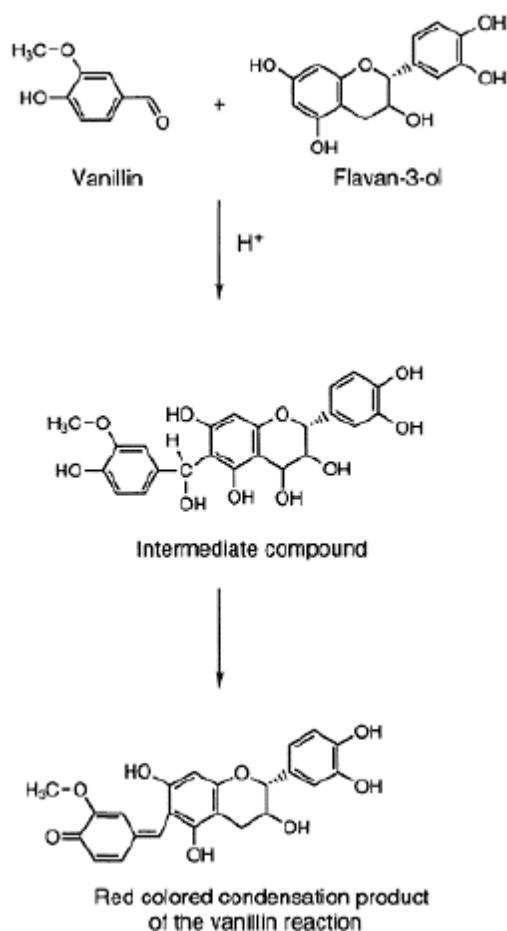


Figure I.3: Les réactions de condensation de la vanilline avec un leucocyanidin. (Salunkhe *et al.*, 1989)

❖ Protocole expérimental

200ul de chaque extrait dilué est mélangé avec 1 ml d'une solution de vanilline 1% fraîchement préparé dans le méthanol contenant de 8% HCl. ces solutions est maintenues à l'obscurité pendant 20min à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm contre un blanc.

La concentration des tanins est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine par gramme de matière végétale sèche.

I.2.2.4 Evaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH

❖ Principe

L'activité antioxydante des extraits phénoliques a été évaluée *in vitro* par la méthode de mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH. Ce radical libre présente une coloration violette foncée lorsqu'il est piégé par les antioxydantes, il apparaît sous sa forme réduite de couleur jaune pâle (Figure IV.4) (Molyneux, 2004). La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) est effectuée par spectrophotométrie à 517 nm.

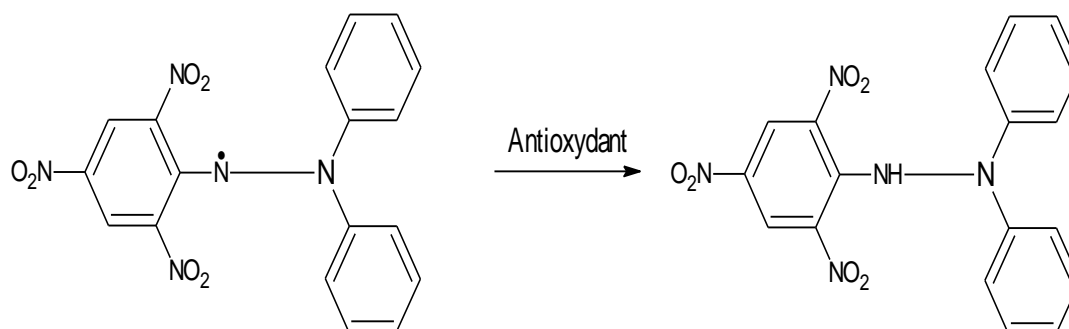


Figure I.4: Réaction d'un antioxydante avec le radical DPPH (Molyneux, 2004).

❖ Protocole

Nous avons préparé une solution de DPPH de 250 µM dans le méthanol. 1 ml de DPPH est ajouté à 1 ml des extraits dilués à différentes concentrations. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH et le méthanol est estimée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est calculée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{(\text{Abs}_{517\text{nm}} \text{ Contrôle} - \text{Abs}_{517\text{nm}} \text{ Echantillon})}{\text{Abs}_{517\text{nm}} \text{ Contrôle}} \times 100$$

La régression linéaire pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'antioxydant permet de déterminer le paramètre EC₅₀ <<Efficient Concentration>> qui est défini comme étant la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en EC₅₀ µg/ml.

I.2.2.5 Test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

❖ Principe

Ce test est basé sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique en un complexe tripyridyltriazine ferreux par un antioxydante (AH), à un pH de 3.6 qui maintient la solubilité du fer. Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît, ce qui permet de suivre la réaction en mesurant l'absorbance du produit à 596 nm (**Kebili zohra 2016**)

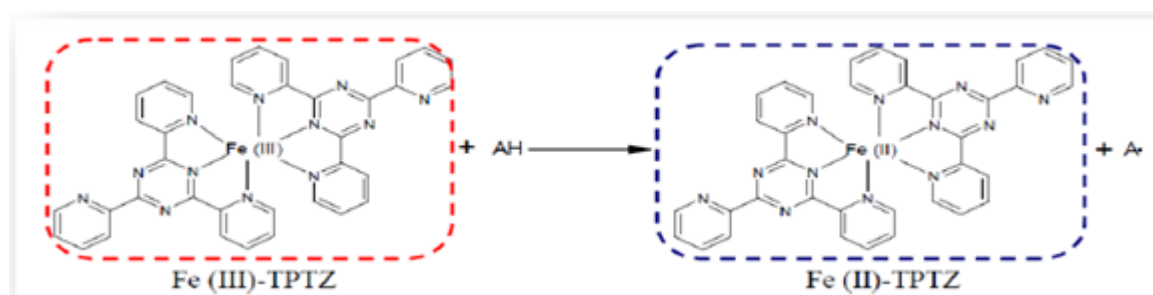


Figure I.5: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydante (AH).

❖ Protocole

Le réactif de FRAP est constitué du mélange suivant : 25 ml de Tampon acétate, 2.5 ml TPTZ préparé dans l'Hcl, et 2.5 ml FeCl₃. Un volume de 50 µL d'extrait de différentes concentrations préparées dans le méthanol, sont ajoutés à 1ml de la solution du FRAP. La lecture est réalisée après 7min à 596 nm contre un blanc constitué de 50 µL de méthanol et 1000 µL de solution de FRAP. Les résultats ont été exprimés en µ mol vitamine c/g extrait brut.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits est comparée par rapport à la vitamine C qui est utilisée comme antioxydante dans l'industrie agroalimentaire.

I.3 Analyse statistique des donnés

Nous avons utilisé le test de Student (pour les échantillons inférieurs à 30) pour la comparaison des moyennes. Dans toutes les expériences du dosage et d'évaluation de l'activité antioxydante, les données expérimentales obtenues ont été exprimées en tant que moyenne ± écart type. Le coefficient de corrélation entre certains paramètres est calculé par Excel. L'analyse des composantes principales (ACP) pour nos données a été effectuée par le logiciel Excel Stat.

Chapitre II :

Résultats et discussions

Notre série d'étude comprend 31 échantillons issus de 9 arbres de deux régions différentes. Nous nous sommes intéressées aux échantillons de feuilles, de fruits (de maturité différente obtenus après tri) et de galles. 21 échantillons sur 5 arbres de la région Tilghimet et 11 échantillons sur 4 arbres de la région El Ghicha (Aflou).

Notre étude s'est articulée principalement autour de la comparaison de paramètres tels que le rendement d'extraction, les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins ainsi que l'activité antioxydante (DPPH et FRAP) selon le site géographique de l'arbre.

II.1. Rendement d'extraction

Après l'extraction des extraits phénoliques des différentes parties de *Pistacia atlantica*, le rendement en composés phénoliques est déduit du rapport entre la masse d'extrait phénolique brut et la masse initiale de la matière végétale utilisée pour la macération.

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure ci-dessous :

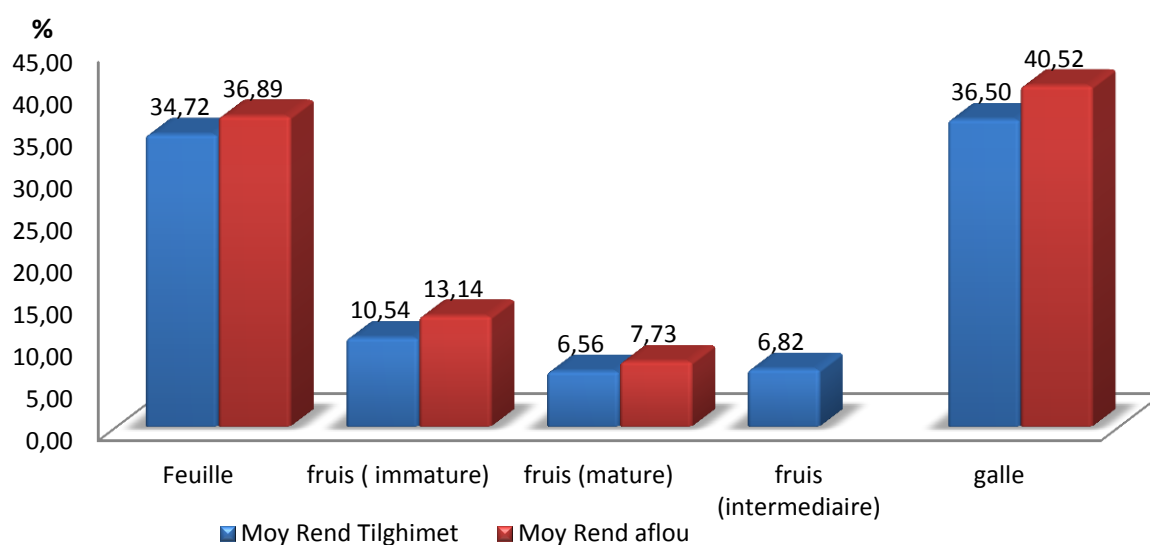


Figure II.1 : Les moyennes des rendements d'extraction des différentes parties de *Pistacia atlantica* des deux sites.

D'après les résultats des moyennes de rendements, nous n'avons pas trouvé une différence significative entre les deux régions et ce pour les trois parties de la plante.

Remarque : (Les écarts types des moyennes sont mentionnés dans l'annexe)

Il ressort de la figure II.1 que les galles sont les plus riches en composés phénoliques comparativement aux feuilles et aux fruits. Pour ces derniers, nous remarquons que le

rendement d'extraction à partir des fruits immatures est légèrement élevé. Il est important de noter qu'il est difficile de comparer les résultats du rendement d'extraction avec ceux de la bibliographie car ce paramètre n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. Toutefois, nous nous permettons de comparer nos données avec les travaux de Guersas (2018), le premier ayant mis en évidence l'effet des facteurs de l'environnement sur les composés phénoliques pour les trois parties de la plante où il rapporte des valeurs inférieures aux nôtres pour un arbre du même site d'Aflou (19,29% vs 36,39% pour les feuilles et 7,10%, vs 40,52% pour les galles). Nous rappelons que nous avons utilisé la méthode d'extraction par le méthanol tandis que Guersas a utilisé un mélange 70% acétone 30% eau (v/v). Par ailleurs, il a été rapporté que le rendement d'extraction phénolique à partir des feuilles de la même espèce variant selon la méthode d'extraction. En effet, des taux, de 31,43% et 30,65% étaient atteints, respectivement, les fractions butanol et acétate d'éthyle (Benamar *et al.*, 2018). De ce fait, nous pouvons dire que notre méthode serait plus appropriée pour un meilleur rendement d'extraction phénolique.

Nous n'avons pas trouvé de résultats publiés concernant l'effet des facteurs environnementaux sur les composés phénoliques pour les trois organes de *Pistacia atlantica*. Ainsi, nous pouvons dire que notre étude revêt un caractère original.

II.2. Dosage des composés phénolique

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la droite d'étalonnage d'acide gallique (Figure II.2) exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure II.3.

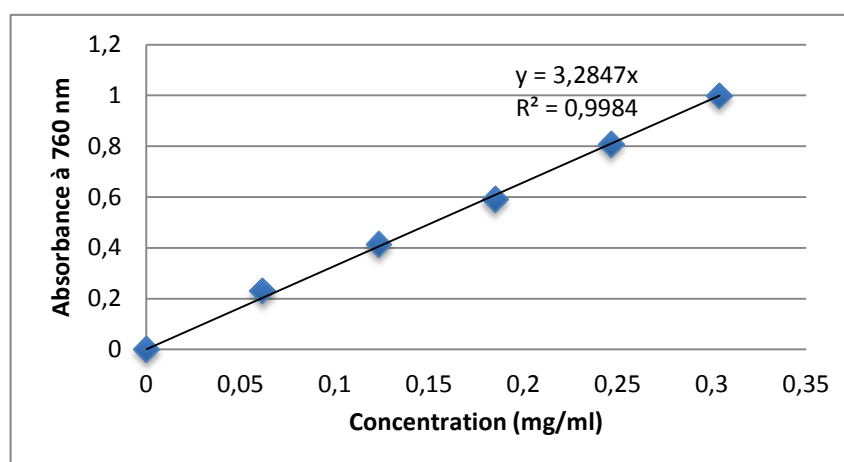


Figure II.2 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

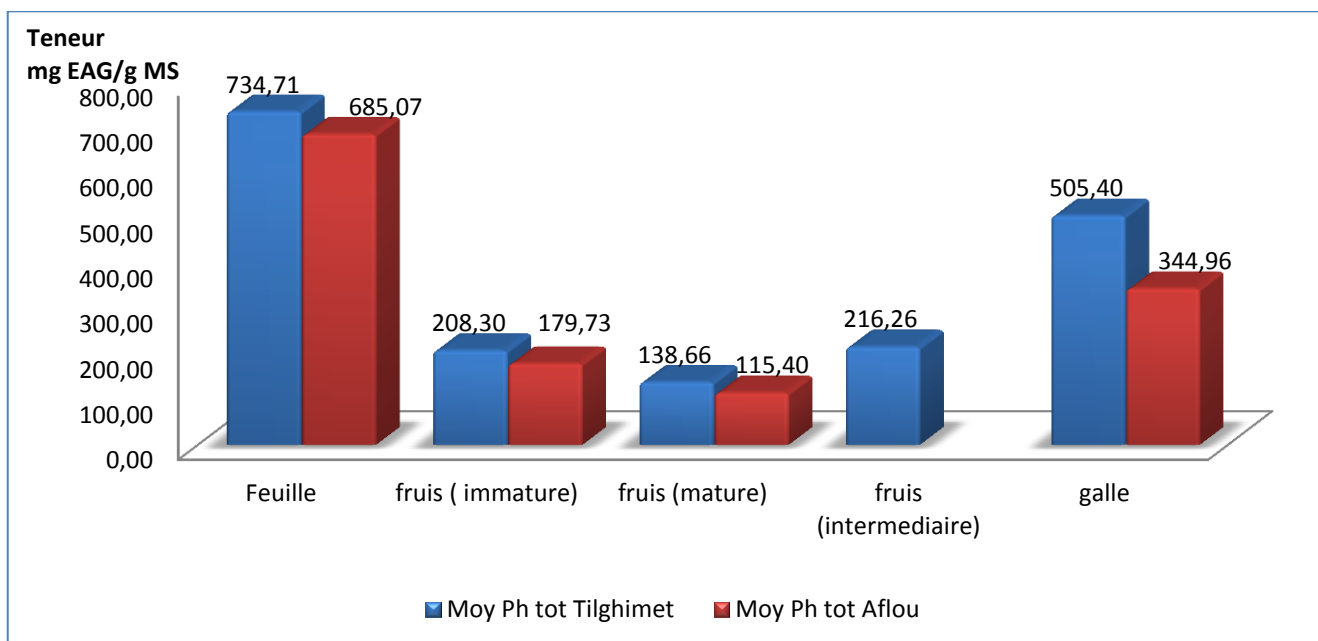


Figure II.3 : Les moyennes des teneurs en phénols totaux pour les trois parties de *Pistacia atlantica* des deux sites.

Il en ressort que les feuilles sont les plus riches en phénols totaux suivies, dans un ordre décroissant, des galles, des fruits de maturité intermédiaire, des fruits immatures et des fruits matures. Nous constatons qu'il y a une légère différence au niveau des feuilles. Cette différence est plus prononcée pour les galles. Néanmoins, le test de Student indique qu'il ne s'agit pas de différence significative. Ceci pourrait être expliqué par le nombre réduit des échantillons et un certain degré d'hétérogénéité au sein du même groupe.

En dépit d'une méthode d'extraction différente et le nombre d'échantillons, nous nous permettons de comparer nos résultats avec ceux rapportés par Guersas (2018) où nous constatons des valeurs largement en deçà des nôtres et ce pour les différentes parties de l'arbre et les deux sites de l'étude (les feuilles et les galles de Hassi Rmel et d'Aflou). Ceci pourrait être expliqué par l'effet de plusieurs facteurs, entre autres, la méthode d'extraction et notamment les facteurs climatiques propres à la saison et/ou les propriétés du sol. En effet, les données météorologiques indiquent que la saison (à partir du mois de mars jusqu'à la date de la collecte) 2018 était caractérisée, pour les deux sites, par des précipitations assez abondantes et des températures légèrement inférieures par rapport à l'année 2016 (année durant laquelle ont été collectés les échantillons de M. Guersas). En outre, une publication récente révèle que des facteurs édaphiques (propres au sol) et en particulier la salinité (conditions de stress) seraient associés à une augmentation des

teneurs en composés phénoliques dans les fruits de *Pistacia vera* en Iran (**Taghizadeh et al., 2018**). Nous pouvons nous interroger si c'était le cas notamment pour Tilghimt.

En comparant nos résultats avec ceux du Pr Yousfi (**Yousfi et al. 2009**), nous constatons le même ordre à savoir feuilles, galles puis fruits mais avec des valeurs largement inférieures (respectivement de à vs 117,3 mg EAG/g, de à vs 113,7 mg EAG/g et de à vs 23,5 mg EAG/g). Cette différence pourrait être expliquée par la méthode d'extraction, par des facteurs edapho-climatiques et des facteurs génétiques (**El-Waziry, 2007 ; Ksouri et al., 2008 ; Atmani et al., 2009**). La plus grande valeur de phénols totaux (407 mg EAG/g) que nous avons trouvée dans la littérature est celle d'extraits de feuilles obtenus par extraction aqueuse (**Benamar et al., 2018**).

Concernant les fruits, nos résultats sont compatibles avec des données rapportées précédemment (**Maamri, 2008 ; Belyagoubi-Benhammou, 2011 ; Guenane, 2017**).

II.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercitine (Figure II.4). La teneur en flavonoïdes déterminée est exprimée en mg EQ/g d'extrait. Les résultats sont exposés dans la figure II.5.

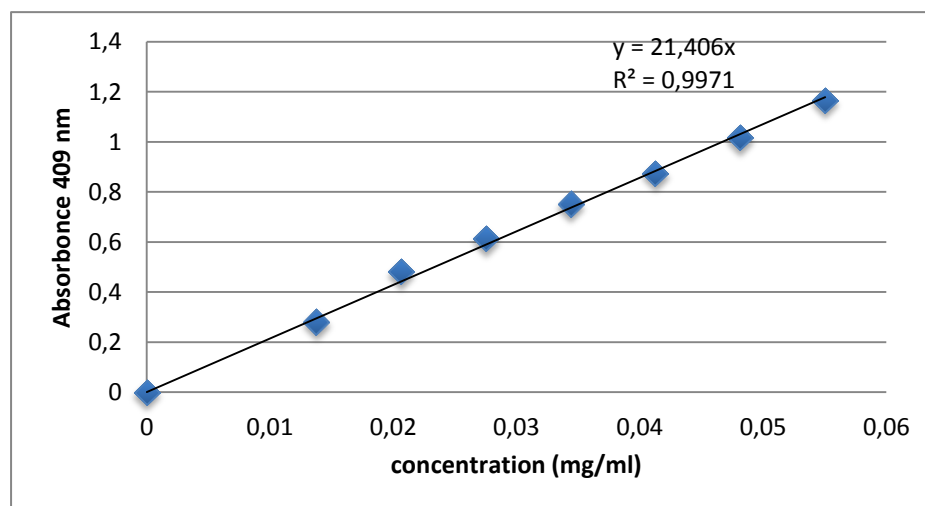


Figure II.4 : Droite d'étalonnage de la quercitine.

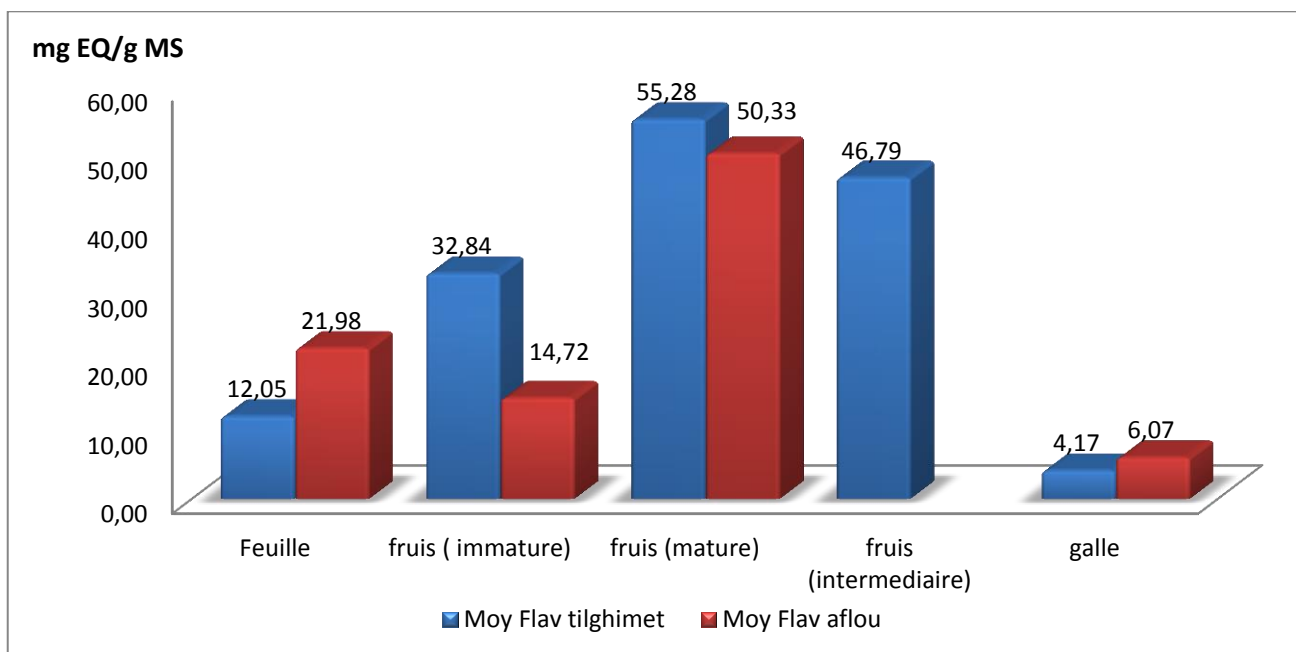


Figure II.5 : Les moyennes des teneurs en flavonoïdes pour les différentes parties de *Pistacia atlantica* des deux sites.

Le dosage quantitatif des flavonoïdes totaux montre que les fruits sont les plus riches en flavonoïdes suivis des feuilles puis les galles viennent en dernier lieu.

En dépit de différences apparentes, selon le site, notamment pour les feuilles et les fruits immatures, elles ne sont pas significatives. Ceci serait dû aux mêmes raisons citées précédemment.

Nos résultats riment avec ceux de Guersas (2018) en ce qui concerne l'emplacement géographique pour les feuilles et les galles mais avec des valeurs toujours inférieures. Nous pouvons garder la même explication donnée pour les phénols totaux.

Nous remarquons que les fruits matures sont très riches en flavonoïdes par rapport aux fruits immatures et ce pour les deux régions. Ce même résultat avait été rapporté par M. Guenane (2017) après une analyse par HPLC.

La proportion de flavonoïdes présentée dans le tableau V.1 par rapport aux phénols totaux est très faible notamment pour les galles et les feuilles (respectivement, de 0,83 à 1,75% et de 1,64 à 3,2%). Ces résultats sont extrêmement intéressants car ils pourraient rendre compte de la présence d'autres composés phénoliques.

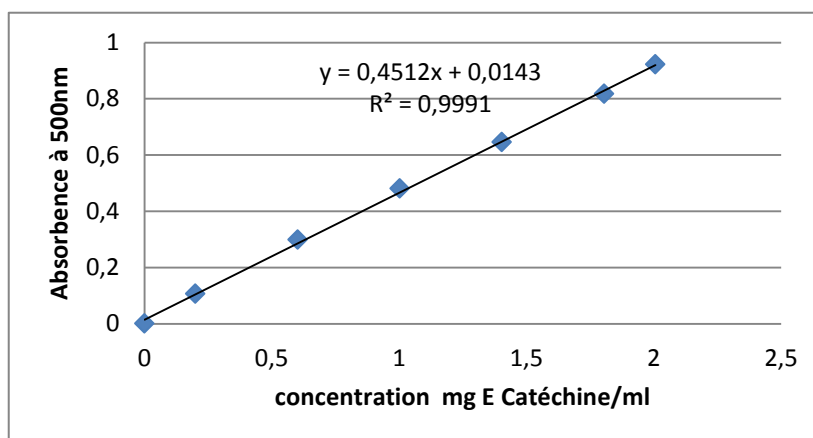
Tableau II.6 : Teneurs en phénol totaux et en flavonoïdes pour les échantillons testés

	Teneur en phénols totaux (mg EAG/g MS)		Teneur en flavonoïdes mg (EQ/g MS)		Taux des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%)	
	Tilghimet	Aflou	Tilghimet	Aflou	Tilghimet	Aflou
Feuilles	734,71	685,07	12,05	21,98	1,64	3,2
Fruits immatures	208,30	179,73	32,84	14,72	15,76	8,19
Fruits matures	138,66	115,40	55,28	50,33	39,86	43,61
Fruits intermédiaires	216,26	/	46,79	/	21,63	/
Galles	505,40	344,96	4,17	6,07	0,83	1,75

Nous avons utilisé un dosage colorimétrique pour déterminer la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes. L'analyse par HPLC reste la seule technique à même de déterminer la composition phénolique (qualitative et quantitative).

II.4. Dosage des tannins

Le dosage des tannins a été réalisé selon la méthode de la vanilline utilisant comme standard la catéchine (Figure II.6). Les teneurs en tannins (exprimées en mg équivalents catéchine /g d'extrait) n'ont pu être déterminées que pour les feuilles et les galles à cause de contraintes inhérentes au temps et au consommable. Les résultats sont mentionnés dans la figure II.6.

**Figure II.6** : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.

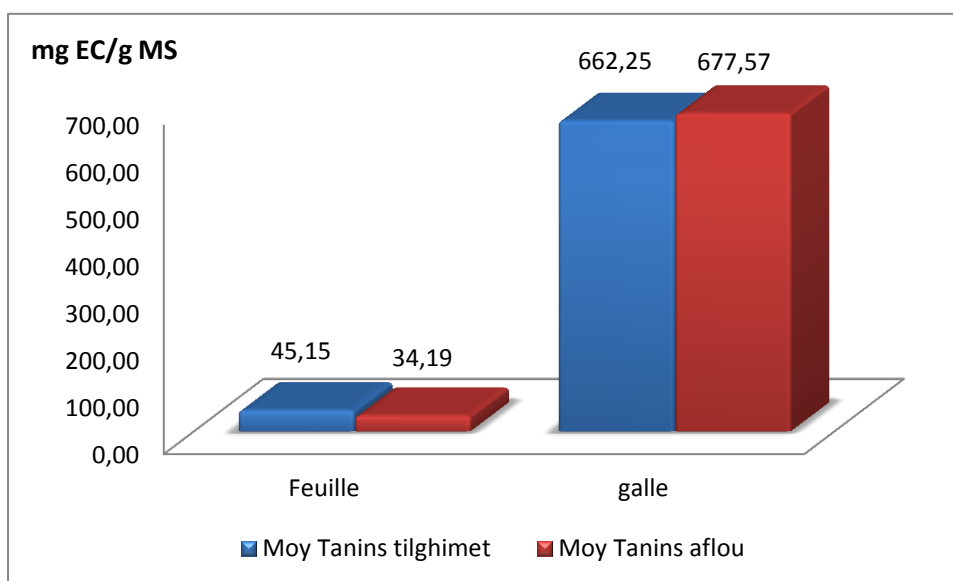


Figure II.7 : Les moyennes des teneurs en tannins pour les différentes parties de *Pistacia atlantica* des deux sites.

A travers cette figure, nous constatons aisément la très grande richesse des galles en tanins par rapport aux feuilles. Il y a lieu d'indiquer qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux sites.

A notre connaissance, c'est la première fois qu'une étude s'intéresse à leur éventuelle variation selon la localisation géographique et leur présence dans les galles, ce qui donne un caractère très original à notre travail.

Comparativement aux travaux de M. Benahmed et ces collaborateurs sur les feuilles (**Benahmed et al., 2017**), nous remarquons que nos valeurs sont plus élevées. Cette différence ne peut être expliquée que par les mêmes raisons évoquées pour les phénols totaux.

Pour les galles issues des deux sites (Tilghimet et d'Aflou), nous enregistrons les teneurs respectives 662,25 et 677,57 mg/g. Nous remarquons que ces valeurs dépassent celles des phénols totaux (respectivement 505,4 et 344,96 mg/g). La même observation a été rapportée pour des extraits méthanoliques (conditions similaires aux nôtres) de feuilles de *Pistacia lentiscus* où les valeurs étaient 325,5 mg Eq Cat /g d'extraits pour les phénols totaux et 359,83 mg Eq Cat /g d'extraits pour les tanins (**Hemma et al., 2018**). Il apparaît que, dans ces conditions, des composés phénoliques divers (acides phénoliques, flavonoïdes et même

des composés phénoliques de haut poids moléculaire tels que les tanins condensés et hydrolysables) sont extraits.

La même constatation avait été rapportée pour les feuilles de *Pistacia lentiscus* mais dans des conditions différentes des nôtres où il a été enregistré $909,4 \pm 42,61$ mg équivalent d'acide tannique / g d'extrait pour les tanins et $136,25 \pm 18,9$ mg Eq Catechine/g d'extrait pour les phénols totaux (Atmani *et al.*, 2009).

Il a été publié qu'une importante quantité de tannin était observée chez les plantes parasitées. Cette dernière correspondrait à une réaction de défense (Bravo, 1998). Ceci est en accord avec nos résultats où les galles sont dues à des organismes parasites.

D'une manière générale, les plantes du Sahara possèdent des teneurs élevées en tannins par rapport aux flavonoïdes (Belyagoubi-Benhammou, 2011).

II.5. Evaluation du pouvoir antioxydant

Dans ce travail deux méthodes ont été impliquées pour évaluer l'activité antioxydante de *Pistacia atlantica*. Ces méthodes sont basées sur deux mécanismes antioxydants différents: le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer ferrique en fer ferreux lors du test FRAP.

II.5.1 Piégeage du radical libre DPPH

La figure II.8 montre le pourcentage de l'inhibition en fonction de concentration de l'antioxydant de référence la vitamine C.

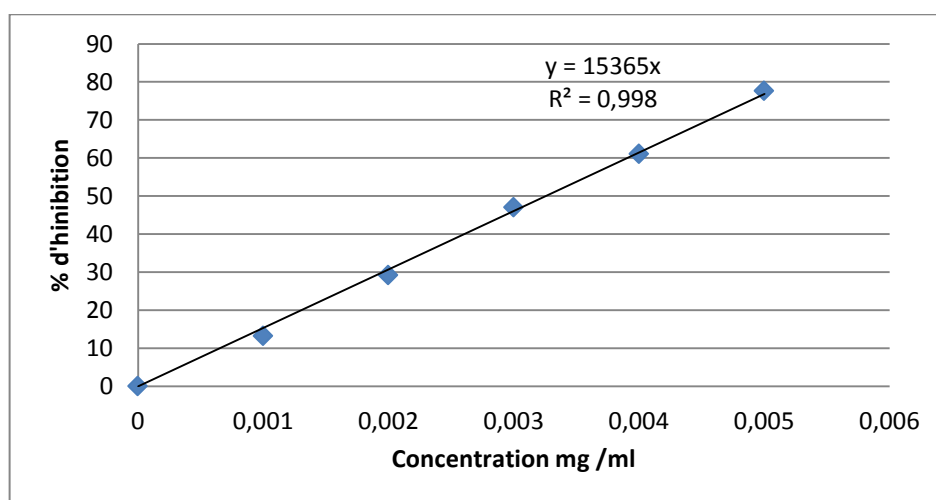


Figure II.8: La courbe d'étalonnage de la vitamine C établie par le test DPPH

Les résultats indiqués dans la figure II.9 représentent les EC₅₀ des différents extraits. Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est élevé.

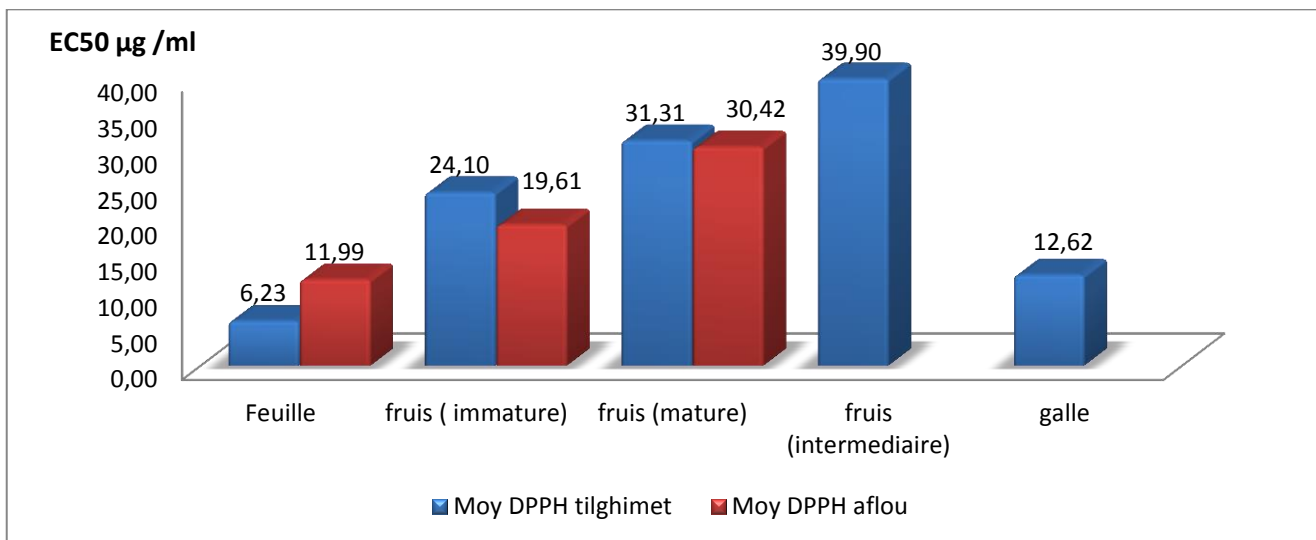


Figure II.9 : Valeurs moyennes des EC₅₀ obtenus pour les différents extraits des deux sites déterminées par le test DPPH.

L'efficacité antioxydante des extraits phénoliques testés exprimée ensuite par le paramètre EC₅₀ « efficient concentration » qui représente la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Les valeurs d'EC₅₀ sont déterminées pour chaque extrait phénolique à partir des représentations graphiques %inhibition = f (concentrations d'extrait) (voir Annexe).

Nos extraits phénoliques se révèlent légèrement moins actifs que l'antioxydant standard, l'acide ascorbique, dont l'EC₅₀ est de 3,25± 0,04 µg/ml.

Les résultats du pouvoir anti radicalaire montrent que l'activité antioxydante des différents extraits peut être classée d'une manière générale selon un ordre croissant Fruits mures, fruits immatures, galles puis feuilles. Ce résultats est similaire à celui du Yousfi et ses collaborateurs (Yousfi *et al.*, 2009). Ceci est également en accord avec les résultats relatifs aux phénols totaux et étayé par les coefficients de corrélations entre ces deux paramètres. En effet, une corrélation négative assez appréciable entre l'EC₅₀ et la teneur en phénols totaux des feuilles et des fruits immatures et mures pour les deux sites (respectivement, r=-0,63, r=-0,77 et r=-0,91 pour Tilghimet et r=-0,86, r=-0,92, et r=-0,96 pour Aflou). Ces résultats montrent clairement l'implication des composés phénoliques dans l'activité antioxydante des extraits de *Pistacia atlantica*. (r :coefficient de corrélation)

Nous ne remarquons pas de différences significatives selon l'emplacement géographique. En outre et en dépit du nombre assez représentatif de nos extraits, ils semblent être moins actifs que ceux de Guersas (2018), exception faite pour les galles. Ce serait dû aux mêmes facteurs cités précédemment.

Bien que des auteurs indiquent que le méthanol est le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants (Sun *et al.*, 2007), nous avons trouvé, dans la littérature, pour des extraits de feuilles de la même espèce, les résultats de neutralisation du radical DPPH où l'acétate d'éthyle était associé à des valeurs d'EC50 plus basses (Benamar *et al.*, 2018 ; Guersas 2018 ; Belyagoubi Benhamou, 2011).

II.5.2. Test FRAP

Le potentiel antioxydant des extraits testés a été déterminé par la méthode de FRAP basée sur l'aptitude des antioxydants présentés dans les extraits à réduire le TPTZ-Fe (III) à TPTZ-Fe (II). Les résultats sont exprimés en mM équivalents Vit C par gramme d'extrait brut en se référant à la courbe d'étalonnage de la vitamine C (Figure V.10)

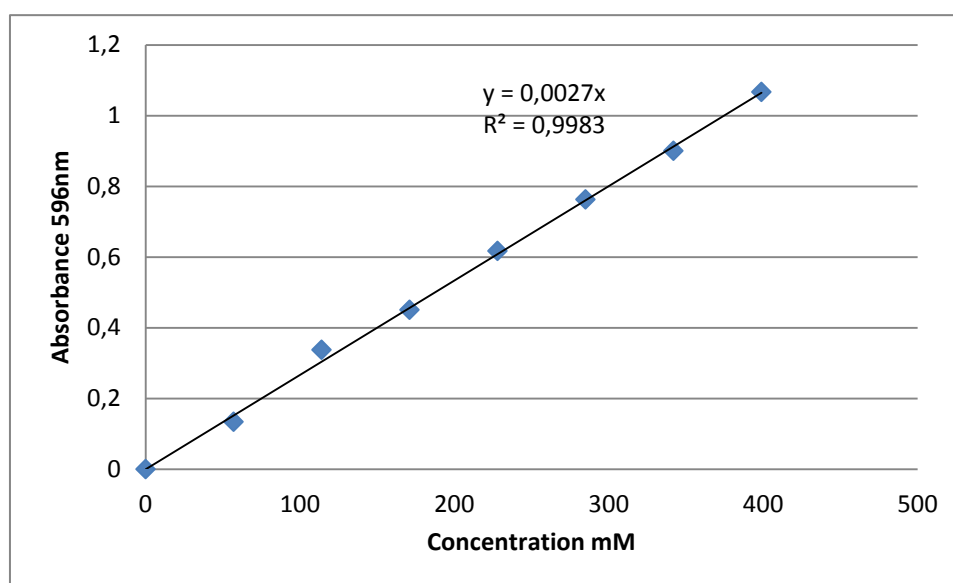


Figure II.10 : La courbe d'étalonnage de la vitamine C fait par le test FRAP

Les résultats relatifs à nos extraits sont indiqués dans la figure II.11

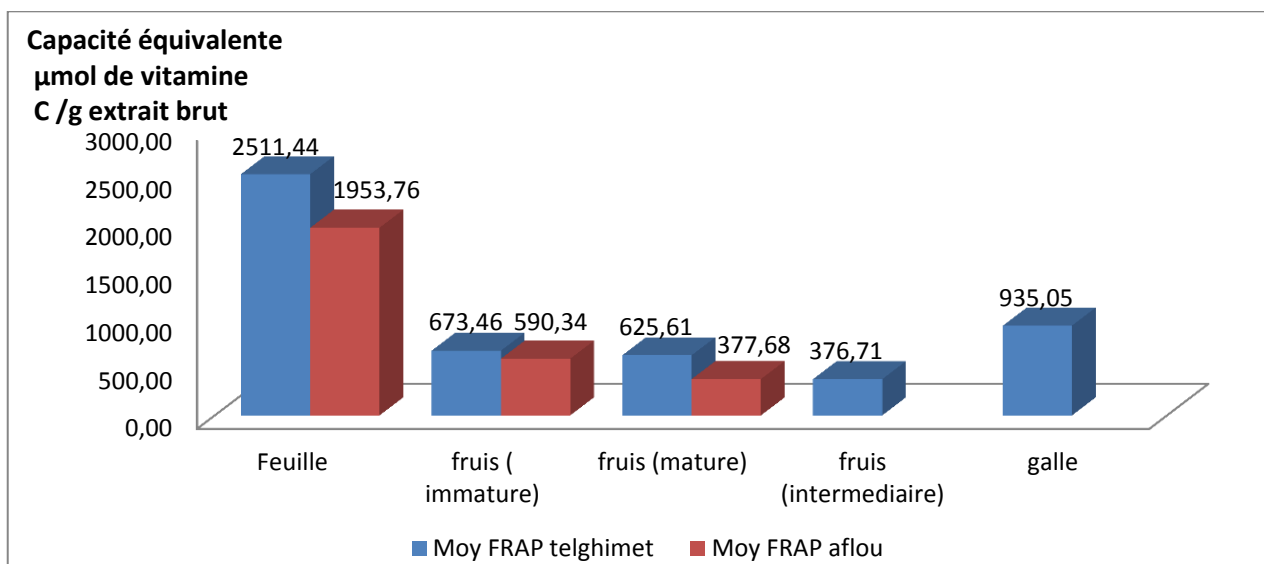


Figure II.11: Valeurs moyennes de la capacité équivalente (test FRAP) pour les différents extraits des deux sites.

Nous constatons globalement le même ordre d'activité des extraits que celui pour le test DPPH à savoir feuilles, galle puis fruits.

En dépit d'une différence apparente pour les feuilles des deux sites, elle n'est pas significative. Ceci est valable pour les autres organes.

Le pouvoir réducteur des extraits serait probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Ainsi, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants **(Bougandoura et Bendimerad, 2012)**.

Il a été montré que la teneur en métabolites secondaires et l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Pistacia atlantica* étaient davantage influencées par le moment de la collecte et la région de croissance de l'arbre **(Ben Ahmed et al., 2017)**

Nous rappelons qu'il a été indiqué dans la littérature que le méthanol était le solvant le mieux appropriés pour extraire des antioxydants **(Sun et al., 2007)**.

II.6 Analyse des composantes principales (ACP) pour les différents paramètres

L'ensemble des résultats cumulés sur les feuilles, les fruits et les galles de *Pistacia atlantica* ont servi à une analyse de données (par ACP) afin de visualiser d'éventuels groupes distincts selon les paramètres étudiés.

II.6.1 Echantillons de feuilles

Dans le but d'avoir une vue d'ensemble de nos échantillons par rapport aux différents paramètres, nous avons effectué une analyse de données par ACP pour 8 échantillons des deux régions. Nos paramètres sont la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes, en tanins et les activités anti radicalaire (DPPH) et la capacité réductrice du Fer (FRAP). La figure II.12 montre la distribution de nos échantillons par rapport aux paramètres sus cités.

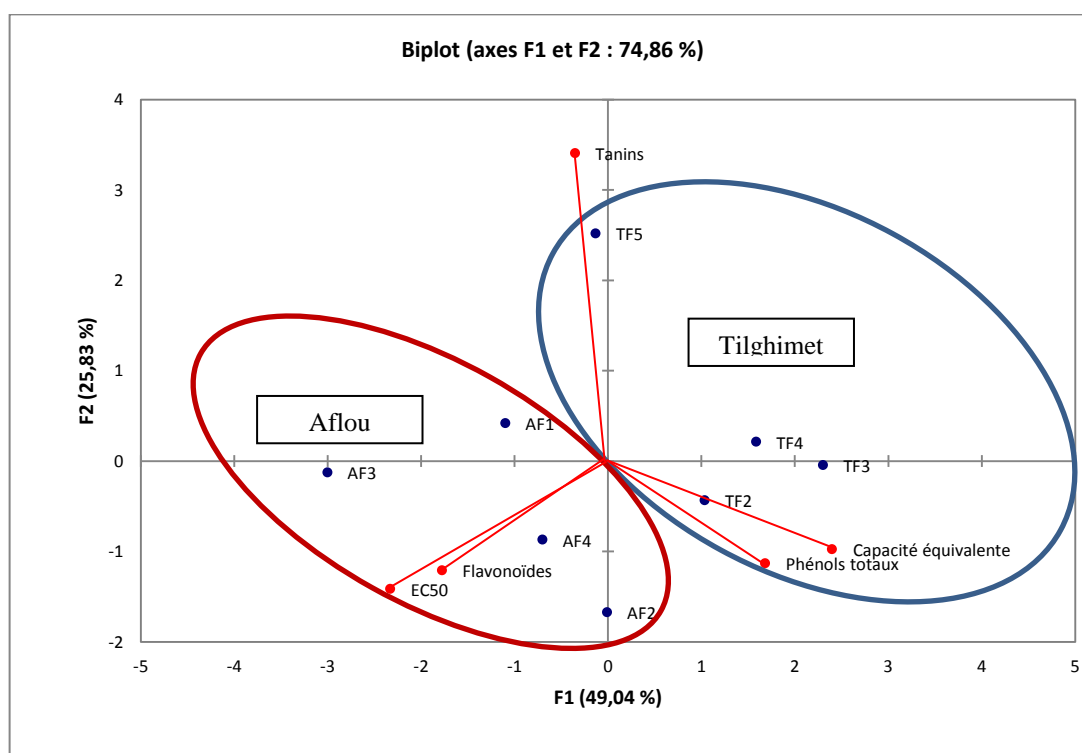


Figure II.12: ACP des extraits phénoliques des tourteaux des feuilles des deux sites.

L'ACP des feuilles a un pourcentage d'information acceptable 74,86%. La distribution des échantillons d'extraits phénoliques des tourteaux des feuilles étudiés indique pertinemment

qu'ils sont repartis en deux groupes distincts. Le premier englobe des feuilles de la région de Telghimet, caractérisé par des teneurs importantes en phénols totaux associées à un pouvoir antioxydant témoigné par une capacité équivalente élevée et des EC50 bas. Cependant, ce groupe est caractérisé par une teneur faible en flavonoïdes.

Le deuxième groupe, quant à lui, comprend les feuilles de la région d'Aflou. Il est caractérisé par une teneur en flavonoïdes élevée. Cependant, il est moins riche en phénols totaux par rapport au premier groupe et moins actif.

Nous notons avec intérêt que la teneur en tanins ne semblerait pas constituer un paramètre distinctif pour les feuilles des deux sites.

La matrice de corrélation de Pearson établie pour les différents paramètres est récapitulée dans le tableau II.7

Tableau II.7 : Matrice de corrélation de Pearson pour les différents paramètres (feuilles)

Variables	Phénols totaux	Flavonoïdes	Tanins	EC50	Capacité équivalente
Phénols totaux	1				
Flavonoïdes	-0,0381	1			
Tanins	-0,1678	-0,0265	1		
EC50	-0,4827	0,5635	-0,2797	1	
Capacité équivalente	0,4989	-0,5034	-0,3844	-0,6939	1

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire qu'il y a une corrélation faible entre la teneur en phénols totaux et activité antioxydante déterminée par les deux tests DPPH et FRAP (coefficients de corrélation respectifs -0,4827 et 0,4989). Cependant, les teneurs en flavonoïdes et en tanins ne sembleraient pas associées à l'activité antioxydante. Ceci est étayé en grande partie par leurs faibles proportions par rapport aux phénols totaux (respectivement entre 1,64 et 3,2% et entre 5 et 6,14%). Cette observation intéressante plaiderait en faveur de la présence d'autres composés phénoliques en abondance notamment des phénols simples dans les feuilles.

De ce qui précède, nous pouvons dire que les facteurs environnementaux influents grandement sur la composition et l'activité des extraits phénoliques de feuilles.

II.6.2 Echantillons de fruits immatures et à maturité intermédiaire

Nous avons effectué une analyse de données par ACP pour 11 échantillons des deux régions. Nos paramètres sont la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et les activités anti radicalaire (DPPH) et la capacité réductrice du Fer (FRAP). La figure V.13 montre la distribution de nos échantillons par rapport aux paramètres sus cités.

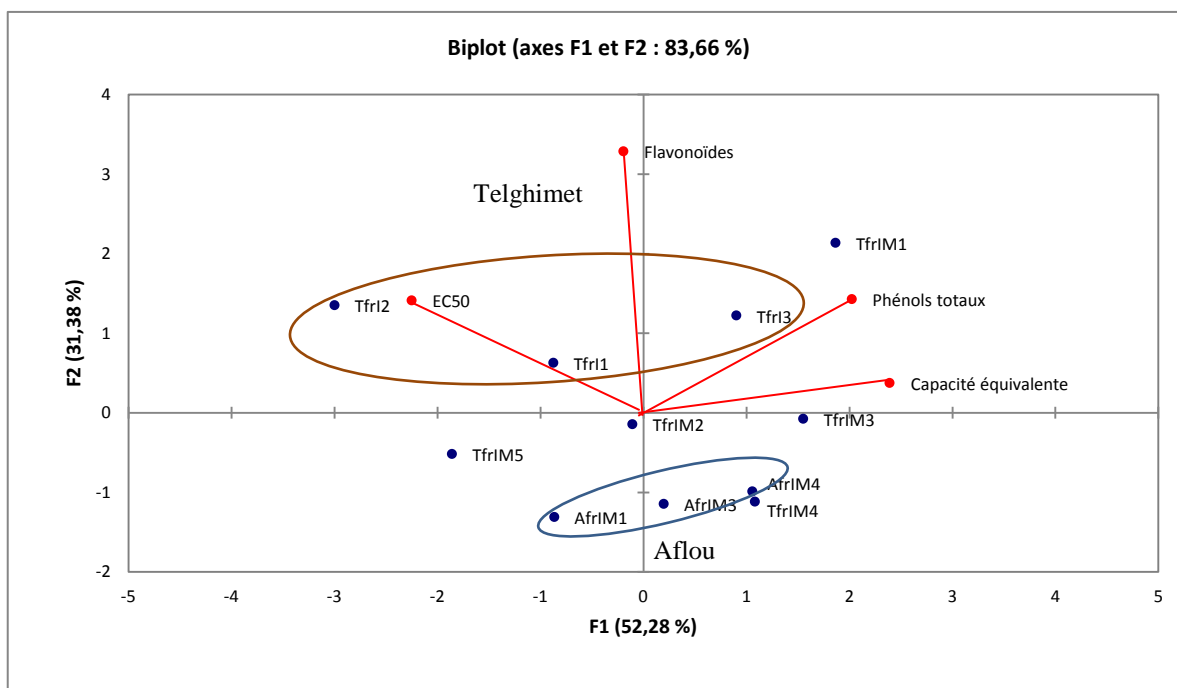


Figure II.13: ACP des extraits phénoliques des tourteaux des fruits immatures et à maturité intermédiaire des deux sites.

Le pourcentage d'information est assez important (83,66%). Nous remarquons que les fruits à maturité intermédiaire du site de Tilghimt constituent un groupe à part avec un EC50 élevé. Par contre, les fruits immatures du même site sont éparpillés entre les différents paramètres indiquant un certain degré d'hétérogénéité.

Les trois échantillons immatures du site d'Aflou sont groupés et forme un groupe homogène. Un échantillon immature de Tilghimt (TfrIM4) en est très proche indiquant des propriétés similaires.

Nous rappelons qu'il n'y a pas d'échantillons de fruits à maturité intermédiaire pour le site d'Aflou.

La matrice de corrélation de Pearson établie pour les différents paramètres est récapitulée dans le tableau II.8.

Tableau II.8. : Matrice de corrélation de Pearson pour les différents paramètres (fruits immatures et à maturité intermédiaire)

Variables	Phénols totaux	Flavonoïdes	EC50	Capacité équivalente
Phénols totaux	1			
Flavonoïdes	0,2179	1		
EC50	-0,3984	0,3570	1	
Capacité équivalente	0,5678	0,0639	-0,6567	1

Nous ne remarquons qu'une faible corrélation positive entre la teneur en phénols totaux et la capacité équivalente (0,5678). Ceci serait dû au nombre d'échantillons réduit et une certaine hétérogénéité au sein des groupes caractérisée par une composition phénolique différente d'un échantillon à un autre.

V.6.3 Echantillons de fruits matures

Nous avons réalisé une analyse de données par ACP pour 8 échantillons des deux régions. Nos paramètres sont les mêmes que ceux évoqués pour les autres fruits. La figure V.14 montre la distribution de nos échantillons par rapport à ces paramètres.

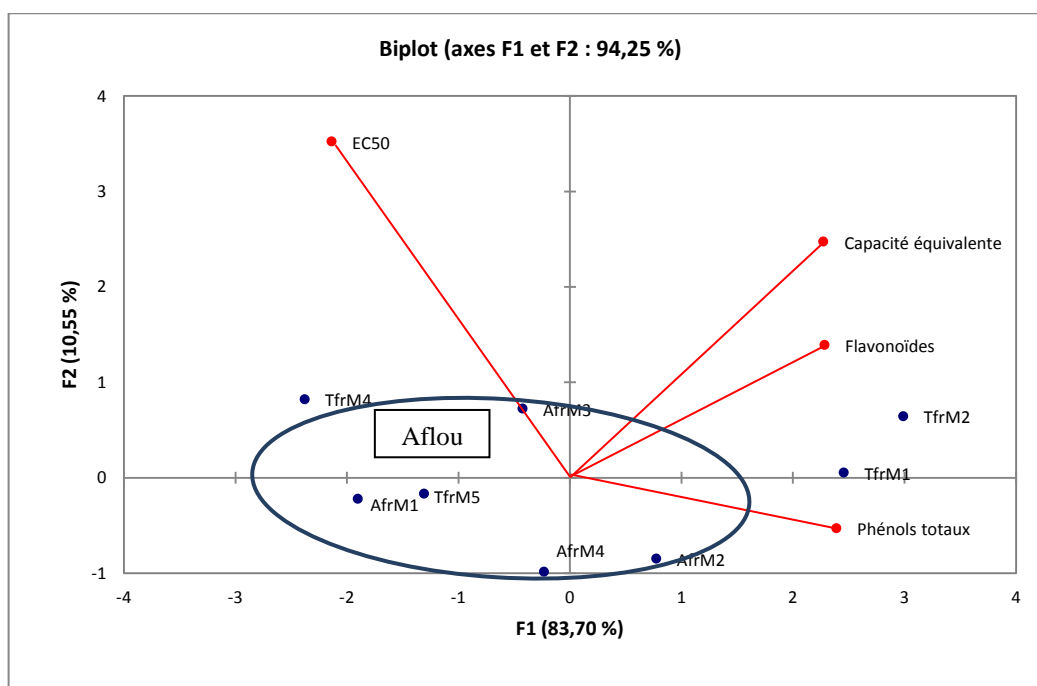


Figure II.14: ACP des extraits phénoliques des tourteaux des fruits matures des deux sites.

L'ACP des fruits matures a un pourcentage d'information très significatif et informatif (94,25%). Nous notons que les échantillons d'Aflou forment un groupe indiquant une certaine homogénéité. L'échantillon TfrM5 de Tilghimt est inclus dans ce groupe montrant des propriétés communes.

Le site de Tilghimet présente des points dispersés, mais il y a deux points proches à proximité des vecteurs phénols totaux, flavonoïdes et capacité équivalente (FRAP) indiquant leur distinction par ces paramètres.

La matrice de corrélation de Pearson établie pour les différents paramètres est présentée dans le tableau II.9.

Tableau II.9: Matrice de corrélation de Pearson pour les différents paramètres (fruits matures)

Variables	Phénols totaux	Flavonoïdes	EC50	Capacité équivalente
Phénols totaux	1			
Flavonoïdes	0,8035	1		
EC50	-0,8422	-0,7045	1	
Capacité équivalente	0,8733	0,8524	-0,6095	1

Il en ressort une corrélation hautement significative entre teneurs en phénols totaux et flavonoïdes d'une part et l'activité antioxydante (DPPH et FRAP) de l'autre part. Les coefficients de corrélation respectifs sont -0,8422 et 0,8733 (pour les phénols totaux) et -0,7045 et 0,8524 (pour les flavonoïdes). Ces valeurs sont en parfait accord avec les données expérimentales indiquant la richesse des fruits matures en flavonoïdes (entre 39,86 et 43,61%) et leur implication dans l'activité antioxydante.

II.6.4 Echantillons de galles

Pour nos 9 échantillons, nous nous sommes intéressées qu'à la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins. La figure II.15 montre la distribution de nos échantillons par rapport à ces trois paramètres.

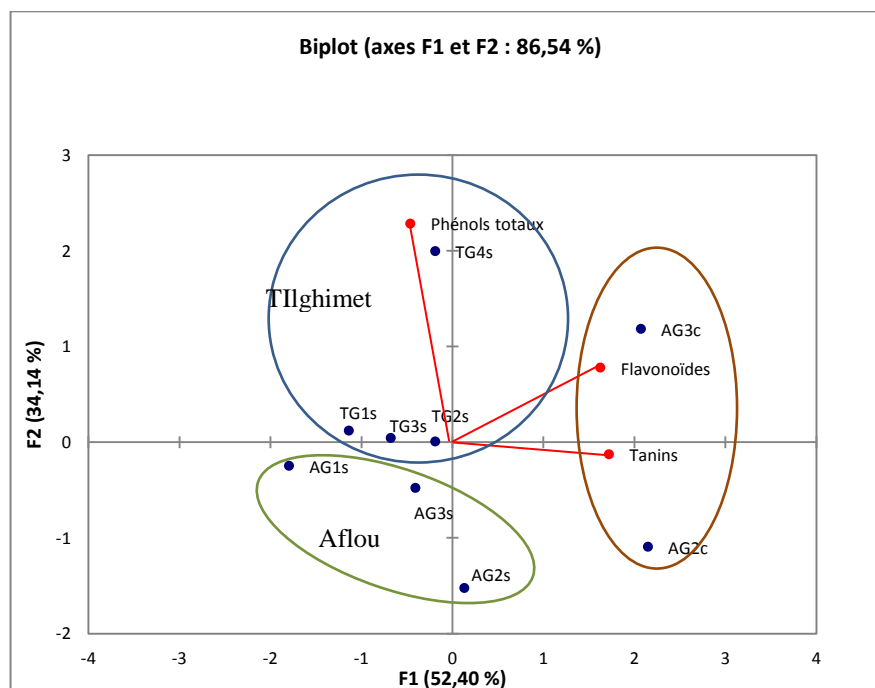


Figure II.15: ACP des extraits phénoliques des tourteaux des galles des deux sites.

Notre ACP (avec un taux assez informatif de 86,54%) montre trois groupes distincts. Le premier regroupe les galles sphériques de la région de Tilghimet, caractérisé par des teneurs élevées en phénols totaux. Cependant, ce groupe est caractérisé par une teneur mitigée en flavonoïdes et en tanins. Le deuxième groupe, présente les galles circulaires de la région d'Aflou. Il est caractérisé par des teneurs substantielles en flavonoïdes et en tanin. Le troisième groupe, comprend les galles sphériques de la région d'Aflou.

Ces résultats mettent l'accent sur les galles circulaires notamment celles de la région d'Aflou qui méritent des études complémentaires approfondies.

Conclusion générale

A travers la présente étude, nous nous sommes intéressées à plusieurs paramètres qu'a sont le rendement d'extraction, la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante

(DPPH et FRAP) sur des extraits phénoliques obtenus par macération dans le méthanol à partir des feuilles, des fruits et des galles de *Pistacia atlantica* de deux sites différents : Telghimet et Aflou. Les résultats obtenus peuvent être récapitulés comme suit :

- Les tourteaux des galles présentent le rendement d'extraction le plus élevé.
- la teneur en polyphénols des extraits de tourteaux des feuilles et des galles est plus importante que celle des fruits.
- Le dosage quantitatif des flavonoïdes montre que les fruits matures en sont très riches.
- la teneur en tanins des extraits de galles est la plus élevée, résultat rapporté pour la première fois.
- L'activité antioxydante des extraits, évalué par les tests DPPH et FRAP, révèle que les extraits des feuilles sont les plus actifs, suivis de ceux des galles et enfin ceux des fruits.
- Il n'y a pas de différence significative pour l'ensemble des paramètres entre les deux sites. Ceci met en exergue l'importance de l'effet de la variation des paramètres météorologiques (température et précipitations) d'une saison à une autre sur la composition et l'activité des extraits phénoliques. Ce facteur ne serait pas le seul car d'autres (génétiques, édaphiques,...) pourraient être impliqués.
- En dépit de différences non significatives entre les deux sites, l'analyse de données à montré des groupes distincts. Le groupe des feuilles de la région de Tilghimet est caractérisé par des teneurs importantes en phénols totaux associées à un pouvoir antioxydant témoigné par une capacité équivalente élevée et des EC50 bas. Cependant, ce groupe se distingue par une teneur faible en flavonoïdes. Le deuxième groupe, quant à lui, comprend les feuilles de la région d'Aflou. Il est caractérisé par une teneur en flavonoïdes élevée, mais il est moins riche en phénols totaux et moins actif.

Les résultats obtenus contribuent à mieux comprendre l'effet de facteurs climatiques sur la composition chimiques l'activité d'extraits de plantes. Ceci permettrait de connaître les facteurs associés à une meilleure composition et activité.

Notre travail ouvre de nouvelles perspectives pour de nouvelles études. En premier lieu apparait la caractérisation (par HPLC par exemple) des composés phénoliques notamment ceux autres que les flavonoïdes et les tanins. Par ailleurs, nous recommandons de procéder à des études prenant en considération un échantillon plus large, des périodes plus étalées comprenant plusieurs saisons et même l'analyse physicochimique du sol.

Il est important de diversifier le panel des activités anti oxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas aller vers d'autres tests biologiques: anti-tumoral et anti-inflammatoire.

Enfin, les galles circulaires méritent de plus amples études. Il semblerait qu'elles recèlent beaucoup de mystères !

Références bibliographique

Références bibliographie

Afonso Vale'ry, Romuald Champy, Dragoslav Mitrovic, Pascal Collin, Abderrahim Lomri (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases Elsevier Masson SAS. 324-329

Aganga A. A. and Mosase K.W., (2001).Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91:107-113

Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41: 1–15.

Al-Saghir, M.G., Porter, D.M. (2012).Taxonomic revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *Am. J. Plant Sci.* 3: 12-32.

Atoui, A. K.; Mansouri, A.; Boskou, G.; Kefalas, P. (2005).Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry* 89, 27-36.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem*, 112: 303–309

Baba Aissa F.(2000). Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident). Rouiba (Algérie): EDAS-Librairie, p. 45.

Beaudeau, J. L., et Geneviève, D. (2011). Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2ème édition. Edition Lavoisier Chantal Arpino, p 130, 131.

Belyagoubi Née Benhammou, N. (2011) Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algériende thèse d'un Doctorat en Biologie Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen

Belhadj S. (2003). Les pistacheraies Algériennes : Etat actuel et dégradation centre Universitaire de Djelfa., 107-109.

Belhadj S., Derridj A., Aigouy T., Gers C. et Gauquelin T. (2007). Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.,Anacardiaceae). *Microscopy Research et Technique* 70:837-846.

BenAhmed Z, Yousfi M, Johan V, Bieke D, Kristiaan D, Debby M & Y Vander H (2017).Seasonal, gender and regional variations in total phenolic, flavonoid, and condensed tannins contents and in antioxidant properties from *Pistacia atlantica* ssp. *Leaves Pharmaceutical Biology*. 1, 1185–1194

Benamar H, Marouf A et Bennaceur M, (2018). Phytochemical composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of aqueous extract and fractions of *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* from Algeria, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*1540-3580.

Références bibliographie

- Benamar H., Rached W., Dourdour A and Marouf A., (2010).** Screening of Algerian medicinal plants for acetyl cholinesterase inhibitory activity. *Journal of Biological Sciences*, 10(1): 1-9.
- Benarous Kh., (2018).** Huiles essentielles, alcaloïdes et composés phénoliques : Cours et exercices corrigés, édition universitaire européenne 161p.
- Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G., et Monks, T. J. (2000).** Role of quinones in toxicology. *Chem. Res. Toxicol*, 13: 135.
- Bravo L., (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56 (11): 317-333.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} éd. Tec et Doc. Paris, 658p
- Brunetti C, Guidi L, Sebastiani F, Tattini M.(2015).** Isoprenoids and phenylpropanoids are key components of the antioxidant defense system of plants facing severe excess light stress. *Environ Exp Bot*. 119:54–62.
- Cano, N., Barnoud, D., Schneidre, S., Vasson, M. P., Hasselmann, M., et Leverve, X. (2007).** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. 3^{ème} édition. Edition springer- Verlag, p 254.
- Chehrit-hacid,F. (2016).** Etude de la variabilité biochimique, physiologique et évaluation des activités biologiques des polyphénols de deux espèces du genre Pistacia (*P. lentiscus* L. et *P. atlantica* Desf.). Thèse de doctorat en biologie végétal. Université Mouloud Mammeri de TiziOuzou : 117p.
- Chopra R.N., Nayar S.L. and Chopra I.C., (1986).** Glossary of Indian medicinal plants (Including the supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi
- Cohen, H.,J., Chovaniec, M.E .(1978).** Superoxide generation by digitonin stimulated guinea pig granulocytes. A basis for continuous assay for monitoring superoxide production and for the study of activation of generating system, *Journal. Clin .Invest* .**61**, 1081-1087
- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.
- Daneshrad A et Y. aynehchi (1980).** Chemical Studies of the Oil Pistacia Nuts Growing Wild in Iran. *Oil Chem. Soc.*, **57** : 248-249.
- Delattre, J., Beaudoux, J. L., et Bonnefont-Rousselot. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Edition Lavoisier TEC et DOC éditions Médicales Internationales, Paris, p 14, 93, 94.
- El-Waziry, A.M. (2007).** 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

Références bibliographie

- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini Ana, E.C.S., Fonseca Maria, J.V. (2003).** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS Pharm Sci*, 5 (2) : 1-5.
- Ghaffari, S.M., Shabazaz, M., Behboodi, B.S. (2003).** Chromosome variation in Pistacia genus. XHIeme reunion de GREMPA sur l'Amandier et le Pistachier. Portugal. Options mediterraneennes, Serie A, Seminars mediterraneens. p. 63.
- Guersasse A , (2018)** دراسة فيتوكيميائية و النشاط المضاد للأكسدة للزيوت و المستخلصات الفينولية من الاوراق والثمار والعفص للفسق الاطلسي مذكرة لنيل شهادة ماجستير في البيولوجيا المدسة العليا للاستاذة طالب عبد الرحمن الاغواط
- Guenane H (2017)** Activites biologiques des extraits lipidiques des fruits du Pistachier de P Atlas (*Pisatlantica* Desf.). Thèse de doctorat Spécialité: Biologie Option : Biochimie L'université KASDIMERBAH-OUARGLA 287p.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., et Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62, 628 – 638.
- Harborne J. B. Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis (1975).** British Library Cataloguing in Publication Data Harborne, Jeffrey Barry
- Harfouche, A., Chebouti-meziou, N., Chebouti, Y. (2005).** Comportement compare de quelques provenances algeriennes de Pistachier de l'Atlas introduites en reserve naturelle de Mergueb (Algerie). *Foret mediterraneenne*. t. XXVI (n°2): 135-142.
- Hatamnia, A.A., Abbaspour N., Darvishzadeh, R. (2014).** Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemi*. 145: 306-311.
- Hemma R, Belhadj S, Ouachia C et Saidi F (2018).** Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Pistacia lentiscus* L. *Revue Agrobiologia* 8(1): 845-852.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- Hussain, N., Irshad, F., Jabeen, Z., Haider Shamsi, I., Li Z., Jiang, L. (2013).** Biosynthesis, Structural, and Functional Attributes of Tocopherols in Plant; Past, Present, and Future Perspectives. *J. Agric. Food. Chem.* 61: 6137-6149.
- Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., Yusuf, S. (1995).** The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Ann. Intern Med*, 123: 860.

Références bibliographie

- Kasote Deepak M., Surendra S. Katyare, Mahabaleshwar V. Hegde, and Hanhong Bae(2015).** Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications *Int J Biol Sci.* 11(8): 982–991.
- Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20 : 165–177.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly. C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*, 45: 244-249.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., Abdelly, C. (2008).** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol*, 331: 865- 873.
- Landis, G.N., Tower, J. (2005).** Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech. Ageing Dev.* 126: 365–379.
- Lee, J., Koo,N. et Min ,D.B. (2004).** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals . *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safty*, 3: 21-33.
- Leong, LP., Shui, G. (2002).** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.
- Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. and Tian Y., (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimistry*, 102: 771-776
- Liu S, Huang H. (2014).** Assessments of antioxidant effect of black tea extract and its rationals by erythrocyte haemolysis assay, plasma oxidation assay and cellular antioxidant activity (CAA) assay. *J Funct Foods.* 18:1095–1105.
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V., Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- Maamri, S. (2008).** Etude de *Pistacia atlantica* de deux regions de sud algerien : dosage des lipides, dosage des polyphenols, essais antileishmaniens. Memoire de Magister es sciences. Universite M'hamed Bougara. Boumerdes. 108p.
- Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux.* Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes.
- Manach, C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. et Jimenez L. (2004).** Polyphénols: food sources and bioavaibility. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727-747.
- Matés J.M. (1999).** Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry* 38: 595-603.

Références bibliographie

- Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S. (2004).** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem. Rev.* 3 :173-193
- Mohammedi Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie .Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou beker , Tlemcen Algérie
- Monjauze A. (1968).** Répartition et écologie de *pistacia atlantica* Desf . en Algérie. *Bull. Soc. Nat. De l'Afrique du Nord.* 60,pp.5-131.
- Monjauze A. (1980).** Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. *Biologie et foret. Revue forestière française,* 4, 357-363.
- Morena, M., Martín-mateo, M., Cristol, J. P., et Canoud, B. (2002).** Stress oxydant, hémo compatible et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie,* 23 (5), 201 – 208.
- Monstra F,M Rovia .Fj .Vargas, M. A.Romero .I. Battle, D. Rouskas et A Mendes Gaspar (2003).** Caractérisation isoenzymatique de diverses espèces du genre *pistacia vera* L. Ed : CIHEAM-Options Méditerranéennes.
- Niki, L., Reynaert, S. W., Aesif, T. M., Amy, B., Emiel, F. M., Wouters, C. G., Irvin., Yvonne, M. W., et Janssen-Heininger. (2007).** Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology,* 178, 3814 – 3821.
- Price ML, Van Scoyoc S, Butler LG.(1978).** A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agri Food Chem,* 26:1214-1218.
- Psotová J., Lasovský J. and Vičar J., (2003).** Metal-chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomed. Papers,* 147(2): 147–153.
- Razali N, Mat-Junit S, Abdul-Muthalib AF, Subramaniam S, Abdul-Aziz A. (2012).** Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. *Food Chem,* 131:441-448
- Sifi I, Gourine N, Gaydoub M. et Yousfi M (2015).** Chemotypes of essential oil of unripe galls of *Pistacia atlantica* Desf. From Algeria Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters 10.1080
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Met. Enzym.* 299: 152-178
- Smirnoff N. (2005).** Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants; Ed BLACK WELL. P: 141-210.

Références bibliographie

- Smith, A.R., Shenvi, S.V., Widlansky, M., Suh, J.H., Hagen, T.M. (2004).** Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr. Med. Chem*, 11: 1135– 1146.
- Sun, T., Powers, J.R., Tang, J. (2007).** Evaluation of the antioxidant activity of asparagus broccoli and their juices. *Food Chem*, 105: 101-106.
- Salunkhe, O. K. (1989),** Dietary Tannins : consequences and remedies, CRC Press, Boca Raton,FL.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkurkcu, C., Ozturk, M., Ulubelen, A. (2007).** A new flavones from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chem*, 103 : 816–822
- Thorne, R.F., Reveal, J.L. (2007).** An updated classification of the class Magnoliopsida ("Angiospermae"). *The Botanical Review*. 73(2): 67-182.
- Taghizadeh F, Davarynejad G, Asili J, Nemati H, Karimi G (2018).** Assessment of phenolic profile and antioxidant power of five pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars collected from four geographical regions of Iran. *Avicenna J Phytomed.*; 8 (1): 33-42.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interac.* 160: 1-40.
- White N. (1994).** Artemisinin: Current status. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 88:3- 4.
- Waridel P,(2003).** Investigation phytochimique des plantes aquatiques *Potamogeton pectinatus* L., *P. lucens* L., *P. perfoliatus* L. et *P. crispus* L. (Potamogetonaceae). Thèse de doctorat Université de Lausanne.
- Yaaqobi A., El Hafid L. et Haloui B., (2009).** Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc, *Biomatec Echo*, 3 : 39-49.
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.*, 59 : 113-122.
- Yoram G. Inbar M. (2011).** Distinct antimicrobial activities in aphid galls on *Pistacia atlantica*, *Plant Signaling & Behavior*, 6:12, 2008-2012.
- Yousfi, M., Nedjmi, B., Belial, R., Ben Bertal, D., Palla, G. (2002).** Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 79 (10): 1049-1050.
- Yousfi, M., Nedjemi, B., Belal, R., Ben bertal, D. (2003).** Etude des acides gras de l'huile de fruit de Pistachier de l'Atlas algérien. *Oleagineux. Corps gras. Lipides.* 10 (5-6): 425-427.
- Yousfi, M., Nadjemi, B., Belal, R., Bombarda, I., Gaydoud, E-M. (2005).** Triacylglycerol composition of oil from *Pistacia atlantica* of fruit growing in Algeria. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 82 (2): 93-96.

Références bibliographie

Yousfi M., Djeridane A., Bombarda I., Hamia C., Duhem B. et Gaydou E. M. (2009). Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant Extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytotherapy Research* 23: 1237-1242

Zhishen, J., Mengcheng, T. Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64:555-559.

Zohary, M. (1952). A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestine J. Bot. Jerusalem.* Vol. 5: 187-228.

Annexes

Annexe 1

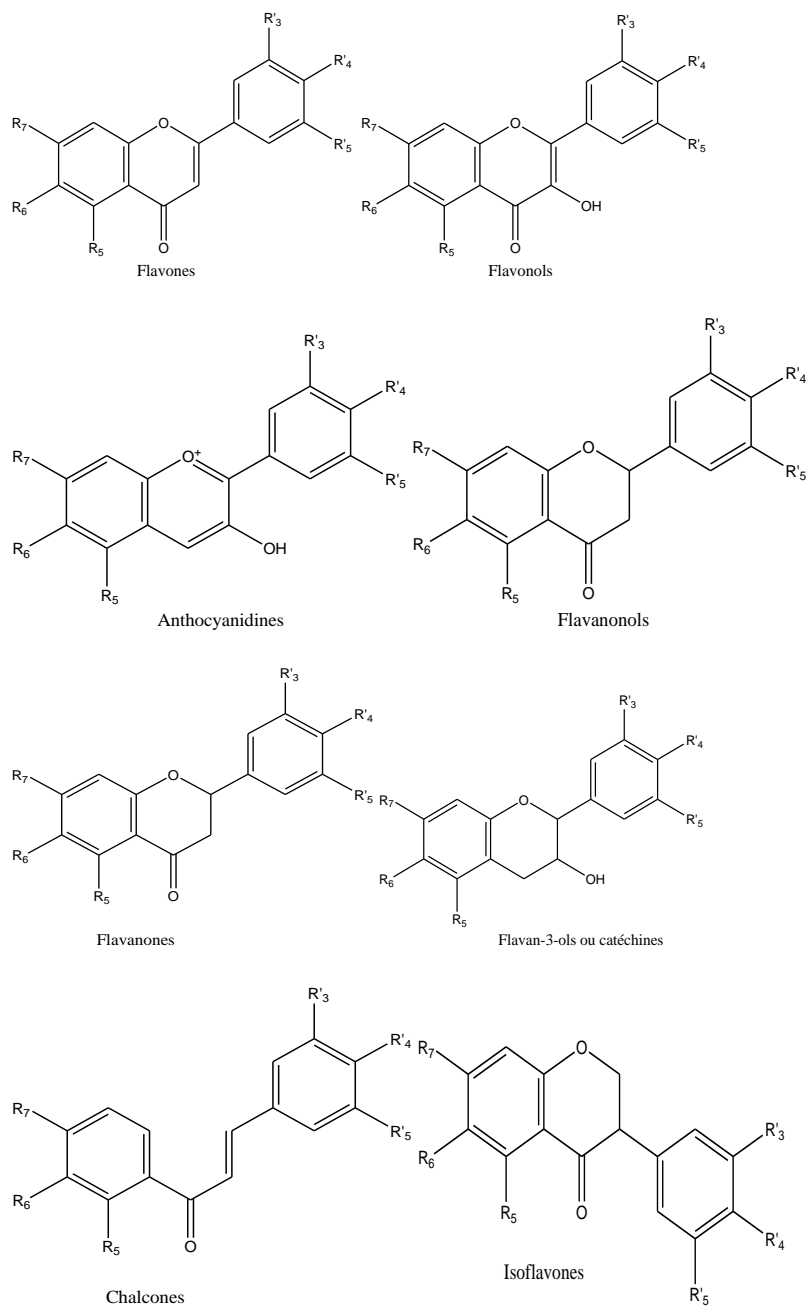
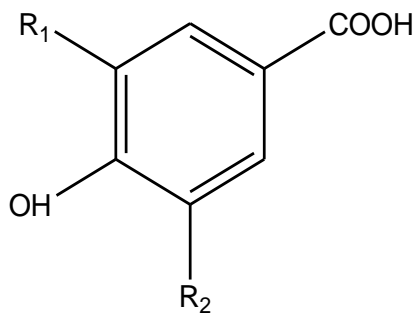
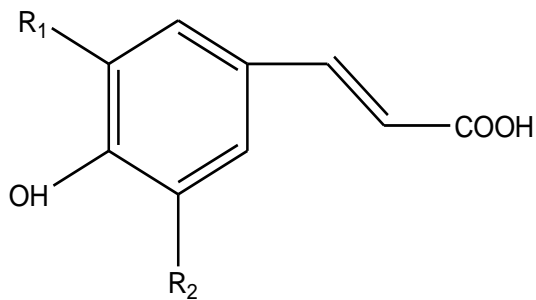


Figure: Structures des différentes classes des flavonoïdes



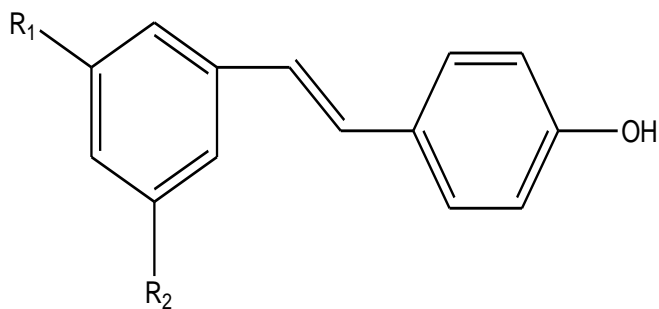
Acides hydroxybenzoïques	R ₁	R ₂
Acide hydroxybenzoïque	H	H
Acide protocatechique	OH	H
Acide vanillique	OCH ₃	H
Acide gallique	OH	OH
Acide syringique	OCH ₃	OCH ₃

Figure: Les dérivés de l'acide p-hydroxybenzoïque



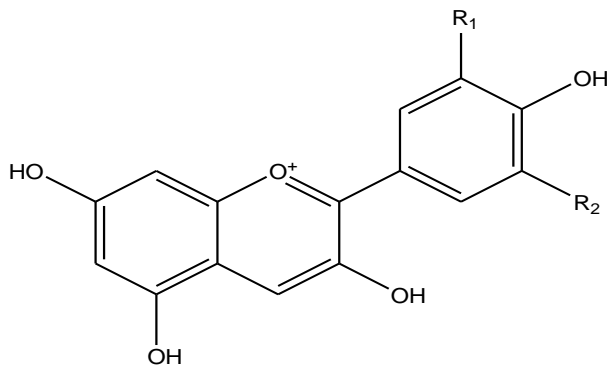
Acides hydroxycinnamiques	R ₁	R ₂
Acide p-couramique	H	H
Acide caféique	OH	H
Acide férulique	OCH ₃	H
Acide sinnamique	OCH ₃	OCH ₃

Figure: Les acides hydroxycinnamiques



Stilbènes	R ₁	R ₂
Pterostilbène	OCH ₃	OCH ₃
Resvératrol	OH	OH
Picéïde	OGL	OH

Figure: Structures chimiques de quelques stilbènes



Anthocyanidol	R ₁	R ₂
Pélargonidol	H	H
Cyanidol	OH	H
Delphinidol	OH	OH
Péonidol	OCH ₃	H
Pétunidol	OCH ₃	OH
Malvidol	OCH ₃	OCH ₃

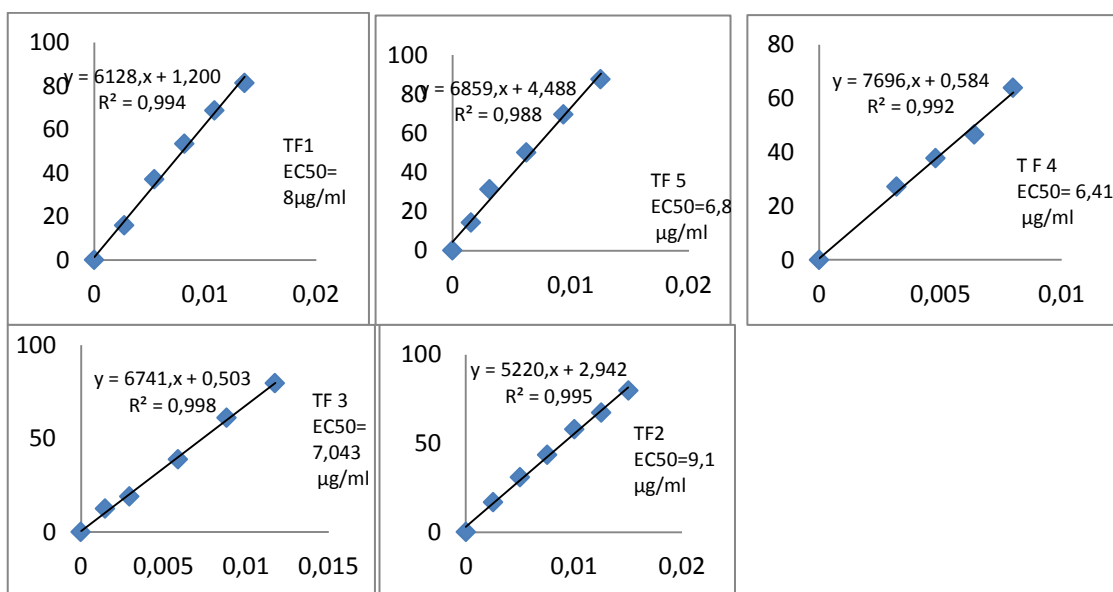
Figure : Structure de base des anthocyanes

Annexe

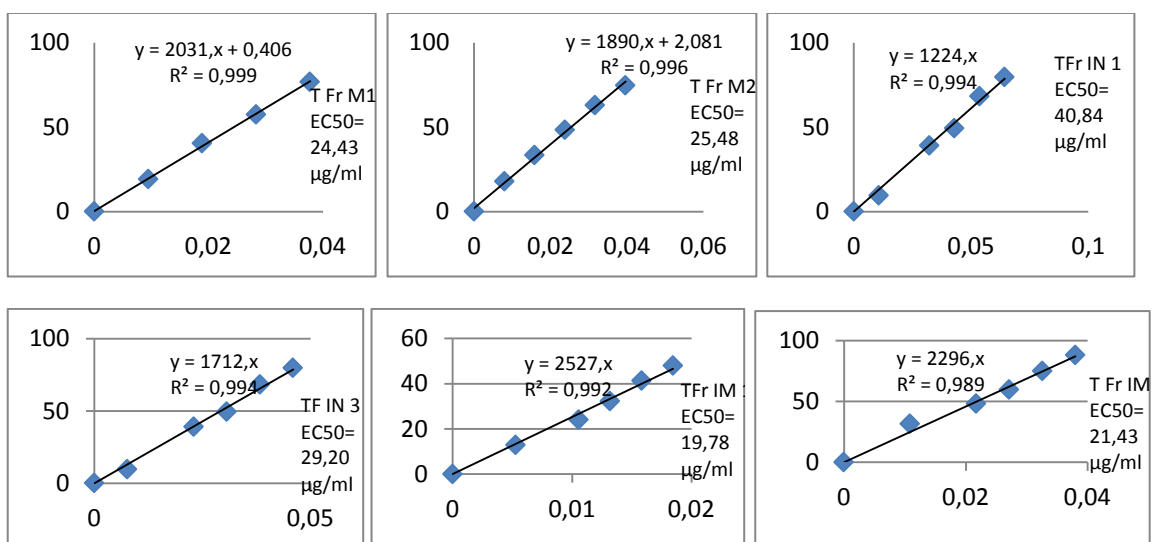
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition % des radicaux libres DPPH en fonction de la concentration ($\mu\text{g/ml}$) des extraits phénoliques bruts des tourteaux pour chaque échantillon de deux sites:

La région de Tilghimet

Les feuilles

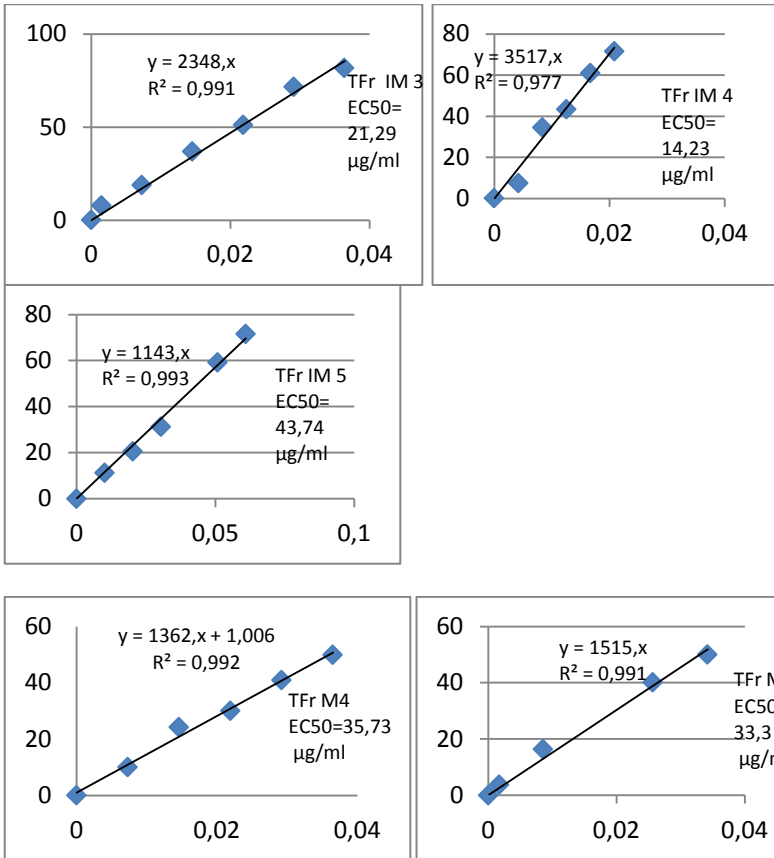


Les fruits

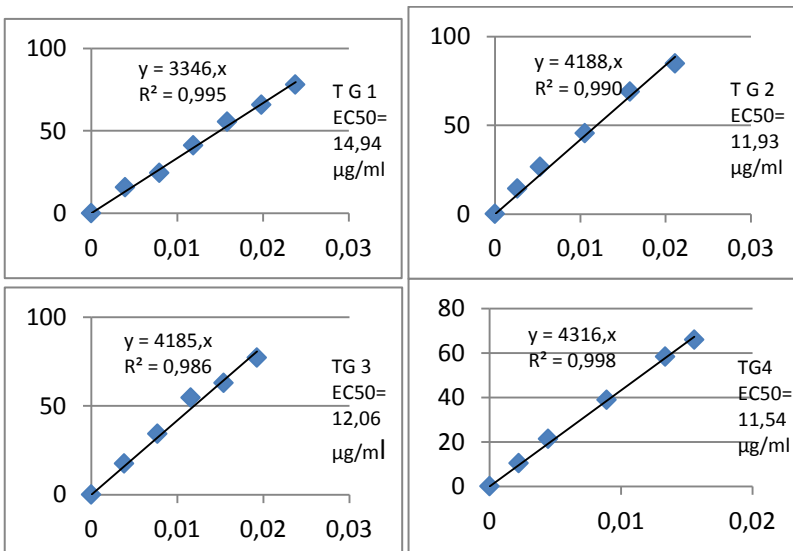


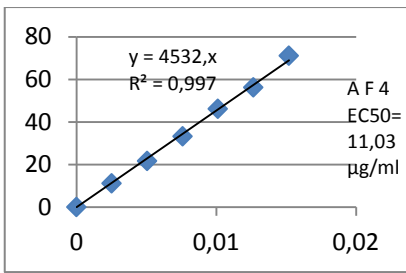
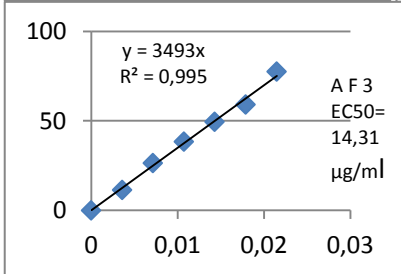
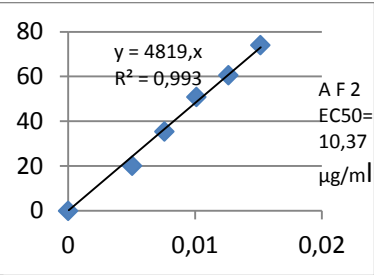
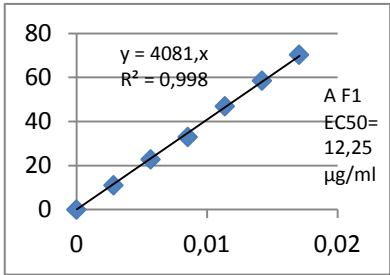
La region d'Aflou

Les feuilles

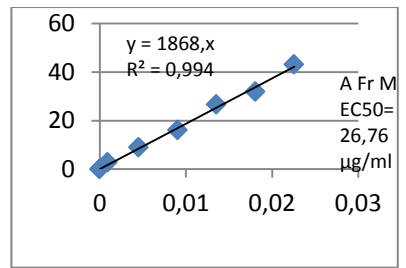
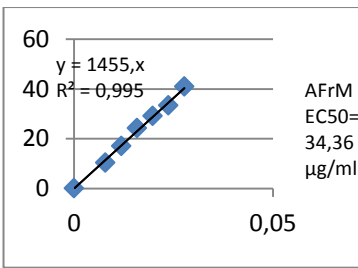
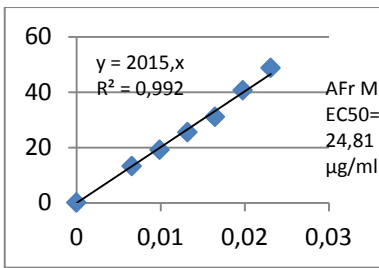


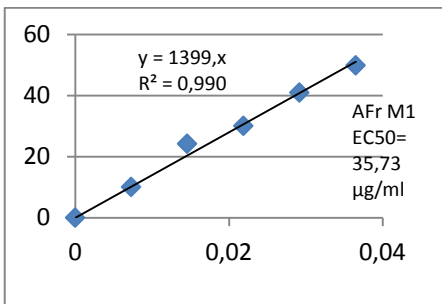
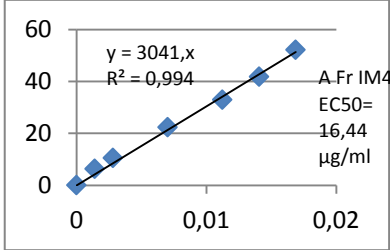
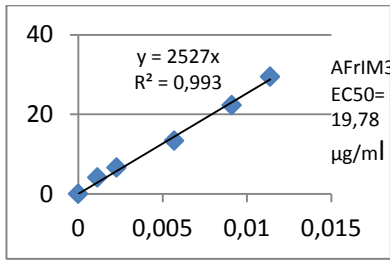
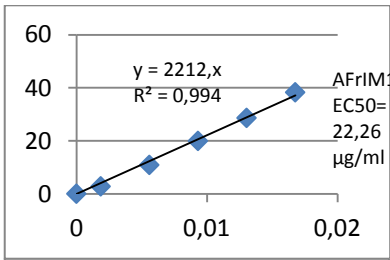
Les galles





Les fruits





Annexe 3

Tableau: Données climatiques enregistrées au niveau de la station météorologique de HassiR'mel

Année	Mois	T moyenne en °C	Précipitation (mm)
2016	Janvier	10,7	00
	Février	12,0	00
	Mars	14,0	00
	Avril	20,3	1,7
	Mai	27,7	00
	Juin	29,6	00
	Juillet	32,3	00
	Aout	30,6	00
	Septembre	26,2	22,7
	Octobre	21,9	5,0
	Novembre	13,4	5,1
	Décembre	9,0	18,3

Annexe 4

Test de signification (loi de student)

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s_p \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

avec :

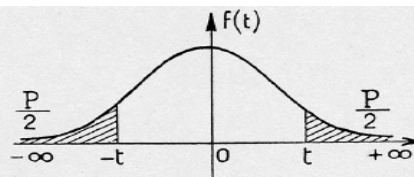
$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_{X_1}^2 + (n_2 - 1)s_{X_2}^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Cas des petits échantillon : $n_x, n_y < 30$ n_x, n_y nombre des effectives

Dans cette études, nous avons choisi le seuil de sécurité de 95%

*si la valeur calculée $< t$ (la valeur lue sur le tableau du student) la différence entre les deux échantillon n'est pas significative.

* si la valeur calculée $> t$ (la valeur lue sur le tableau du student) la différence entre les deux échantillon est significative



$\frac{P}{2}$	0,90	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	0,325	0,510	0,727	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,289	0,445	0,617	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,277	0,424	0,584	0,785	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,929
4	0,134	0,271	0,414	0,569	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,611
5	0,132	0,267	0,408	0,559	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,265	0,404	0,553	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,263	0,402	0,549	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,262	0,399	0,546	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,261	0,398	0,543	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,260	0,397	0,542	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,260	0,396	0,540	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,259	0,395	0,539	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,259	0,394	0,538	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,258	0,393	0,537	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,258	0,393	0,536	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,258	0,392	0,535	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,257	0,392	0,534	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,257	0,392	0,534	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,257	0,391	0,533	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,257	0,391	0,533	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,257	0,391	0,532	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,256	0,390	0,532	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,256	0,390	0,532	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,256	0,390	0,531	0,685	0,857	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,256	0,389	0,531	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,126	0,255	0,388	0,529	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
80	0,126	0,254	0,387	0,527	0,679	0,848	1,046	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,126	0,254	0,386	0,526	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
∞	0,126	0,253	0,385	0,524	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

Annexe 5

Les réactifs et les produits chimiques

1	Acideascorbique (vitamine C)
2	Acidegallique
	Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)
3	Catéchine
4	DPPH : 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl
5	Folin-Ciocalteu
6	Méthanol
7	Quercitine
8	AlCl ₃ :Chlorured'aluminium
9	Vanilline

Les équipements et matériels

Les équipements
Balanceélectronique
Etuve
Rotavapeur
Spectrophotomètre UV visible
Vortex

Les matériels

Matériels
Ballon a rond 250ml,500ml
Bécher,100ml,200ml
Cuvette de spectrophotomètre(en plastique)
Entonnoir
Eprouvette graduée de 10ml,100ml
Erlenmeyer
Jaugée de 50ml,100ml
Réfrigérant
Spatule
Tube a essays

Annexe 6

Les moyennes et les écarts types

Les moyennes de rendement (%) :

	Moy Rend Tilghimet %	Moy Rend Aflou%
Les Feuilles	34,72 ± 11,47	36,89 ± 7,09
Les fruits (immature)	10,54 ± 5,16	13,14 ± 2,51
Les fruits (mature)	6,57 ± 1,73	7,73 ± 2,92
Les fruits (intermediaries)	6,82 ± 1,77	/
Les galles	36,50 ± 6,76	40,52 ± 8,98

Les teneurs en phénols totaux (mg Eq AG/g MS) :

	Moy Ph tot Tilghimet	Moy Ph tot Aflou
Les Feuilles	734,71 ± 183,60	685,07 ± 149,99
Les fruits (immature)	208,30 ± 46,85	179,73 ± 39,11
Les fruits (mature)	138,66 ± 49,85	115,40 ± 23,41
Les fruits (intermediaries)	216,26 ± 88,67	/
Les galles	505,40 ± 89,39	344,96 ± 106,64

Les teneurs en flavonoïdes (mg Eq Q/g MS) :

	Moy Flav Tilghimet	Moy Flav Aflou
Les Feuilles	12,05 ± 6,35	21,98 ± 6,28
Les fruits (immature)	32,84 ± 22,73	14,72 ± 2,25
Les fruits (mature)	55,28 ± 58,32	50,33 ± 26,69
Les fruits (intermediaries)	46,79 ± 22,39	/
Les galles	4,17 ± 1,54	6,07 ± 2,23

Les teneurs en tanins (mg Eq CA/g MS) :

	Moy Tanins Tilghimet	Moy Tanins Aflou
Les Feuilles	45,15 ± 21,18	34,19 ± 12,33
Les galles	662,25 ± 80,49	677,57 ± 215,88

Les moyennes d'EC50 (µg/ml) :

	Moy EC50 Tilghimet	Moy EC50 Aflou
Les Feuilles	6,23 ± 3,20	11,99 ± 1,73
Les fruits (immature)	24,10 ± 11,37	19,61 ± 3,08
Les fruits (mature)	31,31 ± 8,26	30,42 ± 5,44
Les fruits (intermediaries)	39,90 ± 10,26	/
Les galles	12,62 ± 1,56	/

Les moyennes de FRAP (Capacité équivalente μmol de vitamine C /g extrait brut) :

	Moy FRAP	Moy FRAP
Les Feuilles	2511,44 \pm 683,23	1953,76 \pm 460,03
Les fruits (immature)	673,46 \pm 162,21	590,34 \pm 116,54
Les fruits (mature)	625,61 \pm 169,16	377,68 \pm 121,95
Les fruits (intermediaries)	376,71 \pm 130,93	/
Les galles	935,05 \pm 250,12	/