

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
Département des Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique appliquée

Présenté Par :

M^{elle} HABIB Zoubida & M^{elle} HAMDINI Kheira Ikram

THEME

Evaluation de l'activité antioxydante de la fraction lipidique insaponifiable d'*Achillea santolina* L locale

Soutenu publiquement le 03 juillet devant le jury composé de :

| | | |
|----------------------|------------|--------------|
| Mr. YOUSFI Mohamed | Professeur | Président |
| Mme. HAMIA Chahrazed | M.C.A | Examinatrice |
| Mr. BENALIA Mohamed | M.C.B | Encadreur |
| Mr. BENRAMDANE Tayeb | M.C.B | Co-encadreur |

Année Universitaire : 2021- 2022

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, pour la force et la patience d'avoir pu accomplir ce Modeste travail.

La réalisation de ce travail a été réalisée au Laboratoire des Sciences Fondamentales LSF à l'université de Laghouat sous la direction du *Professeur Mohamed Yousfi*, nous tenons à le remercier pour l'orientation, et sa confiance, et sa patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Il a su apprécier avec justesse nos difficultés et apaiser nos doutes en proposant sans imposer. Merci infiniment. Nous avons eu beaucoup de plaisir à travailler à ses côtés.

Nos remerciements particulièrement vont à notre encadreur Docteur *Mohamed Benalia* pour l'honneur qu'il nous a fait en nous encadrant et pour l'aide précieuse qu'il nous a apportée, pour ses remarques et ses conseils avisés qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous adressons également un grand merci à notre Co-encadreur *Tayeb Benramdane*, Docteur à l'ENS Taleb Abderrahmane (Laghouat), pour son aide inestimable, sa contribution judicieuse, sa gentillesse et sa main tendue dans les bons et les moins bons moments.

Nous remercions aussi le chercheur de laboratoire des sciences fondamentales Docteur *Mohamed Harrat*, pour sa disponibilité, ses conseils précieux et avisés, son soutien inouï et sa générosité exceptionnelle.

Ainsi, nous adressons notre gratitude et notre honneur respect à :

- Monsieur *Mohamed Yousfi*, professeur à l'université de Laghouat, pour avoir accepté de présider le jury de notre mémoire. Nous aimerons le remercier.
- Madame *Chahrazed Hamia*, maître de conférence à l'université de Laghouat, d'avoir accepté d'évaluer et examiner ce manuscrite de mémoire. Qu'elle trouve ici le témoignage de notre gratitude.

Nous remercions toute l'équipe administrative et pédagogique du département des sciences de la matière de l'université Amar Thelidji et à tous ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et encouragement durant la réalisation de ce travail.

Merci pour tous ceux qui ont participé à la réussite de ce mémoire. J'espère bien que ce modeste travail pourra servir aux générations qui viennent et rajouter quelque chose dans le domaine de la recherche.



Dédicace

Je remercie premièrement le Dieu tout puissant qui ne cesse de me protéger, merci seigneur de m'accorder ta bénédiction à travers ma soutenance.

Du fond de mon cœur, je dédie ce présent travail :

A MON TRÈS CHER PÈRE autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A ma chère sœur : Kaouthar mon conseiller, et amie fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles... Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ton aide précieuse. Je te souhaite tout le succès ... tout le bonheur

A mon beau-frère Souhaib merci d'être toujours là pour moi

Au prince de notre famille Amir Taha que dieu te protège pour nous

A Mon grand-père POPA HADJ ABBAS, qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.

A ma chère amie et binôme Zoubida être toujours à mes côtés je te remercie pour ton amitié, et je te souhaite tout le bonheur du monde. Toute mon affection pour ton admirable famille, que je remercie beaucoup Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je te dis merci.

A mes amies : Sabrina, Tourkia, Afrah, Maroua, Abir, Khadjidja, Fatima, Asma et que notre amitié dure pour toujours

En mémoire de ma copine qui nous a quittée récemment Nour KAOUS Allah yarhamek, repose en paix

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible.

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime, et à ceux qui j'ai oublié de les citer. Je vous dédie ce travail.

Merci a tous.





Dédicace

Je remercie tout d'abord mon Dieu le tout puissant qui m'a donné la volante, la force et le dévouement pour réaliser ce modeste travail

Je dédie ce modeste travail :

*À la mémoire de ma très chère et regrettée ma première mère **SALMA**, que je n'oublierai jamais, dont je regrette l'absence . . . Ses prières et ses bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études
À ma très chère **Maman**, En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de mon profond amour. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour. Tu n'as cessé de m'encourager et me soutenir durant toutes les années de mes études. Tu es toujours présente quand il le fallait, que Dieu te garde pour nous ma chérie.*

*À mon héros **Papa**. Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de responsabilité et de confiance, je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai le meilleur pour ne jamais te décevoir. Que Dieu t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

*À mes adorables sœurs : « **MAROUA** », « **NAÏMA** » pour l'amour qu'elles me réservent et leurs sacrifices*

*À mes frères « **Mohamed** », « **Ahmed-Abdeljalil** », et « **Ibrahim-Khalil** », pour l'amour qu'ils ont réservé.*

Je leurs souhaite une vie pleine de bonheur, de succès.

À mes tantes et oncles chacun par son prénom

À toute ma famille sans aucune réserve, qui m'ont donné de leur volantes et force pour continuer mes études

*À mes amies « **Khadidja** », « **Fatima Zohra** », « **Abir** », « **Madjeda** », « **Tourkia** », « **Faten** » « **Messaouda** », « **Maria** », « **Hasna** », « **Walida** », « **Choumaïssa** » « **Nour** » et « **AFAF** » Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur*

*À ma chère binôme **Ikrām** ou **Kami** comme j'ai toujours appelé, qui a été pour moi la sœur que la providence m'a envoyée et qui a partagé avec moi le travail, d'avoir eu la patience et le courage pour achever ce travail, et à toute sa honorable famille. Surtout son grand-père « **Papa** »*

À toute mes collègues et la promotion de Master 2 chimie organique.

À tous ceux qui m'ont appris une lettre dans ma vie.

Merci à tous



Liste des abréviations

AA% : Activité antioxydante.

AAO : Activité antioxydante.

Blanc : Blanchissement

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EOR : Espèces oxygénées réactives.

E β C : Équivalent en β -carotène.

EVE :Équivalent en vitamine E.

E β S :Équivalent en β -sitostérol.

g : gramme.

Insapo : Insaponifiable.

mg : milligramme.

PAR : pouvoir anti-radicalaire

R(%) : Rendement.

UV-VIS : Ultra-violet-visible.

VEEAC : Capacité antioxydante équivalente en vitamine E

Vit E : Vitamine E.

% : Pourcentage.

μ : Micro.

Liste des figures

| | | |
|-----------------|--|-----------|
| Figure 1 | La plante <i>Achillea santolina</i> | 06 |
| Figure 2 | Réduction du radical libre DPPH | 11 |
| Figure 3 | Courbe d'étalonnage de la vitamine E | 17 |
| Figure 4 | Courbe d'étalonnage de β -sitostérol | 18 |
| Figure 5 | Courbe d'étalonnage de β -carotène | 20 |
| Figure 6 | Courbe d'étalonnage de la Vit E dans le test de DPPH | 21 |
| Figure 7 | Courbe d'étalonnage de la Vit E dans le test de blanchissement | 23 |

Liste des tableaux

| | | |
|------------------|---|-----------|
| Tableau 1 | Produits chimiques et réactifs utilisés dans ce travail | 07 |
| Tableau 2 | Teneurs en lipides, en Insaponifiables et les propriétés physiques des lipides de l' <i>Achillea santolina</i> | 15 |
| Tableau 3 | Quantités des tocophérols dans les extraits lipidiques de l' <i>Achillea santolina</i> | 17 |
| Tableau 4 | Quantités des stérols dans les extraits lipidiques de l' <i>Achillea santolina</i> | 18 |
| Tableau 5 | Quantités des Caroténoïdes dans les extraits lipidiques de l' <i>Achillea santolina</i> | 20 |
| Tableau 6 | les valeurs des VEEAC dans les extraits lipidiques dans le test de DPPH | 22 |
| Tableau 7 | les valeurs des VEEAC dans les extraits lipidiques dans le test de blanchissement | 23 |
| Tableau 8 | Corrélation entre les tocophérols, stérols, caroténoïdes et VEEAC (DPPH et blanchissement du β -carotène) | 24 |

Sommaire

| | |
|---|------------|
| Liste des abréviations | I |
| Liste des figures | II |
| Liste des tableaux | III |
| I. Introduction générale | 01 |
| II. Matériel et méthodes | |
| II.1. Matériel | 06 |
| II.1.1. Matériel végétal | 06 |
| II.1.1.2. Description et Classification Botanique | 06 |
| II.1.3. Standard et réactifs chimiques | 07 |
| II.2. Méthodes | 07 |
| II.2.1. Préparation des échantillons | 07 |
| II.2.2. Extraction des lipides | 07 |
| II.2.3. La fraction insaponifiable | 08 |
| II.2.4. Dosage de tocophérols totaux | 09 |
| II.2.5. Dosage de stérols totaux | 09 |
| II.2.6. Dosage des caroténoïdes totaux | 10 |
| II.2.6.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits lipidiques par le test de DPPH | 11 |
| II.2.6.2. Test de blanchissement du β -carotène | 12 |
| III. Résultats et discussion. | |
| II.1. Extractions et analyses des lipides | 15 |
| III.1.1. Teneurs et fractions insaponifiables des lipides | 15 |
| III.2. Quantification des insaponifiables | 16 |
| III.2.1. Dosage des Tocophérols totaux | 16 |
| III.2.2. Dosage des stérols totaux | 18 |
| III.2.3. Dosage des caroténoïdes | 19 |
| III.3. Evaluation de l'activité antioxydante | 21 |
| III.3.1. Pouvoir anti-radicalaire des extraits lipidiques par le test DPPH | 21 |

| | |
|---|-----------|
| III.3.2. Inhibition par blanchissement du β -carotène | 22 |
| III.4. Etude de corrélations | 24 |
| VI. Conclusion générale | 27 |
| Références bibliographiques | 31 |
| Annexe | 35 |



Introduction Générale

I. Introduction générale :

Les plantes médicinales ont constitué la base de systèmes sophistiqués de médecine traditionnelle qui existent depuis des milliers d'années et continuent d'offrir à l'humanité de nouveaux remèdes[1]. Elles sont utilisées comme drogues par les humains depuis des milliers d'années. À la suite de l'expérience accumulée des générations passées, aujourd'hui, toutes les cultures du monde ont une connaissance approfondie de la phytothérapie. Les deux tiers des nouveaux produits chimiques identifiés chaque année ont été extraits d'usines plus élevées. 75% de la population mondiale a utilisé des plantes médicinales pour la thérapie et la prévention. Aux États-Unis, où la synthèse chimique prédomine dans l'industrie pharmaceutique, 25 % des produits pharmaceutiques sont fabriqués à partir de produits chimiques à base de plantes[2].

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les Astéracées (anciennement appelées Composées) sont une famille répandue appartenant aux dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 23000 espèces décrites dont 750 endémiques, C'est une des familles la plus importantes des Angiospermes. Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes [3]. Dans le secteur phytogéographique oranais, on trouve cette famille avec 38 genres et 67 espèces[4].

Le genre (*Achillea*) est largement distribué en Europe, en Asie du centre et de l'ouest, au nord de l'Afrique, et au nord de l'Amérique. Elle compte environ 130 espèces florales et vivaces. Ces plantes ont généralement des feuilles poilues et aromatiques et des grappes plates de petites fleurs sur le dessus de la tige. Étant donné que ces fleurs ont différentes couleurs, un certain nombre d'espèces sont des plantes de jardin populaires[5].

L'Algérie compte parmi les pays du monde qui bénéficient d'un large éventail de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe et le Sahara[6]. où La flore algérienne compte près de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques[7].

Il y a environ cinq espèces *d'Achillea* qui sont largement distribué en Algérie ; *A. ligustica* All., *A. leptophylla* M.B., *A. odorata* L., *A. santolinoïdes*Lag. et *A. santoline* L [8].

Aujourd'hui, l'utilisation traditionnelle de remèdes à base de plantes pour guérir les blessures a attiré l'attention de la communauté scientifique de la coagulation, de l'inflammation et de la fibroplasie. Les espèces d'*Achillea* sont importantes pour leur usage pharmaceutique et dans les médecines traditionnelles et populaires[9], elle est utilisée en médecine traditionnelle en raison de ses propriétés anti-inflammatoire, antihémorragique, curative, analgésique, antidiurétique, antimicrobienne et la tuberculose[10].

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a utilisé les corps gras pour leurs différentes propriétés, notamment en nutrition, en cosmétologie et en médecine. De nombreux textes anciens font ainsi références à diverses huiles de graines ou à des graisses animales[11].

Les lipides sont largement répandus dans l'environnement, ce sont des produits complexes dont les différents constituants jouent de façon directe ou indirecte, immédiate ou retardée, un rôle énergétique, structural et fonctionnel[12].

L'insaponifiable est une fraction minoritaire dans les huiles végétales qui est extractibles par les solvants peu polaires après une hydrolyse alcaline des huiles. Cette fraction est un mélange complexe qui contient des composés non glycéridiques connus par leurs activités biologiques importantes comme les hydrocarbures, aldéhydes, cétones, alcool, les pigments et les vitamines solubles (vitamine A, vitamine E). Ces composés mineurs de l'insaponifiable contiennent des substances antioxydantes bénéfiques pour la santé humaine[13].

L'activité antioxydante (AAO) a été étudiée par de nombreux auteurs, au travers d'une grande diversité de principes actifs, de drogues, de molécules, de modes d'action et de grande variété de tests susceptibles de mettre en évidence cette activité. Les phénomènes caractérisant l'AAO ont été surtout abordés vis-à-vis des corps gras qui sont un des principaux champs d'application des produits à effet antioxydant[11].

En conditions physiologiques, le dioxygène, élément indispensable à la vie, produit au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées réactives (EOR) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire. Ces EOR, dont font partie les radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose,...) [14]. En effet, la pollution (oxydes d'azote...), l'absorption d'alcool ou de certains médicaments, l'exposition

prolongée au soleil et le tabagisme, sont également des facteurs qui génèrent l'apparition des EOR[15].

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extra cellulaires. Alors, un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient[13]. D'après Halliwell (1994), les mécanismes de l'action d'un antioxydant peuvent comprendre

- Le piégeage direct des ERO.
- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production d'ERO.
- La protection des systèmes de défense antioxydants.

Les antioxydants de synthèses sont introduits dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés et parfois aussi dans des phases aqueuses où se trouvent des extraits végétaux riches en oxydases[16]. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques[17]. Par conséquent, et vu le désir des consommateurs de retourner à l'utilisation des produits naturels, la recherche des sources naturelles d'antioxydants a provoqué l'intérêt des grands laboratoires spécialisés[18]. Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposées, elles incluent le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E...etc[19]. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres.

Notre travail s'inscrit dans le cadre du programme de recherche du laboratoire des Sciences fondamentales (LSF).

L'objectif de nos travaux est donc d'évaluer l'activité antioxydante des extraits lipidiques insaponifiables d'*Achillea santolina* L et cela en utilisant des échantillons provenant de quatre sites. Il est à noter ici qu'aucune étude n'a été publiée sur les composés lipidiques d'*Achillea santolina* L.

Ce mémoire est composé de deux volets, et est structuré comme suit :

Le premier volet se traduit par une synthèse bibliographique qui comporte une description botanique de la plante étudiée, leur propriétés thérapeutiques, des généralités sur les lipides et se termine par quelques définitions sur l'activité antioxydante, les espèces oxygénées réactives et les antioxydants.

Le deuxième volet consiste en une étude expérimentale, répartie en deux parties. La première partie comprend une présentation des techniques expérimentales d'analyse, tandis que la deuxième partie traite de la présentation des résultats obtenus ainsi que de leur discussion.

Enfin, le mémoire se termine par une conclusion générale qui résume l'essentiel des résultats obtenus lors de ce travail et énonce par la suite des recommandations pour la suite de ce dernier.



Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal et réactifs chimiques

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est la partie aérienne d'*Achillea santolina* récolté dans 4 régions (Mai 2017) : deux entre eux sont de la wilaya de Laghouat (Sidi Makhlouf situé à 40Km au Nord et Lalmaya située à 98Km au Nord-Ouest), le troisième échantillon est moissonné de la wilaya de Djelfa (Taadmit située à 69Km au Nord de Laghouat) et la dernière plante provient de la wilaya d'El-bayadh (Bouzoulay située à 200 Km à l'Ouest de Laghouat). (Voir annexe : figure 1 et tableau 1).

II.1.2. Description et Classification Botanique :

Appelée localement *Ouariaaira* c'est une plante de 30 à 60 cm d'hauteur, très rameuse portante de feuilles à segments trilobés et des pédoncules grêles, les capitules sont globuleux en corymbe composé et lâche. Les ligules sont jaunâtres, pâles et crénelées[20]. (Figure1)



Figure 1 : La plante *Achillea Santolina*[8]

| | | | |
|------------------|----------------------|--------------------|--|
| Régne | <i>Plantae</i> | Subdivision | <i>Spermatophytina</i> |
| Division | <i>Tracheophyta</i> | Genre | <i>Ammiopsis</i> |
| Classe | <i>Magnoliopsida</i> | Ordre | <i>Asterales</i> |
| Nom arabe | القيصوم المقدس | Utilisation | Anti-inflammatoire, cicatrisante, analgésique... |

II.1.3. Standard et réactifs chimiques :

Les produits chimiques utilisés dans ce travail, sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1: Produits chimiques et réactifs utilisés dans ce travail.

| Produits | Firme |
|--|--------------------------------------|
| Hexane, Na ₂ SO ₄ anhydre KOH Acide Sulfurique (H ₂ SO ₄) Trichlorure de fer (FeCl ₃) DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) Charbon Actif β-Carotène β-sitostérol L'α-Tocophérol (vitamine E) | Sigma-Aldrich (Allemagne) |
| Chloroforme, Twin80, Butanol | Biochem (Quebec) |
| Ethanol, Ether Ethylique, | Honeywell (France) Riedel de Haen |
| Acide Acétique (C ₂ H ₄ O ₂), Anhydride Acétique (C ₄ H ₆ O ₃) | VWR, PROLABO(France) |

II.2. Méthodes :

II.2.1. Préparation des échantillons :

La partie aérienne de la matière végétale est séchée loin de la lumière et de l'humidité, puis broyée à l'aide d'un moulin électrique et conservée jusqu'à l'analyse.

II.2.2. Extraction des lipides

Afin d'extraire et de déterminer la teneur en matières grasses, nous avons adopté la méthode de l'extraction (Solide-Liquide), par Soxhlet en utilisant l'*Achillea santolina* comme matière végétale et l'hexane comme solvant. L'extraction a été stoppée après l'épuisement des lipides (disparition de la couleur) et les extraits sont ensuite séchés par le sulfate de sodium anhydre.

Après filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite à 40°C. Les extraits obtenus représentent une apparence pâteuse verdâtre.

a) Dépigmentation

La chlorophylle renfermée dans les extraits a été éliminée par le charbon actif (Poudre) en utilisant une quantité de ce dernier équivalente à un cinquième (1/5) de la masse de la matière végétale[21]. Le mélange est mis en suspension avec 150 ml de chloroforme à reflux pendant 2h. Après filtration et évaporation du chloroforme, chaque extrait (couleur jaune) est pesé et la teneur en lipides a été calculée par la relation suivante :

$$\text{Teneur en Lipide \%} = \left(\frac{\text{masse de l'extrait}}{\text{masse de la prise d'essai}} \right) \times 100$$

b) Isolement des cires

Les cires protègent la surface des feuilles, tiges et graines contre le dessèchement et l'infection par des micro-organismes[22]. Parmi les propriétés des cires est l'insolubilité dans l'alcool éthylique à froid. Les cires dans les extraits lipidiques dépigmentés de l'*Achillea santolina*, sont extraites par solubilisation de toute la quantité obtenue dans un volume approprié d'éthanol et on laisse le mélange au congélateur pendant 24 heures (l'opération a été effectuée 3 fois), le mélange est ensuite filtré pour isoler les cires[23].

II.2.3. La fraction insaponifiable

Dans notre cas, pour l'extraction des lipides insaponifiables, nous avons opté pour la saponification suivie par l'extraction liquide-liquide des insaponifiables avec un solvant tel que l'éther diéthylique[24]. Certains auteurs conseillent d'utiliser l'éther diéthylique pour l'extraction de l'insaponifiable afin d'étudier les stérols.

Dans ce travail, l'extraction de l'insaponifiable a été conduite de la manière suivante :

L'extrait lipidique est dissous dans 50ml de potasse éthanolique (1N). Le tout est mis à reflux pendant 1h30minute après refroidissement, on ajoute en fin de réaction 100ml d'eau distillée. La phase organique (insaponifiable) est récupérée par extraction liquide-liquide, qui s'effectue par 3

fois 50ml éther-éthylique et à la fin les traces d'eau ont été séchées par l'ajout d'une quantité nécessaire de sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 . Après filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite à 40°C. La partie insaponifiable a été récupérée par un mélange de solvant (éthanol-butanol 3:7 v/v), et conservée au frais à une température +4°C jusqu'à leurs analyses.

II.2.4. Dosage de tocophérols totaux

La détermination des tocophérols homologues dans les lipides est importante en raison de leurs effets antioxydants et leurs influences nutritionnelles positives dans le métabolisme humain comme antioxydants biologiques [25].

Nous avons utilisé dans ce test, le dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel[26]. On utilise les propriétés réductrices des tocophérols qui sont en solution alcoolique, réduisent le fer ferrique en fer ferreux, ces derniers sont complexés par l'ortho-phénantroline, en donnant un complexe rouge-orangé stable dont le coefficient d'extinction molaire à 510 nm est élevé.

Protocole Expérimentale

Une droite d'étalonnage a été tracée à partir de l' α -tocophérol commercial, permet de relier la densité optique et la concentration de tocophérol exprimée en g/l. À partir d'une solution commerciale de la vitamine E, nous avons préparé dans l'éthanol des solutions ayant des concentrations bien déterminées comprises entre 0,01 et 0,05 g/l. 1 ml de chaque solution préparée a été mélangé avec 1 ml de réactif d'ortho-phénantroline et 0,5ml FeCl_3 (solution éthanolique). Le mélange a été incubé dans l'obscurité pendant 30 min. La lecture de l'absorbance est effectuée à 510 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800), contre un blanc, les extraits lipidiques insaponifiables de chaque échantillon ont été traités selon les étapes du même protocole suivi lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de l' α - tocophérol, et les résultats sont exprimés en mg équivalent de tocophérol par 100 gramme d'extrait lipidique ou d'insaponifiable (mg EVE/100g lipide et d'insaponifiable). Toutes les mesures ont été effectuées en double.

II.2.5. Dosage de stérols totaux

Il s'agit d'un dosage spectrophotométrique suivant le test de Liebermann-Burchard[27]. Les stérols forment un complexe stable avec l'anhydride acétique en milieu acide qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 550 nm.

Protocole Expérimental :

À partir des solutions chloroformiques de β -sitostérol à différentes concentrations dans une gamme de 0,424 à 2,12 g/l, nous avons tracé une courbe d'étalonnage de ce stérol. 1 ml de chaque solution diluée a été mélangé avec 2 ml du réactif de Liebermann (ce réactif se compose de 60 ml anhydride acétique, 30 ml d'acide acétique et 10 ml d'acide sulfurique). Le mélange a été incubé dans l'obscurité pendant 25 min à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 550 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800). Les échantillons ont été traités de la même manière et la teneur totale en stérols de chaque extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de β -sitostérol. Les mesures ont été répétées 3 fois pour chaque échantillon et les lectures moyennes ont été enregistrées. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent de β -sitostérol par 100 grammes d'extrait (g E β S /100g lipide).

II.2.6. Dosage des caroténoïdes totaux

Le β -carotène, est généralement le composé le plus abondant et le plus commun dans les corps gras d'origine végétale. La teneur en caroténoïdes totaux a été déterminée selon la méthode de Talcott et Howard (modifiée)[28].

Protocole Expérimentale

Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de β -carotène dans le chloroforme allant de 0,015 à 0,05 g/l ont été préparées. 2 ml de chaque solution diluée a été prise et les absorbances ont été mesurées à 463,5 nm contre un blanc contenant uniquement le solvant. Pour les échantillons, les mêmes étapes ont été suivies sauf qu'à la place de β -carotène on a introduit les extraits des échantillons, la teneur en caroténoïdes a été déterminée en s'appuyant sur la courbe d'étalonnage réalisée avec le β -carotène. Les mesures ont été répétées 2 fois pour chaque échantillon et les lectures moyennes ont été enregistrées. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de β -carotène par 100 grammes d'extrait lipidique ou d'insaponifiable (mg E β C/100g lipide ou d'insaponifiable).

II.2.6. Evaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits lipidiques par le test de DPPH

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits lipidiques a été réalisée par plusieurs techniques chimiques, la plupart de ces techniques sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel, dans notre étude nous avons utilisé le test chimique : le radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl).

La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits. Ce radical libre stable possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune. Le test DPPH permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir anti-radicalaire qui est proportionnel à la disparition de radical DPPH[29]. (Figure 2)

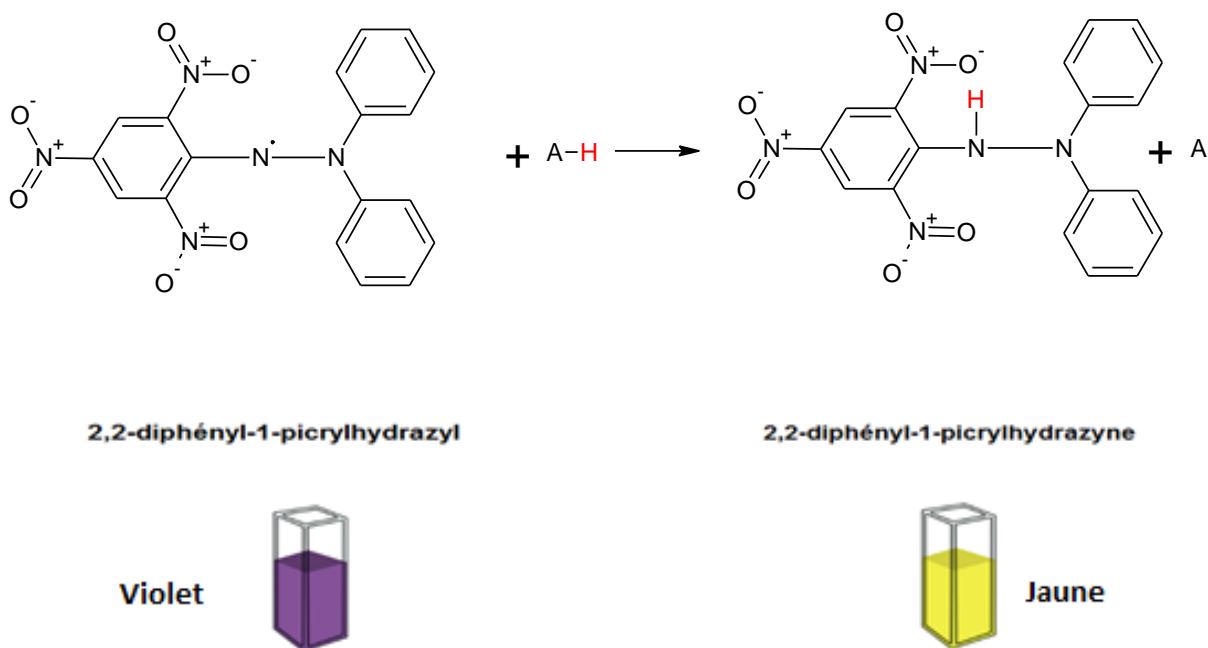


Figure 2 : Réduction du radical libre DPPH

Protocole expérimental

Le DPPH est solubilisé dans l'éthanol absolu pour avoir une solution de 100 µM. Les extraits lipidiques ont été dissous dans le chloroforme pour préparer diverses solutions d'échantillons avec différentes concentrations, puis 200 µl de chaque solution préparée a été additionné à 1 ml d'une solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement au vortex puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800). La vitamine E a été utilisée comme standard pour la courbe d'étalonnage. Les résultats ont été exprimés en µg en équivalent de Vitamine E par mg de lipide(VEEAC). Toutes les mesures ont été effectuées en double.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont déterminés selon la formule suivante :

$$PI\% = \left(\frac{A_c - A_e}{A_c} \right) \times 100$$

- PI (%) : pouvoir d'inhibition en %.
- A_c : Absorbance du contrôle.
- A_e : Absorbance de l'échantillon.

II.2.6.2. Test de blanchissement du β-carotène

Le potentiel antioxydant d'un extrait végétal peut être évalué par la détermination de la capacité d'inhibition de l'oxydation du β-carotène. Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes qui attaque les onze doubles liaisons du β-carotène, ce qui entraîne une décoloration de cette dernière mesurée spectrophotométriquement à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchiment du β-carotène[30].

Le protocole expérimental

Un volume de 5 mL de solution chloroformique de β -carotène (1g/L) a été additionné à 20 mg d'huile de maïs et 200 mg de Tween 80 contenus dans un ballon rond. Le chloroforme a été complètement éliminé à 40°C sous vide, puis on ajoute lentement 40 mL d'eau distillée et on agite vigoureusement. 40 μ L de chaque extrait lipidique ont été ajoutées à 1 mL d'émulsion β -carotène/huile de maïs. Un control a été préparé dans les mêmes conditions en remplaçant les extraits par l'éthanol. L'absorbance des solutions a été mesurée à 460 nm avant et après 2 h d'incubation dans un bain-marie à 50°C[21]. L'activité antioxydante (AA%) en pourcentage a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$AA\% = \left(\frac{A_{E(120)} - A_{c(120)}}{A_{c(0)} - A_{c(120)}} \right) \times 100$$

- $A_{E(120)}$ est l'absorbance de la solution en présence de lipide à $t = 120$ min
- $A_{C(120)}$ est l'absorbance du control à $t = 120$ min
- $A_{C(0)}$ est l'absorbance du control à $t = 0$ min



Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1.Extractions et analyses des lipides

III.1.1.Teneurs et fractions insaponifiables des lipides

Les extraits lipidiques d'*Achillea Santolina* visuellement ont des couleurs vertes au départ et qui deviennent jaunes après la dépigmentation, elles sont sous forme de pâte à température ambiante avec une odeur agréable. Les résultats obtenus sont illustré dans le tableau 2.La teneur en lipide varie de 0,768% à 1,444% (m/m)avec des valeurs comparables à l'exception de l'échantillon de Lalmaya qui possède la plus faible teneur. Cette variation des teneurs, peut-être dû aux conditions atmosphériques (Température, humidité, l'altitude...) et au sol de la région. Si nous comparons nos résultats par rapport à ceux cités dans la littérature comme la *Thapsia garganica* (feuilles) 5,32%[\[23\]](#), l'huile de figues (fruits) qui varie entre 3,75-15,8%[\[31\]](#), les feuilles de *Pistachier de l'atlas* 4,46%[\[32\]](#),on constate que nos résultats sont inférieures à ceux comparés, alors la plante *Achillea santolina* est pauvre en lipides. Ceci nous amène à conclure que cette espèce ne peut pas être considérée comme une source lipidique alimentaire.

Tableau2 : Teneurs en Lipides, en Insaponifiables et les propriétés physiques des lipides d'*Achillea santolina*

| | Sidi Makhoulf | Bouzoulay | Taadmit | Lalmaya |
|----------------------------|---------------|------------|------------|---------|
| Teneur (%) | 1,444 | 1,233 | 1,114 | 0,768 |
| Couleur | Vert clair | Vert clair | Vert foncé | Vert |
| Odeur | Camphre | Camphre | Camphre | Boisée |
| Aspect | Pâte | Pâte | Pâte | Pâte |
| Insaponifiables (%) | 61,54 | 35,43 | 66,24 | 66,96 |

Les taux en matières insaponifiables sont consignés dans le tableau 2. Ces valeurs sont plus importantes à ceux obtenus par Nebeg : *Thapsia garganica* 21,65% [23], par Kouidri : huiles d'argan : (1,46 à 1,71 %) [33] et par Tir : Sesame 1,69% [22]. Cette richesse de nos extraits en matières insaponifiables leur confère une résistance à l'oxydation.

D'après nos résultats indiqués dans le tableau 2, nous constatons que les résultats sont pratiquement similaires en fraction insaponifiable (61,54 et 66,96 %) à l'exception de l'échantillon récolté de la région de Bouzoulay (35,43%). Les différences en matière insaponifiable de rendements enregistrées entre les échantillons peuvent être attribuées aux conditions climatiques (humidité, température, sol...) dans laquelle surgit l'*Achillea santolina*.

III.2. Quantification des insaponifiables

III.2.1. Dosage des Tocophérols totaux

Les tocophérols comptent parmi les constituants essentiels de la fraction insaponifiable. Ce sont des composés antioxydants largement distribués dans les plantes et qui confèrent aux huiles une grande valeur nutritive [34].

Nous avons effectué le dosage des tocophérols à partir des insaponifiables. Les taux des tocophérols totaux dans les échantillons ont été déterminés à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure 3). Les teneurs en tocophérols sont exprimés en mg équivalents de la Vit E par rapport à 100 g d'insaponifiables d'une part et d'autre part par rapport à 100 g lipide (Tableau 3) (Chaque analyse a été répétée à deux reprises).

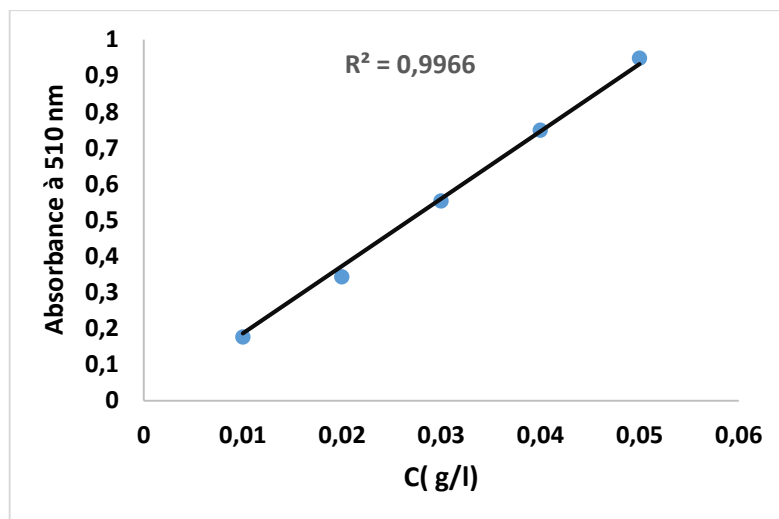


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E

Tableau 3 : Quantités des tocophérols dans les extraits lipidiques de l'*Achillea Santolina*

| Région | Tocophérols totaux (mg/100g d'insapo) | Tocophérols totaux (mg/100g de lipide) |
|---------------|---------------------------------------|--|
| Sidi Makhlouf | 905,78 ±99,12 | 75,54 ±8,26 |
| Bouzoulay | 502,10 ±31,09 | 28,56 ±1,76 |
| Taadmit | 488,57±62,81 | 39,22 ±5,04 |
| Lalmaya | 343,65 ±10,34 | 13,58 ±0,40 |

Les taux des composés tocophéroliques les plus élevés ont été aperçus dans les extraits Sidi Makhlouf et Taadmit 75,54 et 39,22 mg/100g lipide, respectivement. Tandis que les teneurs les plus basses sont enregistrées pour les extraits Bouzoulay et Lalmaya 28,56 et 13,58 mg/100g lipide, respectivement. Ces valeurs comparées aux teneurs en tocophérols dans les huiles de graines : de pépins de raisin 70 mg/100g d'huile, de maïs 90 mg/100g d'huile [35] et de *Pistacia atlantica* (34–51 mg/100g d'huile) [36], nous amène à conclure que les extraits lipidiques d'*Achillea santolina* sont relativement riches en tocophérols totaux ce qui lui confère une importante résistance à l'oxydation. Ces résultats peuvent être utiles pour des applications pharmaceutiques et thérapeutiques de ces lipides.

III .2.2.Dosage des stérols totaux

Récemment, les industries des cosmétiques, des médicaments et des aliments sont intéressées aux ressources renouvelables riches en composés liés aux lipides tels que les phytostérols qui sont une partie importante de l'insaponifiable des huiles végétales. L'analyse des stérols fournit des informations riches sur la qualité et l'identité des lipides, et pour la détection des mélanges non reconnus par leur profil d'acides gras[37].

Nous avons effectué le dosage des stérols à partir des insaponifiables, et le taux en stérols totaux est déterminé à partir de la courbe d'étalonnage de β -sitostérol (Figure 4). Pour les extraits lipidiques, les teneurs en stérols totaux sont exprimés en gramme équivalents du β -sitostérol par rapport à 100 g d'insaponifiables d'une part et d'autre part à 100 g lipide. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 4. (Chaque essai a été refait 3 fois)

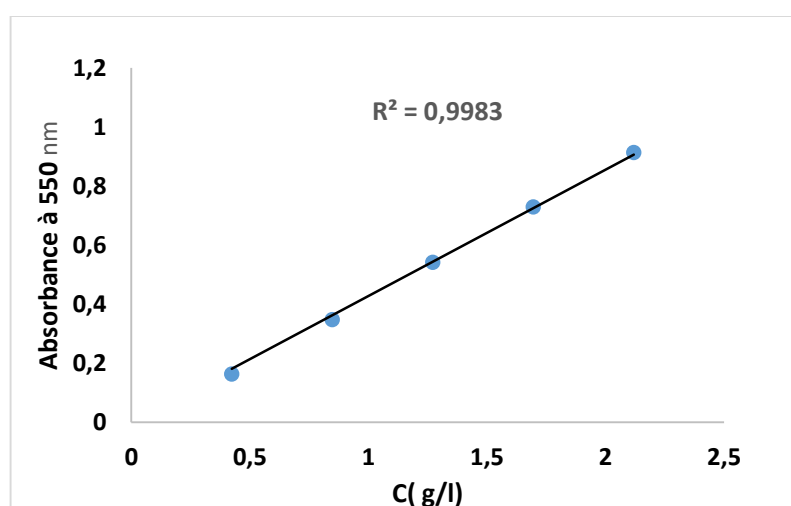


Figure4 : Courbe d'étalonnage de β -sitostérol

Tableau 4 : Quantités des stérols dans les extraits lipidiques de *l'Achillea santolina*

| Région | Stérol totaux (mg/100g d'insapo) | Stérol totaux (g/100g de lipide) |
|-----------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Sidi Makhoulouf | 272,78 \pm 29,09 | 22,74 \pm 2,97 |
| Bouzoulay | 238,66 \pm 28,20 | 19,15 \pm 2,77 |
| Taadmit | 216,33 \pm 6,66 | 12,30 \pm 0,46 |
| Lalmaya | 186,38 \pm 18,56 | 7,56 \pm 0,89 |

L'analyse de l'ensemble des résultats obtenues montre clairement que les quantités en stérols dans nos extraits étudiées sont variées de 7,56 à 22,74 g/100g lipide (Tableau 4). Les valeurs sont très inférieures à ceux trouvées au l'huile d'arganier (50,58 à 84,50 g/100g d'huile) [38]et aux valeurs trouvées au *Thapsia garganica* 93,1 g/100g d'huile [23]. Ces valeurs en générale sont beaucoup plus élevées de nos valeurs et cela peut être expliqué aux interférences chez ces derniers avec d'autres composées qui possèdent des structures chimiques semblables à la structure stérolique comme les méthyles stérols et les alcools tritérpiniques, la vitamine D, le β -carotène et d'autres composés qui absorbent à la longueur d'onde du dosage.

III.2.3.Dosage des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments lipophiles plutôt orange et jaunes sensibles aux rayons ultraviolets et à la chaleur répandus chez de très nombreux organismes vivants. Il est généralement admis qu'ils suivent des voies métaboliques similaires à celles des lipides. Ils sont synthétisés par toutes les algues, toutes les plantes verts et par de nombreux champignons et bactéries. Les caroténoïdes jouent un rôle important dans la nutrition et la santé, car plusieurs et plus particulièrement le trans- β -carotène, sont des précurseurs de la vitamine A, et certains présentent aussi des activités anticancéreuses et antioxydantes. Ces composés bioactifs stimulent en outre la synthèse d'anticorps. Les principaux caroténoïdes étudiés sont l'astaxanthine, le lycopène, le bêta-carotène, la lutéine et la zéaxanthine[39].

La teneur totale en caroténoïdes des fractions lipidiques (insaponifiables) a été déterminée par spectrophotométrie. Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des différentes concentrations de solutions de β -carotène préparées dans le chloroforme (Figure 5). L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 463,5 nm. La quantification des caroténoïdes dans les extraits lipidiques a été effectuée selon le même processus et exprimée en mg équivalent de β -carotène par 100 g de lipides. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 5. (Chaque dosage a été répété 3 fois).

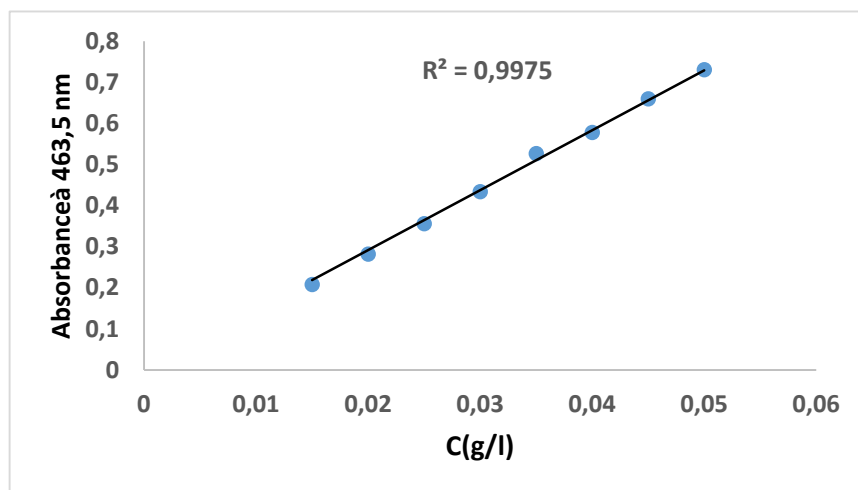


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de β -carotène

À la lumière de les résultats consignés dans le tableau 5, on remarque que les quantités des caroténoïdes varient entre 3,64 et 13,67 mg/100g lipide. La plus faible teneur a été enregistrée dans l'échantillon de Lalmaya (3,64 mg/100g lipide), par contre l'échantillon de Taadmit a représenté la valeur la plus élevée (13,67 mg/100g lipide). Les deux autres échantillons ont renfermé des quantités analogues en caroténoïdes. Ce résultat a été attendu car nous avons remarqué qu'après l'extraction des lipides que l'échantillon de Taadmit est visuellement caractérisé par une couleur jaune foncée et que la couleur de l'extrait de Lalmaya a été jaune clair, par contre les couleurs des autres extraits étaient moins foncée que Taadmit et plus foncée que du celui de l'extrait de Lalmaya.

Si nous comparons nos résultats avec celle-ci obtenu dans les feuilles de *Pistacia lentiscus* (58,02 à 93,18 mg/100g d'huile) [40] et dans les feuilles de *Pistacia atlantica* (19 à 40 mg/100g d'huile) [41], on constate que les quantités en caroténoïdes dans nos extraits sont moins élevées que celles de ces deux espèces.

Tableau 5 : Quantités des Caroténoïdes dans les extraits lipidique de l'*Achillea santolina*

| Région | Caroténoïdes totaux (mg/100g d'insapo) | Caroténoïdes totaux (mg/100g lipide) |
|---------------|--|--------------------------------------|
| Sidi Makhlouf | 62,62 \pm 2,68 | 5,22 \pm 0,22 |
| Bouzoulay | 97,81 \pm 0,99 | 5,56 \pm 0,05 |
| Taadmit | 170,33 \pm 12,54 | 13,67 \pm 1,00 |
| Lalmaya | 92,34 \pm 7,05 | 3,64 \pm 0,27 |

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante

A notre connaissance, aucune étude antérieure n'a été entreprise sur l'évaluation de l'activité antioxydante des lipides d'*Achillea santolina*.

Pour estimer la capacité antioxydante *in vitro* de nos extraits lipidiques (insaponifiables), nous avons réalisé deux tests à savoir : le test du DPPH et le test de blanchissement du β -carotène.

III.3.1 Pouvoir anti-radicalaire des extraits lipidiques par le test DPPH

La méthode de balayage de radical stable DPPH[•] est une méthode largement utilisée pour évaluer les capacités antioxydantes des produits naturels, il a été utilisé aussi pour l'huile d'olive et d'autres huiles végétales ainsi que des polyphénols antioxydants [13]

En utilisant la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure 6), nous avons évalué l'activité antioxydante des divers extraits. L'activité antioxydante est exprimée par VEEAC ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'extrait lipidique), qui est définie comme la quantité en μg d'une solution de la vitamine E possédant la même activité antioxydante qu'une solution d'un mg de la substance testée.

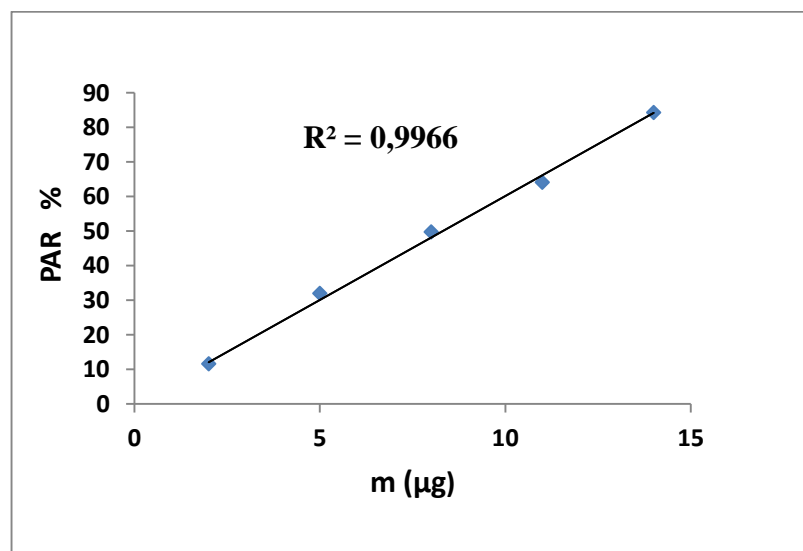


Figure6 : Courbe d'étalonnage de la Vit E dans le test de DPPH

Tableau 6 : les valeurs des VEEAC dans les extraits lipidiques dans le test de DPPH

| Région | VEEAC ($\mu\text{g VE / mg lipide}$) |
|---------------|--|
| Sidi Makhlouf | 0,24 \pm 0,01 |
| Bouzoulay | 0,21 \pm 0,00 |
| Taadmit | 0,18 \pm 0,00 |
| Lalmaya | 0,16 \pm 0,00 |

Plus les valeurs des VEEAC sont importantes, plus l'extrait est un antioxydant puissant. Selon les résultats mentionnés dans le tableau 6, on constate que les extraits lipidiques ont des activités anti-radicalaires comprises entre 0,16 et 0,24 $\mu\text{g VE/mg lipide}$. Si nous comparons les activités antioxydantes des différents extraits, nous constatons que celui de Sidi Makhlouf est le plus puissant (0.24 $\mu\text{g VE/mg}$ de lipide), suivi par celui de Bouzoulay (0,21 $\mu\text{g VE/mg lipide}$). Les extraits de Taadmitet de Lalmaya ont pratiquement des activités anti-radicalaires proches (0.18 et 0.16 $\mu\text{g VE/mg}$ de lipide, respectivement).

L'extrait de Sidi Makhlouf à montrer un pouvoir anti-radicalaire allant de 1,3 à 1,5 fois plus grand que dans les autres extraits.

En comparant les extraits étudiés avec l'antioxydant standard, tous les extraits testés s'avèrent beaucoup moins actifs que la vitamine E.

III.3.2. Inhibition par blanchissement du β -carotène

La méthode de blanchissement du β -carotène basée sur la perte de la couleur jaune de ce dernier en raison de sa réaction avec les radicaux formés par l'oxydation de l'acide linoléique dans une émulsion. Le taux de blanchissement du β -carotène peut être ralenti en présence d'antioxydants[30]. Rappelons que c'est la première fois que ce test a été entrepris pour les extraits lipidique de la plante *Achillea santolina*.

En utilisant la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure 7), nous avons évalué l'activité antioxydante des divers extraits. Elle est exprimée par VEEAC ($\mu\text{g/mg}$ d'extrait lipidique), qui est définie comme la quantité en μg d'une solution de la vitamine E possédant la même activité antioxydante qu'une solution d'un mg de la substance testée.

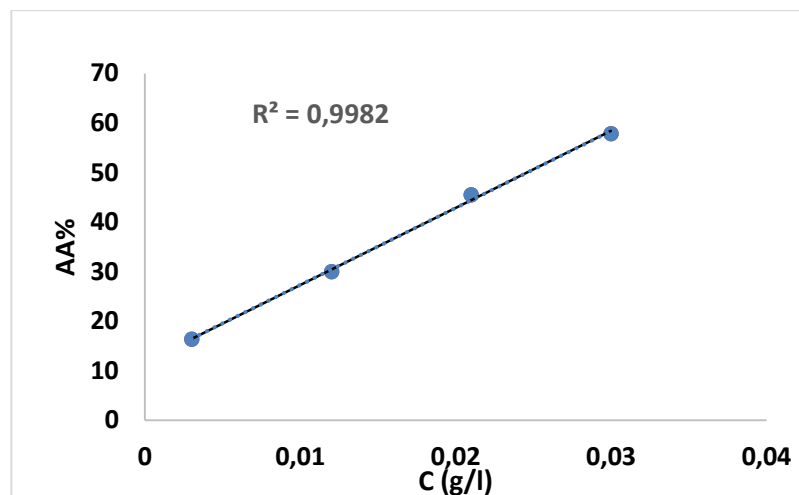


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de la Vit E dans le test de blanchissement

En ce qui concerne le test de blanchissement du β -carotène (relatif), à notre connaissance, aucun travail n'a été publié sur les lipides. Pour cette raison nous avons choisi de faire une comparaison entre nos échantillons. Selon les résultats mentionnés dans le tableau 7. On suggère que l'extrait de Taadmit est le piègeur des radicaux libres le plus efficace avec une valeur de VEEAC égale à 126,18 $\mu\text{g VE/mg}$ lipide, suivi par les extraits de Bouzoulay et de Sidi Makhlouf qui possèdent des valeurs de VEEAC semblables (58,98 et 55,59 $\mu\text{g VE/mg}$ lipide, respectivement). L'extrait de Lalmaya paraît inactif.

On confrontant les extraits étudiés avec l'antioxydant standard, tous les extraits testés sont beaucoup moins actifs que la vitamine E.

Tableau 7 : les valeurs des VEEAC dans les extraits lipidiques dans le test de blanchissement

| Région | VEEAC ($\mu\text{g VE/g}$ lipide) |
|---------------|------------------------------------|
| Sidi Makhlouf | 55,59 \pm 8,53 |
| Bouzoulay | 58,98 \pm 7,15 |
| Taadmit | 126,18 \pm 11,24 |
| Lalmaya | / |

III.4. Etude de corrélations

Afin de déterminer les éventuelles corrélations existantes entre les résultats des variables suivantes : tocophérols, stérols, caroténoïdes, VEEAC (DPPH et blanchissement du β -carotène), une corrélation matricielle basée sur la détermination du coefficient de Pearson ($P < 0,05$) a été déterminée à l'aide du logiciel XLSTAT.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Corrélation entre les tocophérols, stérols, caroténoïdes et VEEAC (DPPH et blanchissement du β -carotène)

| | Tocophérols | Stérols | Caroténoïdes | VEEAC (DPPH) | VEEAC (blanc) |
|---------------|-------------|---------|--------------|--------------|---------------|
| Tocophérols | 1 | 0,93 | 0,10 | 0,97 | 0,43 |
| Stérols | | 1 | 0,46 | 0,99 | 0,72 |
| Caroténoïdes | | | 1 | 0,35 | 0,88 |
| VEEAC (DPPH) | | | | 1 | 0,63 |
| VEEAC (blanc) | | | | | 1 |

Toutes les corrélations trouvées entre les différentes variables sont positives et significatives (Tableau 8).

Il apparaît qu'il existe une très bonne corrélation entre les taux de tocophérols et de stérols (93%), ce qui montre que ces deux composés mineurs varient régulièrement dans le même sens. Ces composés mineurs ont une grande importance pour les propriétés fonctionnelles lipidiques (résistance à l'oxydation, goût, arôme et couleur), mais pourraient également avoir de nombreux avantages pour la santé[42].

Une bonne corrélation apparaît entre les stérols et les valeurs de VEEAC (blanchissement du β -carotène) de l'ordre de 72%. Cela signifie que l'inhibition du β -carotène dépend de ces composés mineurs.

On a constaté des corrélations relativement faibles entre les taux de tocophérol-caroténoïde et de stérol-caroténoïde (10 % et 46 %, respectivement) d'une part, et entre les caroténoïdes et l'activité anti-radicalaire (DPPH) d'autre part (35%). On note les mêmes observations entre les taux de tocophérol et l'activité antioxydante évaluée par le test de blanchissement.

On remarque qu'il y a de meilleures corrélations positives entre les teneurs en tocophérols, en stérols et VEEAC (DPPH), où les valeurs de coefficient de corrélation déterminées sont de l'ordre de : 97% et 99%, respectivement. On peut dire que l'activité anti radicalaire de nos extraits lipidiques dépend des teneurs des constituants de la fraction insaponifiable (tocophérols et stérols) dans la plante *Achillea santolina*, et varie dans le même sens avec ces constituants.

Une très bonne corrélation détectée entre les teneurs des caroténoïdes et les valeurs de VEEAC du test de blanchissement du β -carotène (88%), ce qui montre que nos antioxydants naturels sont des inhibiteurs du β -carotène.

Nous avons également déterminé les corrélations possibles entre les valeurs VEEAC des deux tests d'activité antioxydante. Une corrélation moyenne positive (63%), ce qui indique que les capacités antioxydantes variaient de la même manière pour les deux testes.



Conclusion générale

VI. Conclusion générale :

L'*Achillea santolina* est l'une des espèces les plus connues dans la famille des Asteracées. Elle est utilisée en médecine traditionnelle en raison de ses propriétés anti-inflammatoires, antihémorragiques, curatives, antalgiques, antidiurétiques, antimicrobiennes et tuberculeuses.

De cet effet et sachant qu'aucun travail n'a été publié sur les lipides d'*Achillea santolina*, l'objet de notre travail a porté sur l'activité antioxydante extraits lipidiques insaponifiables, issues de quatre différentes régions. En premier lieu, nous avons choisi la méthode d'extraction par Soxhlet, en utilisant cette espèce comme matière végétale moulue et l'hexane comme solvant afin d'obtenir des extraits de lipides bruts.

Pour l'extraction de lipides insaponifiables, nous avons opté pour la saponification suivie par l'extraction liquide-liquide de lipides insaponifiables à l'aide d'un solvant tel que l'éther diéthylique. Après l'obtention des extraits insaponifiables, nous avons passé à un dosage spectrométrique de quelques constituants de cette fraction mineure tel que : les tocophérols, les stérols et les caroténoïdes.

Enfin, nous avons évalué le pouvoir antioxydant de nos extraits d'insaponifiables par deux tests à savoir : le test de réduction du radical libre DPPH' et le test de blanchissement du β -carotène.

Les résultats que nous avons pu obtenir à travers cette étude, nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

La teneur en lipides bruts varie de 0,768 à 1,444 % (m/m) avec des niveaux comparables, à l'exception de l'échantillon de Lalmaya qui présente la plus faible teneur. Tandis que le taux de la fraction insaponifiable des différents extraits s'intervalle entre 35,43 et 66,96 %. Tous les résultats sont comparables à l'exception de l'échantillon récolté de la région de Bouzoulay qui possède la teneur la plus faible (35,43%).

Les extraits lipidiques d'*Achillea santolina* sont relativement riches en tocophérols totaux (39,22 à 75,54 mg/100 g lipide), ce qui leurs confère une importante résistance à l'oxydation.

Les stérols sont compris entre 7,56 et 22,74 g/100 g lipides. Sur la base de ces résultats, il est conclu que les lipides étudiés présentent des taux de stérols moins élevés que les autres huiles végétales mentionnées dans la littérature.

Une excellente corrélation a été observée entre les taux de tocophérols et de stérols (93%), ce qui montre que ces deux composés mineurs varient régulièrement dans le même sens.

Les teneurs en caroténoïdes sont comprises entre 3,64 et 13,67 mg/100 g lipides. La plus faible teneur a été enregistrée dans l'échantillon de Lalmaya (3,64 mg/100g lipide), par contre l'échantillon de Taadmit a représenté la valeur la plus élevée (13,67 mg/100g lipide).

Tous les extraits lipidiques ont montré une activité similaire de piégeage des radicaux DPPH', dont les valeurs des VEEAC sont comprises entre 0,16 et 0,24 $\mu\text{g VE/mg lipide}$. L'extrait de Sidi Makhlouf renferme la capacité anti-radicalaire la plus remarquable. Cet extrait contient la plus grande quantité de contenu en tocophérols totaux et en stérols totaux.

Les taux de tocophérol, de stérol et les valeurs de VEEAC (DPPH) présentaient de bonnes corrélations positives. Les coefficients de corrélation sont de 97% et 99%, respectivement. Ce qui signifie que l'activité anti-radicalaire des extraits lipidiques dépend de ces composés mineurs de la fraction insaponifiable.

Une bonne corrélation s'apparaît entre les stérols et les valeurs de VEEAC (blanchissement du β -carotène) de l'ordre de 72% ce qui indique que l'inhibition du β -carotène dépend de ces composés mineurs.

En ce qui concerne le test de blanchissement du β -carotène, il est suggéré que l'extrait de Taadmit est le piègeur des radicaux libres le plus efficace avec une valeur VEEAC de 126,18 $\mu\text{g VE/mg lipide}$, suivi par les extraits de Bouzoulay et de Sidi Makhlouf qui ont des valeurs de VEEAC similaires (55,59 et 60,70 $\mu\text{g VE/mg lipide}$, respectivement). L'extrait de Lalmaya paraît inactif.

Les teneurs en caroténoïdes dans les extraits présentent une très bonne corrélation avec les valeurs de VEEAC du test de blanchissement du β -carotène (88%). De plus, les valeurs VEEAC (DPPH) ont été corrélées à un degré moyen (63%) avec les valeurs de VEEAC (blanchissement du β -carotène), ce qui exhibe que les capacités antioxydantes variaient de la même manière pour les deux tests.

Ces résultats restent préliminaires, il serait intéressant d'approfondir l'étude par l'analyse chromatographique (qualitative et quantitative) des constituants de la fraction insaponifiable tels que : les tocophérols, les stérols, et les caroténoïdes individuels, ainsi que la détermination de la

composition en acides gras de la fraction saponifiable. Cependant, il serait bon d'élargir le panel de tests d'activités antioxydantes par des tests biologiques (*in vitro* et *in vivo*) des extraits lipidiques de la plante médicinale *Achillea santolina*.



Références bibliographiques

1. **Gurib-Fakim, A.(2006).** *Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow.* Molecular aspects of Medicine. **27**(1): p. 1-93.
2. **Al-Snafi, A.E.(2013).** *Chemical constituents and pharmacological activities of Milfoil (Achillea santolina)-A Review.* Int J Pharm Tech Res. **5**(3): p. 1373-1377.
3. **Harkati, B.(2011).** *Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae.* T ese de doctorat. UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1.
4. **Kazi Tani, C., T. Le Bourgeois, and F. Munoz.(2010).** *Aspects floristiques des adventices du domaine phytogéographique oranais (Nord-Ouest algérien) et persistance d'espèces rares et endémiques.* FI.Medit 20 :29-46
5. **Mohammad hosseini, M., S.D. Sarker, and A. Akbarzadeh.(2017).** *Chemical composition of the essential oils and extracts of Achillea species and their biological activities: A review.* Journal of ethnopharmacology. **199**: p. 257-315.
6. **Azzouzi, D. and R. Mekkiou.(2017).** *Investigation phytochimique et recherche d'activité biologique de deux espèces du genre Centaurea (Asteraceae).* T ese de doctorat. UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1.
7. **Kennouche, S. and A. Bentamene.(2017).** *Etude phytochimique et biologique des espèces Chrysanthemum segetum L.(Asteraceae) et Limonium pruinosum (L.) Chaz.(Plumbaginaceae),* جامعة الإخوة منتوري قسنطينة, T ese de doctorat.
8. **Berramdane, T., et Gourine,N., et Bombarda, I., et Yousfi, M.(2018).** *New chemotype of essential oil of Achillea santolina L. collected from different regions of Algeria.* Journal of Food Measurement and Characterization. **12**(3): p. 1779-1786.
9. **Saeidnia, S., et Gouhari, AR., et Mokhber-Dezfuli, N., et Kiuchi, F. (2011).** *A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus Achillea.* DARU: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences. **19**(3): p. 173.
10. **Nizom, F. and F.U. Rakhmatulloevich.(2022).** *AGAINST CONDITIONAL PATHOGENIC BACTERIA OF AHILLEA SANTOLINA (AHILLEA SANTOLINA) PLANT STUDY OF MEDICINAL PROPERTIES.* World Bulletin of Public Health. **9**: p. 156-158.
11. **Yousfi, M.(2005).** *Caractérisation des molécules lipidiques et phenoliques de pistachier de l'Atlas pestacia Atlantica.* T ese de doctorat. Blida.
12. **Carpentier, Y.A.(1996).** *Actions immunomodulatrices des lipides.* Nutrition clinique et métabolisme. **10**(2): p. 97-105.
13. **BENALIA, M. (2016).** *Etude de la fraction lipidique de quelques graines de cucurbitac es.* T ese de doctorat. UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA.

14. **Dhalla, N.S., R.M. Temsah, and T. Netticadan.(2000).** *Role of oxidative stress in cardiovascular diseases.* Journal of hypertension. **18**(6): p. 655-673.
15. **Patel, R.P., et Moellering, D., et Murphy-Ullrich, J., et Jo, H., et Beckman, J.S., et Darley-Usmar, V.M.(2000).** *Cell signaling by reactive nitrogen and oxygen species in atherosclerosis.* Free radical biology and medicine. **28**(12): p. 1780-1794.
16. **Perrin, J.,(1992).** *Minor components and natural antioxidants in olives and olive oil.* Revue Francaise des Corps Gras (France).
17. **Yu, R., S. Mandlekar, and A.-N.T. Kong.(2000).** *Molecular mechanisms of butylated hydroxylanisole-induced toxicity: Induction of apoptosis through direct release of cytochrome c.* Molecular pharmacology. **58**(2): p. 431-437.
18. **Frankel, E.,(1993).** *In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids.* Trends in Food Science & Technology. **4**(7): p. 220-225.
19. **Koechlin-Ramonatxo, C.,(2006).** *Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires.* Nutrition clinique et métabolisme. **20**(4): p. 165-177.
20. **Lamamra, M., (2018)** *Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'Ammiopsis aristidis Coss.(Syn. Daucus aristidis Coss.) et d'Achillea santolinoïdes Lag.* Thèse doctorat. University Ferhat Abbas Sétif 1 .
21. **Harrat, M., et Benalia, M., et Gourine, N., Yousfi, M., (2018).** *Variability of the chemical compositions of fatty acids, tocopherols and lipids antioxidant activities, obtained from the leaves of Pistacia lentiscus L. growing in Algeria.* Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, **11**(2): p. 199-215.
22. **TIR, R., (2005)** *EXTRACTION ET ANALYSE DE L'HUILE DE GRAINE DE SESAME,* in *USTHB, UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE (U.S.T.H.B.) ALGER.* p. 21. Mémoire Magister.
23. **NEBEG, H., (2010)** *Contribution à l'étude de la fraction lipidique des fruits de Thapsia garganica,* in *Biologie,* Université Amar Telidji LAGHOUAT. Thèse Doctorat.
24. **AFNOR, (1981.)** *Recueil de Normes Françaises des Corps Gras, Graines Oléagineuses et Produits Dérivés.*
25. **Yoshida, H., N. Hirooka, et G. Kajimoto, (1990)** *Microwave energy effects on quality of some seed oils.* Journal of food science, **55**(5): p. 1412-1416.
26. **Emmerie, A. et C. Engel,(1938)** *Colorimetric determination of α -tocopherol (vitamin E).* Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, **57**(12): p. 1351-1355.
27. **Naudet, M. et A. Hautfenne, (1986)** *Méthode normalisée pour la détermination des stérols totaux dans les huiles et graisses (y compris les résultats d'une étude en collaboration).* Revue française des corps gras, **33**(4): p. 167-170.

28. **Talcott, S. et L. Howard, (1999)** *Chemical and sensory quality of processed carrot puree as influenced by stress-induced phenolic compounds.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, **47**(4): p. 1362-1366.
29. **Bessada, S.M., J.C. Barreira, et M.B.P. Oliveira, (2015)** *Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review.* Industrial Crops and Products, **76**: p. 604-615.
30. **Dib, I., et al., (2017)** *Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of Artemisia campestris L. from Oriental Morocco.* BMC complementary and alternative medicine, **17**(1): p. 1-15.
31. **BEROMAN, F., (2016)** *Evaluation du pouvoir antioxydant des extrait lipidiques de quelque variétés de figues (Ficus carica) d'Algérie* in *Science de la matière*, AMAR TELIDJI .LAGHOUATE, Mémoire master.
32. **Khadir K. et Boughilas W, (2020)** *Tude de l'impact de l'environnement et du climat sur le contenu et la teneur en extraits lipidiques et polyphénols et de leur Activité Antioxydante, des feuilles du l'Atlas (Pistacia atlantica) collectées à partir de deux sites de la Wilaya de Laghouat.,* AMAR TELIDJI laghouat, Mémoire master.
33. **Kouidri, M., (2008)** *Extraction et caractérisation physico-chimique de l'huile d'Argan extraite des fruits d'arganier (Argania spinosa) de deux régions de l'Algérie (Tindouf et Mostaganem).* Hassiba ben Bouali -chlef. Mémoire Magister.
34. **NOUI, A., (1992.)** *Identification de la fraction insaponifiable (stérols, tocophérols, polyphénols, ...) de l'huile d'argan (Argania spinosa (L.) Skeels),* 2013, Université de Chlef-Hassiba Benbouali. Thèse Doctorat.
35. **Karleskind, A. et J. Wolff, (1992)** *Manuel des corps gras, vol. 1.* Lavoisier, Paris, France, 787p,
36. **Guenane, H., (2017)** *Activités biologiques des extraits lipidiques des fruits du Pistachier de l'Atlas (Pistacia atlantica Desf),* Université Kasdi Merbah-Ouargla. Thèse Doctorat.
37. **Trabelsi, H., Sakouhi, F., Renaud, J., Villeneuve, P., Khoudja, M., Mayer, P., Boukhechina, S., (2012)** *Fatty acids, 4-desmethylsterols, and triterpene alcohols from Tunisian lentisc (Pistacia lentiscus) fruits.* European journal of lipid science and technology, **114**(8): p. 968-973.
38. **HAMIA, C., (2007).** *contribution a la composition et a l'étude de l'huile de fruits de l'arganier" argania spinosa.* Ouargla: Université Kasdi Merbah, Thèse Doctorat.
39. **Samuoliené, G., et al., (2017)** *Blue light dosage affects carotenoids and tocopherols in microgreens.* Food chemistry, **228**: p. 50-56.
40. **Herraoua, S., et Nemdili, M., (2021)** *Effet de stockage sur la composition et l'activité antioxydant des extraits Lipidique des feuilles de Pistacia lentiscus L,* Amar Thelidji-Laghouat. Mémoire Master.

41. **Benkachoua, I., (2021)** *Etues de l'activité antioxydante des extrait des feuilles de Pistachies de l'Atls (Pistacia Atlantica)*, KASDI MERBAH- OUARGLA.Thèse Doctorat.
42. **Harrat M., (2020)** *Étude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles du Pistacia lentiscus L.*, KASDI MERBAH - OUARGLA. (**Thèse Doctorat**)



Annexe

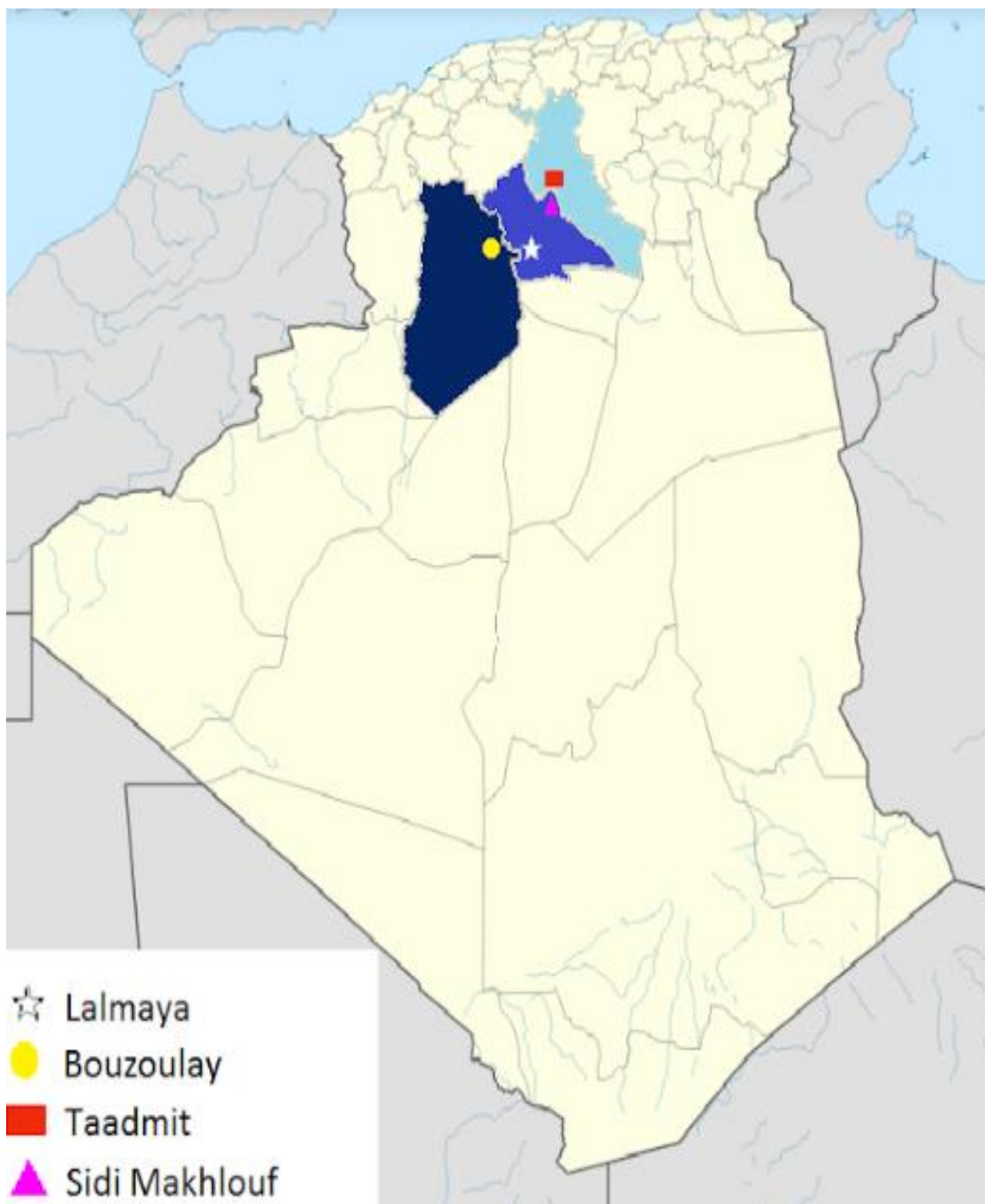


Figure 1 : l'*Achillea santolina* récolté dans les 4 régions.

Tableau 1 : Coordonnées géographiques des différents sites de récolte.

| Origine | Latitude | Longitude | Altitude (m) |
|----------------------------|---------------|--------------|--------------|
| Taadmit, Djelfa | 34°16'60.00"N | 2°58'60.00"E | 1049 |
| Bouzoulay, Elbayadh | 34°01'43.8"N | 0°57'36.6"E | 1094 |
| Sidi Makhlouf, Laghouat | 34°7'39.45"N | 3°00'53.2"E | 881 |
| Lalmaya, Laghouat | 33°25'53.1"N | 2°00'01.7"E | 918 |

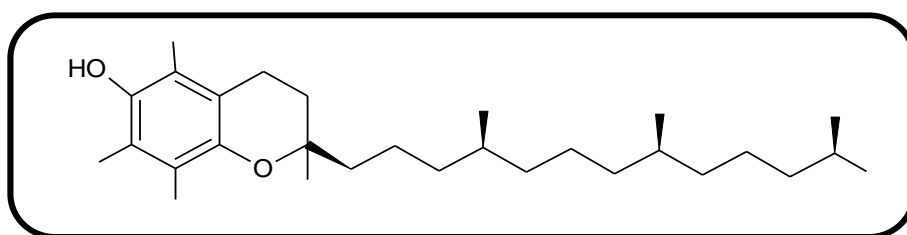


Figure 2 : Structure de l' α -tocophérol (Vitamine E)

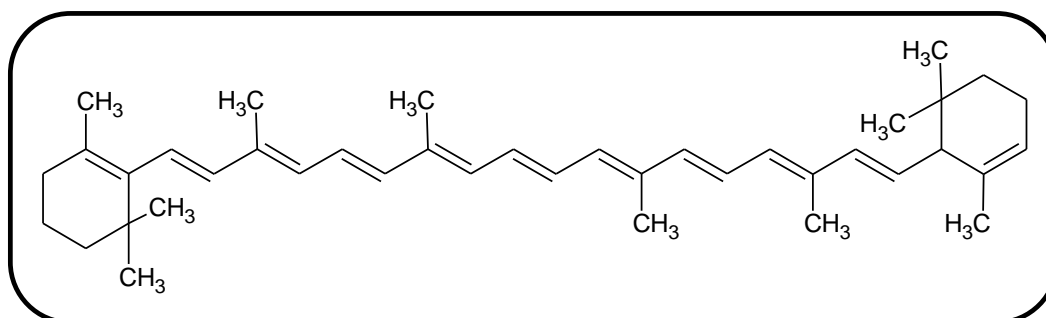


Figure 3 : Structure de β -carotène

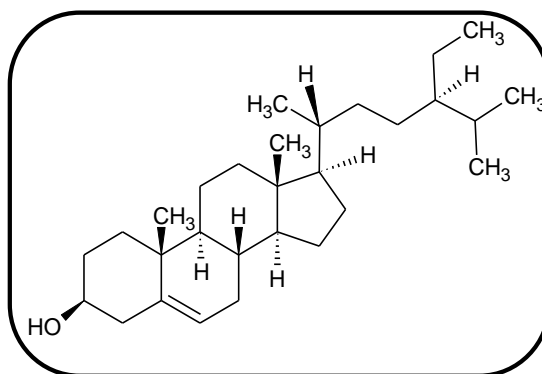


Figure 4 : Structure de β -sitostérol

Résumé

L'Achillea santolina est une plante traditionnellement utilisée à des fins thérapeutiques. Ce travail est consacré au dosage spectrophotométrique et à l'évaluation du pouvoir antioxydant de la fraction insaponifiable à partir des quatre échantillons locaux d'*Achillea santolina*, sachant qu'aucun travail n'a été publié sur les lipides de cette espèce.

Les résultats montrent une faible teneur en lipides dans l'ordre de 0,768 à 1,444%. Les extraits sont relativement riches en fraction insaponifiable, dont leurs teneurs s'intervalles entre 35,43 et 66,96 %. Le taux des tocophérols varie de 13,58 à 75,54 mg /100g lipide. Les quantités en composés stéroliques s'échelonnent entre 7,56 à 22,74 g/100g lipide. L'analyse des extraits insaponifiables a fourni des teneurs en caroténoïdes allant de 13,67 à 3,54 mg/100g lipide.

L'évaluation quantitative du pouvoir piègeur des extraits vis-à-vis du DPPH et l'inhibition par blanchissement du β -carotène, montrent que le niveau de l'activité antioxydante par ces deux dosages utilisés est relativement significatif par rapport à l'antioxydant standard (Vitamine E).

MOTS-CLES : *Achillea Santolina* L, fraction insaponifiable, tocophérols, stérols, caroténoïdes, activité antioxydante

ملخص

القيصوم المقدس، نبات يستخدم تقليدياً للأغراض العلاجية. هذا العمل مكرس للتحليل الطيفي وتقييم القدرة المضادة للأكسدة لليبيدات الغير قابلة للتصين لأربع عينات محلية من القيصوم المقدس مع العلم أنه لم يتم نشر أي بحث علمي على الليبيدات الخاصة بهذه النبتة.

أظهرت النتائج قيم منخفضة لمحتوى الدهون يتراوح من 0,768 إلى 1,444%. المستخلصات غنية نسبياً بالليبيدات الغير قابلة للتصين، وتتفاوت محتوياتها من 35,42% إلى 66,96%. تتباين مستويات التوكوفيرولات من 13,58 إلى 75,54 ملغ/100 غرام دهون. تغيرت كميات المركبات الستروولية من 7,56 إلى 22,74 غرام/100 غرام دهون. أسفرت تحاليل المستخلصات الغير قابلة للتصين عن كميات من الكاروتينويدات ما بين 3,54 و 13,67 مغم/100 غرام دهون.

بينت نتائج تعيين القدرة على مقاومة الأكسدة باستعمال اختبار DPPH واختبار التبييض لل- β -كاروتين، أن مستوى الفعالية المضادة للأكسدة من خلال الفحصين المستخدمين مهم نسبياً مقارنة بمضاد الأكسدة المعياري (فيتامين هـ).

الكلمات المفتاحية: القيصوم المقدس، الليبيدات الغير قابلة للتصين، التوكوفيرولات، المركبات الستروولية، كاروتينويدات، الفعالية المضادة للأكسدة.

Abstract

The *Achillea santolina* is plants uses traditionally for purposes therapeutic. This work dedicated to examine spectral and evaluation power anti oxidation of the unsaponifiable fraction for four local samples of the *Achillea santolina*, knowing that is no work has been published on lipid of this type.

The results show a low lipid content of the order of 0.768 to 1.444%. The extracts are relatively rich in unsaponifiable fraction, their contents range between 35.43 and 66.96%. The level of lipid tocopherols varies from 13.58 to 75.54 mg/100g lipid. The amounts of sterol compounds range between 7.56 to 22.74 g/100g lipid. The analysis of the unsaponifiable extracts provided carotenoid contents ranging from 13.67 to 3.54 mg/100g lipid.

The quantitative evaluation of the trapping power of the extracts with respect to DPPH and the inhibition by bleaching of β -carotene, show that the level of antioxidant activity by these two dosages used is relatively significant compared to the antioxidant standard (Vitamin E).

KEY WORDS: *Achillea Santolina* L, unsaponifiable fraction, tocopherols, sterols, carotenoids, antioxidant activity