

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI Laghouat

Faculté des sciences

Département de Biologie

جامعة عمار تليجي - الاغواط

كلية العلوم

قسم البيولوجيا



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme Master

Option : Biochimie des produits naturels

Thème

**Activité Antioxydantes Des Huiles Essentielles Et Des Extraits
Acétoniques Des Galles Du Pistachier De L'atlas
(*Pistacia atlantica* Desf.)**

Soutenu publiquement le 21/05/2017

Présenté par

M^{elle}. GAOUI Halima

M^{elle}. SAIDAT Asma

Devant le jury

Présidente : M^{elle}. BOUSSOUSSA Hadjer

Rapporteur : M. SIFI Ibrahim

Examineur : M. BENACER Farouk

Dédicaces

Je dédie ce travail à ceux qui me sont les plus chers au monde

❖ A ma *mère*, pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien dans les moments les plus difficiles de ma vie. Maman sans vous je n'aurais jamais pu atteindre mes objectifs.

❖ A mon *père*, qui avez toujours me donner la confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous *MES CHÈRES PARENTS* que je le dois,
que Dieu vous garde.

❖ A ma tendre et chère sœur *Khedidja*.

❖ A toute la famille *SAIDAT* et *BOUREZG*.

❖ A mes très chères amies *Khaoula* et *Bouchra*.

❖ A mes amis et amies.

❖ A mes collègues de travail.

Asma



Dédicaces

Je dédie ce travail à ceux qui me sont les plus chers au monde

- ❖ A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie *ma mère* qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.
- ❖ A l'âme de *mon cher père* qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, ses conseils.
- ❖ A mes très chères sœurs et frères.
- ❖ A mes amies

Halima





Remerciements

*Au Nom De Dieu Le Très Miséricordieux, Le Tout
Miséricordieux Satisfaction Et Salut De Dieu Sur Le Prophète
Muhammad Ainsi que Sa Noble Famille et ses Satisfaisants
compagnons.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre promoteur
M. SIFI Ibrahim pour la confiance qu'il nous a témoignée depuis le
début et pour son soutien tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous vous remercions encore et vous prions d'agréer Monsieur
l'expression de notre sincère reconnaissance.*

*Nous remercions aussi les personnes qui nous font l'honneur de
participer à notre jury de soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui ont
contribué à l'obtention de ce diplôme sans exception.*

*Nous pensons en particulier à M. BOUKEROUIS Djoudi et à tous les
enseignants qui nous accompagnent durant les années d'étude.*

Résumé

« La santé est une priorité dans notre vie ». De ce fait, aujourd'hui, il existe suffisamment de recherches qui peuvent donner des preuves scientifiques sur l'utilisation des substances d'origine naturelles, présentant moins de danger pour la santé et palliant aux effets secondaires des produits synthétiques autrement dit chimiques. Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, et la connaissance des guérisseurs traditionnels représente souvent une base pour la recherche pharmacologique et Phytochimique sur les médicaments naturels. Le présent travail, s'intéresse de faire une l'étude comparative de *Pistacia atlantica* de deux régions sud algériennes (*Laghouat* et *Ain oussera*), à travers leur teneur en composés phénoliques existants dans les galles. Puis a tenté d'évaluer leurs activités antioxydant in vitro. Cette étude est consacrée à l'extraction des huiles essentielles et des extraits acétoniques des galles du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). L'analyse chromatographique (CG et CG/SM) mettant en évidence leur composition chimique, nous a permis d'identifier quarante-trois (43) composés différents dont l' α -pinène, le β -pinène et le sabinène, comme composés majoritaires. Ainsi que la quantification des composés phénoliques et flavonoïdes des extraits acétoniques. Les résultats obtenus montrent que les extraits acétoniques des galles de *P. atlantica* de sont riches en phénols totaux *Laghouat* (103.070 ± 4.327 mg EAG/g) suivie par l'échantillon d'*Ain-oussera* (61.459 ± 0.415 mg EAG/g). D'autre part la teneur en flavonoïde des deux régions est plus au moins proches 5.3979 ± 0.2076 et 5.6055 ± 0.1384 mg EQr/g respectivement d'*Ain-oussera* et de *Laghouat*. De même nous nous sommes incité de réaliser le test DPPH• des échantillons des deux régions d'étude, pour les huiles essentielles des galles de *Ain-oussera* et de *Laghouat* ($EC_{50} = 23,36 \pm 1,07$ mg/mL et $19,88 \pm 0,69$ mg/mL respectivement), montre une activité antioxydante moyennement puissante, comparée à celle des antioxydants de référence et de extraits acétoniques ($EC_{50} = 27,14$ μ g/ml et $11,77$ μ g/ml respectivement de *Ain-oussera* et *Laghouat*).

MOTS-CLÉS : *Pistacia atlantica*, Galles, Huile essentielle, composé phénolique, Activité antioxydante, Test DPPH.

Abstract

« Health is a priority in our lives » there is enough research to allow evidence of the use of less dangerous naturel compounds with fewer side effects than industrial compounds. In the framework of valorisation of natural resources and to improve, the knowledge of traditional healers often represents a basis for pharmacological and phytochemical research on natural medicines. The aim of this study was to assess the antioxidant activity of the essential oil and acetonic extracts from the galls of *Pistacia atlantica* Desf from tow region of south Algeria (*Laghouat* and *Ain oussera*). In this study an extraction of essential oil and acetonic extracts were performed. The essential oils were analysed by GC and GC-MS showing the numbers of volatile compound identified in the galls were 43. The main compounds of the galls were α -pinène, le β -pinèn, sabinène. The results obtained show that the acetonic extracts are rich in total phenols *Laghouat* (103.070 ± 4.327 mg EAG/g) and AIN-OUSSERA (61.459 ± 0.415 mg EAG/g). In the other hand, the amount of flavonoids of acetonic extracts of two region were close. 5, 3979 \pm 0, 2076 and 5, 6055 \pm 0, 1384 mg EQr/g respectively of *Ain-oussera* and *Laghouat*. Antioxidant activity was determined using free-radical scavenging assays. The antioxidant activity shows a moderate activity of essential oil of galls (EC_{50} values for DPPH assay 23,36 \pm 1,07 mg/mL and 19,88 \pm 0,69 mg/mL *Ain-oussera* and *Laghouat* respectively compared to that of the reference antioxidants and of the acetonic extracts ($EC_{50} = 27,14$ μ g/ml and 11,77 μ g/ml respectively of *Ain-oussera* and *Laghouat*).

Keywords: essential oil, galls, *Pistacia atlantica*, phenolic compounds, antioxidant Activity, DPPH essay.

المخلص

تظهر الأبحاث العلمية الحديثة أهمية الرجوع إلى التداوي بالأعشاب أو ما يعرف حاليا بالطب البديل نظرا لما تحتويه هذه الأعشاب من مركبات فعالة في علاج مختلف الأمراض المستعصية. يوجد ما يكفي اليوم من البحوث التي تسمح بإعطاء براهين علمية حول استخدام المركبات الطبيعية، الأقل خطورة على الصحة وذات تأثيرات جانبية أقل مقارنة بالمركبات المصنعة ومن هذا المنطلق فكرنا في أن نقوم ببحث علمي يخص النباتات الطبية المحلية، حيث ندرس مختلف مركباتها الكيميائية بالإضافة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت العطرية والمستخلصات الخامة لنبات الفستق الأطلسي لمنطقتي الأغواط وعين وسارة.

قمنا خلال هذه الدراسة باستخلاص الزيوت العطرية والمستخلصات الأسيوتونية لنبات الفستق الأطلسي (العفص) كمرحلة أولى، ومن أجل، تحديد التركيب الكيميائي للزيوت العطرية استعملنا تقنية الكروماتوغرافي حيث أظهرت النتائج وجود 43 مركب من بينها مركبات أساسية. كما قمنا بقياس كمية المركبات الفينولية والفلافونويدات الموجودة في مستخلصات عفص الفستق الأطلسي، حيث أظهرت النتائج أن مستخلص منطقة الأغواط غنية بالفينولات $103,07 \pm 4,327$ مكافئ حمض الغاليك/غ مقارنة بمنطقة عين وسارة $61,459 \pm 0,415$ مكافئ حمض الغاليك/غ، بينما أظهرت نتائج قياس الفلافونويدات وجود فرق طفيف بين مستخلصات المنطقتين. من أجل تقييم فعالية النبتة المستخدمة في الدراسة، في المرحلة الثانية، قمنا بدراسة الخاصية المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات مستخدمين لذلك الجذر الحر DPPH وقد أظهرت النتائج أن مستخلصات هذه النبتة تملك فعالية متوسطة مضادة للأكسدة ومتقاربة بالنسبة للزيوت العطرية والمستخلصات الأسيوتونية في كلتا المنطقتين $23,36$ ملغ/مل و $19,88$ ملغ/مل عين وسارة والأغواط على التوالي.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية، عفص الفستق الأطلسي، مركبات الفينولية، والنشاط المضادة للأكسدة.

Table des matières

Dédicaces	I
Remerciements	III
Résumé	IV
Table de matières	V
Liste des abréviations.....	VIII
Liste des figures	X
Liste des tableaux	XI

Introduction	1
--------------------	---

Partie I : Etude bibliographique

CHAPITRE I. Les huiles essentielles

I.1. Introduction à l'aromathérapie.....	3
I.2. Définition des huiles essentielles	3
I.3. Répartition et localisation	3
I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	4
I.5. Composition chimique.....	4
I.5.1. Les composés terpéniques.....	5
I.5.1.1. Les monoterpènes.....	5
I.5.1.2. Les sesquiterpènes	5
I.5.1.3. Les diterpènes	6
I.5.1.4. Les triterpènes	6
I.5.1.5. Les tetraterpènes	6
I.5.1.6. Les polyterpènes	6
I.5.2. Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane	6
I.5.3. Les composés d'origines diverses	6
I.6. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	7
I.6.1.L'hydrodistillation.....	8
I.6.2. La distillation à la vapeur.....	8
I.6.3. Hydrodiffusion.....	8
I.6.4. L'extraction par enfleurage.....	9
I.6.5. L'extraction par les solvants volatils	9
I.6.6. L'extraction par expression.....	9
I.6.7. L'extraction par micro-ondes	10
I.6.8. Extraction au fluide supercritique	10
I.7. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	10
I.7.1. Chromatographie sur couche mince.....	11
I.7.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	11
I.7.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)	12
I.7.4. La chromatographie liquide à haute performance.....	12
I.8. Toxicité des huiles essentielles.....	12
I.9. La filière des huiles essentielles.....	13
I.9.1. Secteur parfumerie/ cosmétique	13

I.9.2. Secteur parfumerie technique	13
I.9.3. Secteur alimentation.....	14
I.9.4. Secteur médecine.....	14
I.10. La conservation des huiles essentielles.....	14

CHAPITRE II. Les composés phénoliques et leurs activités biologiques

II.1. La plante étudiée.....	15
II.1.1. Classification botanique de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.	16
II.1.2. Caractéristiques botaniques.....	16
II.1.3. Propriété et usage.....	17
II.2. Les métabolites synthétisés par les plantes.....	18
II.2.1. Métabolites primaires.....	18
II.2.2. Métabolites secondaires.....	18
II.3. Les polyphénols.....	18
II.4. Classification des composés phénoliques.....	19
II.5. Activités biologiques des polyphénols.....	20
II.5.1. Activité antioxydante des polyphénols.....	21
A. Propriétés anti radicalaires.....	21
B. Chélation des ions métalliques.....	21
II.5.2. Activité contre le stress oxydatif.....	22
II.6. Radicaux libres.....	22
II.6.1. Définition.....	22
II.6.2. Origine des radicaux libres.....	23
II.6.3. Mécanismes d'action des espèces réactives oxygénées.....	24
II.6.4. Rôle biologique des radicaux libres.....	24
II.7. Stress oxydant.....	24
II.7.1. Notion de balance pro/antioxydant.....	25
II.7.2. Les conséquences du stress oxydant et principale cibles biologiques des espèces réactives de l'oxygène (EOR)	25
II.7.3. Les maladies liées au stress oxydant.....	26
II.8. Activité antioxydant.....	27
II.8.1. Définition.....	27
II.8.2. Mécanismes d'action des antioxydants.....	27
II.8.3. La Classification des antioxydants.....	27
II.8.3.1. Les antioxydants primaires.....	28
II.8.3.2. Les antioxydants secondaires.....	28

Partie II : Etude expérimental

CHAPITRE III. Matériel et méthodes

III.1. La récolte et séchage du matériel végétal	29
III.2. L'extraction des huiles essentielles.....	29

III.2.1. Le procédé d'extraction.....	29
III.2.2. Le calcul de teneurs.....	29
III.2.3. La conservation.....	30
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test anti-DPPH).....	30
III.3.1. Principe de la méthode.....	30
III.3.2. Protocole expérimental.....	31
III.4. L'extraction des extraits acétoniques.....	31
III.4.1. Le procédé d'extraction.....	31
III.4.2. Dosage des composés phénoliques.....	31
III.4.2.1. Dosage des phénols totaux.....	31
a. Principe de la méthode.....	31
b. Protocole expérimental.....	32
III.4.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	32
a. Principe de la méthode.....	32
b. Protocole expérimental.....	33
III.4.3. Evaluation de l'activité antioxydante (antiradicalaire) contre le radical DPPH.....	33

CHAPITRE IV. Résultat et discussion

IV.1. Huiles essentielles.....	34
IV.1.1. Rendement de l'extraction.....	34
IV.1.2. Discussion de l'analyse chromatographique.....	35
IV.1.3. Evaluation de l'activité antioxydante des différentes huiles essentielles.....	37
IV.2. Extrait acétonique.....	39
IV.2.1. Rendement d'extraction.....	39
IV.2.2. Résultats de dosage des composés phénoliques.....	39
IV.2.2.1. Teneur en phénols totaux.....	39
IV.2.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	41
IV.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits acétoniques « DPPH ».....	42
Conclusion.....	44
Références bibliographique.....	46
Annexe	

Liste des abréviations

- Abs** : absorbance.
- ABTS** : l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- ADN / DNA**: acide désoxynucléique/desoxynucleic acide.
- AlCl₃**: trichlorure d'aluminium.
- CAT**: Catalase
- CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.
- CPG** : Chromatographie en phase gazeuse.
- CG/SM** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.
- DPPH**: 1,1-diphényle-2-dipicrylhydrazyl.
- EAG** : équivalent acide gallique.
- EC₅₀** : Efficient concentration 50
- ERN** : Espèces réactives de l'Azote
- ERO** : espèces réactives de l'oxygène.
- FRAP**: Ferric Reducing/Antioxidant Power.
- GPx**: Glutathion peroxydase
- GSH**: Glutathion
- GR**: Glutathion réductase
- H₂O₂**: peroxyde d'hydrogène.
- HOCl**: acide hypochlorure.
- HPLC** : chromatographie liquide à haute performance
- IC₅₀** : Concentration à 50% d'inhibition.
- IPP** : diphosphate d'isopentenyle
- LDL**: Low Density Lipoprotein.
- MVA**: voie de mévalonate.
- NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
- Na₂CO₃** : bicarbonates de sodium.
- NO** : oxyde nitrique.
- O₂⁻**: anion superoxyde.
- OH**: radical hydroxyle.
- OMS**: Organisation Mondiale de la Sante.
- ONOO⁻** : Peroxynitrite.
- ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity.
- RCOO•** : le peroxyde.

Rf : rapport frontal.

RO•, R•, R-S• : radicaux organiques.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

RLO : Radicaux libres oxygénés

ROS : espèces réactives de l'oxygène

SOD: Superoxyde Dismutase.

TEAC: Trolox Equivalent Antioxydant Capacity.

TLC: Thin Layer Chromatography.

TRAP : Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter

UV: Ultraviolet.

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles.....	7
Figure 2 : Appareillage utilisé pour l'Hydrodistillation de l'huile.....	9
Figure 3 : Des photos illustrant l'arbre, les feuilles, les fruits et les galles du Pistachier de l'Atlas.....	16
Figure 4 : Photo illustre les galles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	17
Figure 5 : Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe	19
Figure 6 : effets biologiques des polyphénols.....	20
Figure 7 : piégeage des ROS (R·) par les flavonoïdes.....	21
Figure 8 : sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes.....	22
Figure 9 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	23
Figure 10 : Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants.....	25
Figure 11 : Conséquences pathogènes du stress oxydant.....	26
Figure 12 : Carte géographique représente le site de la récolte des échantillons de galles de <i>P. atlantica</i>	29
Figure 13 : Appareil de l'hydrodistillation.....	30
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations d'huiles essentielles des galles de <i>P. atlantica</i> des deux régions <i>Ain-oussera</i> et <i>Laghout</i>	38
Figure 15 : courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	40
Figure 16 : courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitine pour le dosage des flavonoïdes..	41
Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extrait acétoniques des galles de <i>P. atlantica</i> des deux régions <i>Ain-oussera</i> et <i>Laghout</i>	43

Liste de tableaux

Tableau I : classification des terpènes.....	5
Tableau II : Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires.....	28
Tableau III : taux d'extraction des différents échantillons étudiés.....	34
Tableau IV : La composition chimique des huiles essentielles des galles de <i>P. atlantica</i> Desf. Prélévés dans les deux régions (<i>Ain-Oussera</i> et <i>Laghouat</i>).	36
Tableau V : Valeurs d'EC ₅₀ représente l'activité anti radicalaire par la méthode DPPH.....	37
Tableau VI : taux d'extraction de différents échantillons étudiés.....	39
Tableau VII : Teneur en composés phénoliques totaux.....	40
Tableau VIII : Teneur en flavonoïdes.....	41
Tableau IX : Activité antiradicalaire par la méthode DPPH.....	42

Nous savons désormais que, depuis l'antiquité et sur tous les continents, les plantes ont toujours tenu une place prépondérante dans l'art de guérir. Selon les cultures et les époques, elles ont été exploitées sous différentes formes, de diverses manières et pour les usages les plus variés.

A une époque où la majorité des hommes s'écarte de plus en plus d'un mode de vie naturel et s'attire par une conduite erronée, de menaçantes maladies, nous devons retourner aux simples plantes que Dieu a mises à notre disposition depuis des temps immémoriaux. L'Abbé Kneipp dit dans ses livres que « **contre chaque maladie il y a une plante qui pousse** » (Trében., 1985).

L'aromathérapie appartient à cet univers. Elle a su exploiter les arômes de ces substances naturelles que sont les végétaux à des fins médicales ou esthétiques, pour parfumer, conserver les aliments...Les huiles essentielles, qui sont les outils de l'aromathérapie, constituent un monde magnifique, fait d'odeurs et de parfums de toutes sortes, de couleurs et de tonalités parfois surprenantes (Moro Buronzo., 2008).

L'étude des huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologies végétales. L'histoire de l'aromathérapie naquit ainsi et, avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales d'authentiques médicaments (Boukhatem *et al.*, 2010).

Aujourd'hui, l'efficacité de la phytothérapie et de l'aromathérapie est prouvée et ses bienfaits incontestables pour notre santé ont permis à la médecine naturelle d'entrer dans nos habitudes quotidiennes. Même les pays les plus, développés ne sont pas en reste. Le recours à la médecine par les plantes connaît un regain d'intérêt dans les pays occidentaux, particulièrement pour traiter les déséquilibres entraînés par la vie moderne, qu'il s'agisse du stress ou des problèmes de santé (Kouadio *et al.*, 2016).

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits synthétisés par les plantes elles-mêmes appelés métabolites secondaires .De nombreux métabolites secondaires essentiellement les polyphénols sont des antibiotiques au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes (Buchanan *et al.*, 2000).

Les polyphénols sont aussi connus pour leurs activités biologiques qui sont en relation directe avec la santé de l'être humain. Les polyphénols sont connus par leurs activités antioxydantes importantes, car ils peuvent agir par piégeage direct des ERO (espèces réactives

de l'oxygène) Ils sont aussi connus pour leurs activités enzymatiques, car ils peuvent inhiber l'activité de certaines enzymes comme le cas de l'acétylcholinestérase (Ghnimi., 2015).

Dans cette optique, cette étude est consacrée pour mettre de la lumière sur une plante médicinale pousse en Algérie en étudiant leurs propriétés biologiques liées à leurs composés phénoliques, les flavonoïdes, ainsi que leur activité antioxydante.

Pour atteindre ces objectifs, le présent travail est réparti en quatre partie, il a été convenu de commencer par une synthèse bibliographique subdivisée en deux chapitres : le premier chapitre porte sur un aperçu globale sur les huiles essentielles et leur exploitation actuelle ; dans le deuxième chapitre nous nous sommes intéressés aux composés phénoliques et leurs activités biologiques ainsi que la notion de stress oxydatif.

La deuxième partie traite la procédure expérimentale menée où les détails des manipulations sont présentés : extraction, quantification des composés phénoliques ainsi que l'activité anti-radicalaire par le test DPPH.

La troisième partie du mémoire est consacrée à la présentation de l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent.

En fin, on termine, ce travail, par une conclusion générale et perspective de cette étude.

I.1. L'aromathérapie

Pour le « grand public », la Phytothérapie, Homéopathie et l'Aromathérapie ces trois disciplines sont souvent confondues, parce qu'elles font appel aux produits naturels qui en constituent la base. Dans ce cas, l'amalgame est de règle, avec toutes les conséquences négatives que cela peut entraîner. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années.

L'aromathérapie branche de la phytothérapie, qui signifie littéralement « soin par les odeurs », est le terme que l'on utilise pour désigner la thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles. Il s'agit donc de la capacité et de l'art de soigner avec les huiles essentielles (Wichtl et Anton., 2003).

I.2. Définition des huiles essentielles

Souvent sont définis comme des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, très concentrées, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres méthodes (Belaiche., 1979 ; Valnet., 1984 ; Wichtel et Anthon., 2003). La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme : «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir d'expression de l'épicarpe des Citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (Garnero., 1996).

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (Afssaps., 2008).

I.3. Répartition et localisation

Selon Bruneton (1999) 10% des espèces végétales sont dites aromatiques, c'est-à-dire capables d'élaborer, synthétiser et sécréter des infimes quantités d'huiles essentielles qui n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier les sommités fleuries (Lavande, Menthe). La biosynthèse des huiles essentielles aura lieu aussi dans les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Anis, Fenouil, Badiane), le bois (Camphrier), les feuilles (Citronnelle,

Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) (Belaiche., 1979 ; Paris et Hurabielle., 1981 ; Bruneton., 1999 ; Ghestem et *al.*, 2001).

I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (Bruneton., 1993). Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante ;
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ;
- Volatiles c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air, ce qui les différencie des huiles fixes, et très rarement colorées ;
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes ;
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, Cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse ;
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau ;
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;
- Leur point d'ébullition varie en générale 170°C et 205°C ;
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

I.5. Composition chimique

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et éminemment variable de constituants. La composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement :

- Dans une même plante, selon les organes traités (feuille, fleur, fruit, bois) ;
- Dans l'année, selon la saison pour une même plante ;
- Selon les conditions de culture pour une même souche végétale (ensoleillement, humidité, longueur du jour, fertilité du sol) ;
- Selon les races chimiques, ou chimiotypes, pour une même espèce (Abdelli., 2010).

I.5.1. Les composés terpéniques

Les terpénoïdes sont les composants majoritaires des huiles essentielles. Ils possèdent un rôle écologique lors des interactions végétal- animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs (Teixeira., 2004).

Les terpènes sont constitués d'un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Ils sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Et ils sont formés du couplage de plusieurs unités isopréniques.

Tableau I : classification des terpènes

monoterpènes	C ₁₀ H ₁₆
sesquiterpène	C ₁₅ H ₂₄
diterpène	C ₂₀ H ₃₂
triterpène	C ₃₀ H ₄₈
tetraterpène	C ₄₀ H ₆₄
Polyterpène	(C ₅ H ₈) _n

I.5.1.1. Les monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est C₁₀H₁₆ (Rahal, 2004). Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

I.5.1.2. Les sesquiterpènes

Les Sesquiterpènes sont de structures très diverses, ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est C₁₅H₂₄, les carbures, les alcools et les cétones sont les plus fréquents (Bruneton ,2008).

Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures (Rahal, 2004). Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β -artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools

(farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione, β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004).

I.5.1.3. Les diterpènes

Les diterpènes sont surtout répandus chez les végétaux, mais sont aussi présents chez certains insectes et chez divers organismes marins. Ils sont formés par l'union de quatre unités d'isoprènes.

I.5.1.4. Les triterpènes

Les triterpènes forment un groupe de produits naturels contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbone et dérivant du squalène par une variété de cyclisations.

I.5.1.5. Les tetraterpènes

Ce sont des composés biologiquement importants, présents dans les règnes animal et végétal. Ils sont formés du couplage de quatre unités isopréniques (C₄₀H₆₄).

I.5.1.6. Les polyterpènes

Ils sont caractérisés par une masse moléculaire élevée, formés de 500 à plus de 5000 unités isoprènes. Tel que le caoutchouc (C₅H₈)_n.

I.5.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C₆-C₃), mais contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents et dont la biogenèse est totalement différente dans les huiles essentielles (Kunle et Okogum., 2003). Bruneton (1999) considère que ces composés sont très souvent des allyle- et propényiphénols, parfois des aldéhydes, ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'Apiacées (Anis, Fenouil: anéthole, anisaldehyde, méthylchavicol=estragole. Persil : apiole) mais aussi l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou du girofle, de la Muscade (safrol, eugénol), de l'Estragon (eugénol), du Basilic (eugénol), de l'Acore (asarones) ou des Cannelles (cinnamaldéhyde eugénol safrol)

I.5.3. Les composés d'origines diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînés par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses

moléculaires plus importantes non entraînaibles à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants : homologues des phénylpropanes, diterpènes, etc... (Bruneton., 1999).

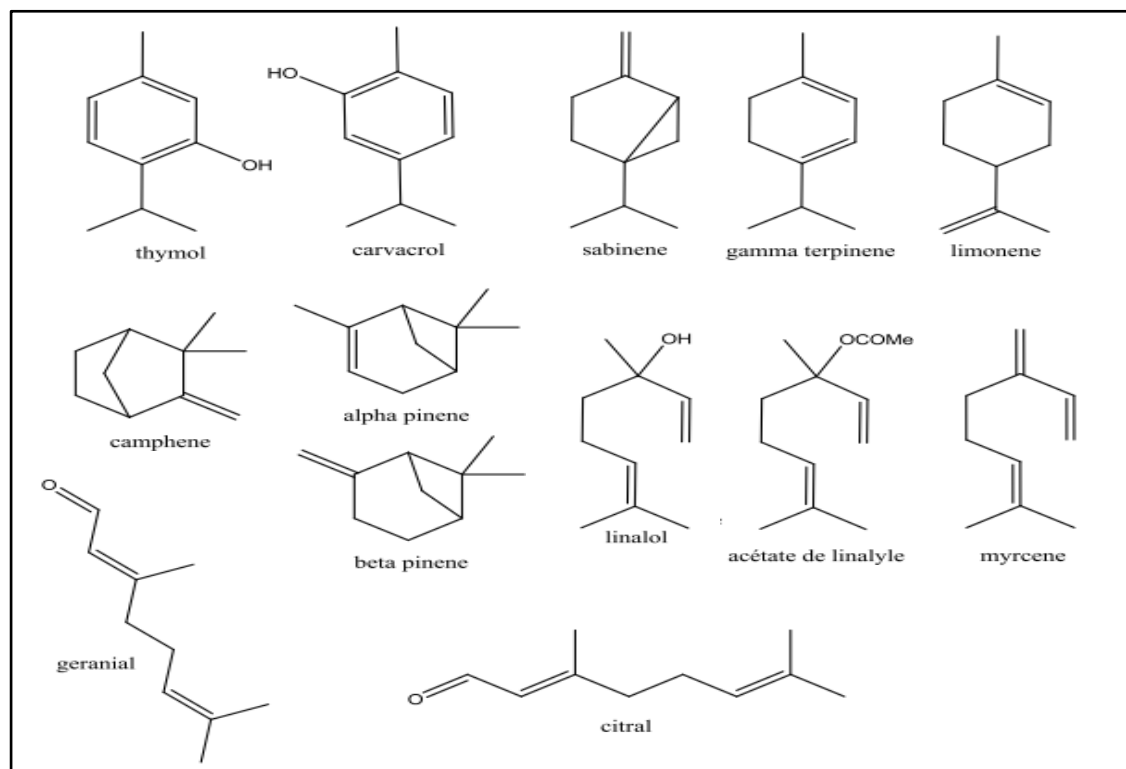


Figure 1 : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles.

I.6. Procédés d'extraction des huiles essentielles

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. De tous temps, on connaît les vertus des «essences de plante» et on s'efforça de les extraire depuis la plus haute antiquité. C'est vers le 13ème siècle, en Europe, plus précisément dans le Sud de la France, au royaume des parfums, que l'on a commencé à explorer diverses méthodes d'extraction de ces huiles volatiles (France-Ida., 1996).

Le choix de la technique dépend principalement de la matière première : son état original et ses caractéristiques, sa nature proprement dite. Le rendement « HE / matière première végétale » peut être extrêmement variable selon les plantes : de 150 ppm à plus de 20%. Ce choix conditionne les caractéristiques de l'HE, en particulier : viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement en certains constituants et utilisations et applications.

I.6.1. L'hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Distillation à l'eau ou «hydrodistillation» (Figure 2) : le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation. Selon Bruneton (1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle, La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (Chalchat et *al.*, 1997).

I.6.2. La distillation à la vapeur

Le matériel végétal, dans ce cas, n'est en contact avec l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Benjilali., 2004 ; Belaiche., 1979).

I.6.3. Hydrodiffusion

Distillation à la vapeur directe : c'est une variante de l'entraînement à la vapeur qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0.02-0.15 bar) à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur, la composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques (Benjilali., 2004 ; Bruneton., 1999).

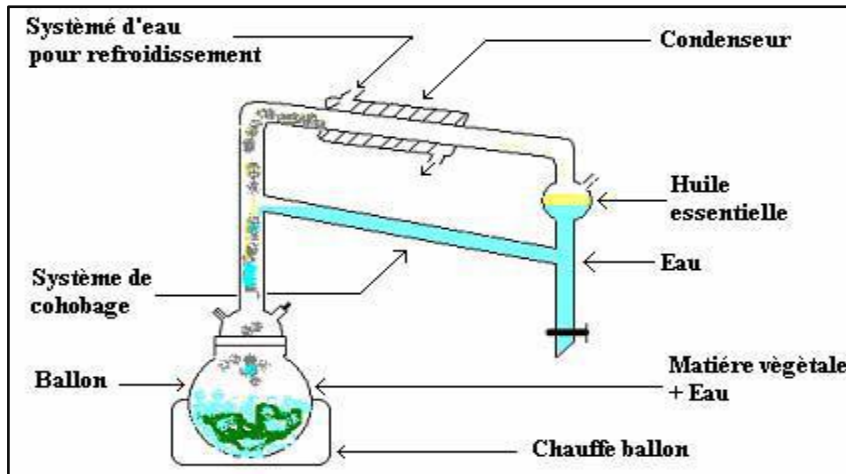


Figure 2 : Appareillage utilisé pour l'Hydrodistillation de l'huile (Hernandez Ochoa., 2005).

I.6.4. L'extraction par enfleurage

L'enfleurage est une technique qui date de l'Antiquité égyptienne. Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Il consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (fleurs d'oranger, pétales de rose) sur des plaques de verre recouvertes de minces couches de graisse (graisse animale type saindoux). Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures (Jasmin) à 72 heures (Tubéreuse). Les pétales sont éliminées et remplacées par des pétales fraîches jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (Belaiche., 1979 ; France Ida., 1996).

I.6.5. L'extraction par les solvants volatils

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles. Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue» (Belaiche., 1979 ; Duraffourd et *al.*, 1990).

I.6.6. L'extraction par expression

L'essence, altérable par entraînement à la vapeur d'eau, est ici extraite du péricarpe frais d'agrumes par différents modes d'extractions : dans l'industrie, les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices est récupéré par expression manuelle ou à l'aide de machines qui rompent les poches par expression et recueillent directement l'huile essentielle (Bruneton., 1999). Cette méthode artisanale est

totaletement abandonnée au bénéfice des machines utilisées pour permettre l'extraction des jus des fruits d'une part, et d'essence d'autre part (Belaiche., 1979).

I.6.7. L'extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelé : Vacuum Microwave Hydrodistillation (VMHD), consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide.

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (Paré., 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France Ida., 1996).

I.6.8. Extraction au fluide supercritique

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé : il s'agit du CO₂ en phase supercritique. L'extraction au fluide supercritique consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C) (Lorrain., 2013). Le fluide ainsi obtenu traverse le produit à traiter et le charge en composé à extraire ensuite, il est détendu et passe en phase gazeuse et finalement se sépare du composé extrait. L'extraction des huiles essentielles par le CO₂ supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques.

En conclusion, et selon Collin (2000), il n'existe pas de procédé meilleur que d'autres. Chaque végétal, chaque partie du végétal, et l'utilisation du produit obtenu commandent la technologie à employer. Bien entendu, les aspects de rentabilité économique sont tout aussi importants.

I.7. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles

Quel que soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (parfumerie, cosmétique, industrie pharmaceutique et agroalimentaire), une parfaite connaissance de leur composition chimique est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation. Ainsi l'analyse des huiles essentielles, qui consiste en des méthodes de séparation et d'identification des composants, reste une

étape importante. Cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques

L'instrumentation moderne est progressivement confrontée à des analyses de plus en plus complexes, liées au nombre important de constituant présents et aux quantités extrêmement faibles à détecter. En effet l'analyse d'une huile est complexe, de par son très grand nombre de constituants chimiques volatils mais aussi, souvent, de par l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile (France-Ida., 1998).

Une fois l'extrait obtenu, l'analyse permet d'identifier et de quantifier les produits qui le composent. Les progrès des méthodes analytiques permettent d'identifier rapidement un très grand nombre de constituants. Le double objectif identification/quantification consiste à déterminer la composition chimique de chaque huile essentielle par différentes méthodes analytiques spectroscopique et/ou chromatographiques.

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (Schwedt., 1993). Plusieurs méthodes existent :

I.7.1. Chromatographie sur couche mince

La CCM est utilisée comme technique de routine, pour l'analyse rapide de fractions obtenues à la suite d'une séparation initiale. L'efficacité de la CCM comme technique de séparation est souvent mise à profit dans la phase ultime de purification, au moins sur de faibles quantités, lorsque les autres techniques ont montré leurs limites (Pradeau et Dauphin., 2007).

I.7.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des

propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption (Audigie *et al.*, 1995).

La CPG permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles. Elle présente de nombreux avantages : facilité de mise en œuvre, temps d'analyse assez court et fiabilité des résultats (Bruneton., 1999).

I.7.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

D'un point de vue analytique, d'important progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec un spectromètre de masse (SM).

Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques (De Maack et Sablier., 1994).

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert *et al.*, 1997; Bruneton., 1999).

I.7.4. La chromatographie liquide à haute performance

Cette technique est peu intéressante pour les fractions volatiles, toutefois elle est efficace pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour opérer des préfractionnements, on peut la coupler également à un analyseur de masse (Bruneton., 1999).

I.8. Toxicité des huiles essentielles

Bien que d'origine naturelle, les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses pour la santé. Il est ainsi important de connaître le produit, le choisir selon

des critères qualitatifs rigoureux (produit de qualité non falsifié, non contaminé par des pesticides).

Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hypersensibilisants, photosensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine (Eisenhut., 2007).

L'usage des huiles essentielles en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voire photosensibilisation. (Coic-Marinier et Lobstein ., 2013).

Pour la cytotoxicité, certaines huiles essentielles peuvent s'avérer cytotoxiques sur les cellules animales et humaines.

I.9. La filière des huiles essentielles

Les plantes aromatiques donnent les huiles essentielles (HE), essences destinées à l'utilisation industrielle. Ces HE ne sont pas forcément des produits finaux dans la mesure où, une fois produites, elles peuvent servir d'intrants à la fabrication de plusieurs produits : elles sont destinées en effet à quatre grands secteurs industriels (Grysole., 2004).

I.9.1. Secteur parfumerie/ cosmétique

L'utilisation des huiles essentielles comme base dans la fabrication de parfums constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. L'Europe et les Etats-Unis ont développé des industries importantes qui démarquent par leur haut niveau d'exportation dans ce domaine. La consommation d'huiles dans ce secteur se caractérise par le besoin d'une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés.

I.9.2. Secteur parfumerie technique

La parfumerie technique (qui comprend les produits d'entretien ménager domestiques ou industriels) a également recours aux huiles essentielles pour l'image de propreté à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques. Par exemple, la citronnelle dégage un parfum qui indique au visiteur que

l'endroit a été fraîchement lavé. Dans ce secteur, l'industrie consomme de grandes quantités d'huiles, au meilleur prix possible, car l'industrie désire garder le prix de revient de son produit au minimum.

I.9.3. Secteur alimentation

L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros consommateur d'huiles. Aussi, les fabricants d'aliments préparés les utilisent de plus en plus parce que le nombre de produits augmente et le consommateur recherche d'avantage les produits avec des ingrédients naturels. Dans ce secteur, les volumes d'huiles essentielles peuvent être très importants. L'huile la plus utilisée dans le monde est l'huile essentielle d'orange.

I.9.4. Secteur médecine

Dans le domaine de la santé, il faut distinguer le secteur pharmaceutique de celui des médecines douces. Dans ce deuxième secteur, les vertus thérapeutiques des huiles sont reconnues et utilisées depuis des siècles dans beaucoup de pays. En effet, ce marché a donné naissance à une industrie des produits naturels comme les produits homéopathiques. De plus, les produits naturels avec effets thérapeutiques ont attiré l'attention des divers groupes pharmaceutiques.

Les huiles à utilisation médicinale peuvent être vendues pures en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles, de bonbons... ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge (Grysole., 2004).

I.10. La conservation des huiles essentielles

Très volatiles par nature, les huiles essentielles peuvent rapidement perdre leurs propriétés. Elles commencent à vieillir, généralement au bout de 6 mois. A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, elles doivent être impérativement gardées à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur, et contenues dans des flacons en verre opaques et fermés hermétiquement (Telphon ., 2003).

La nature est pleine de ressources aux vertus bénéfiques pour l'homme. En plus de son alimentation, il y trouve des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme. La médecine traditionnelle et plus particulièrement les traitements à base de plantes étaient bien développés en Algérie (Rebbas *et al.*, 2013).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains.

II.1. La plante étudiée

II.1.1. Classification botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Amara., 2009).

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheobionta
Super-division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia atlantica</i> Desf

Pistacia atlantica est très répandue dans le sud algérien (régions semi-arides et arides). Il peut y être cultivé et supporter les vents forts et les longues périodes de sécheresse. Les principaux facteurs qui contribuent à sa dégradation sont l'exploitation forestière, les incendies de forêt et l'action des animaux. Les semences sont appelées ElKhodiri par la population locale et sont utilisées à des fins culinaires et médicinales. En Algérie, *Pistacia atlantica* est trouvée en association avec *Ziziphus lotus* qui protège ces nouveaux plants contre les animaux et les vents violents. Les pistachiers sont cultivés dans les Dayats, ils peuvent atteindre 15 m de hauteur et 5 m de diamètre. Dans les régions arides, nous pouvons trouver des peuplements plus grands avec des arbres sains (Belhadj., 2001).

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) ; *elbetoum*, *botma*, *betouma* ou *btouma* en Arabe local et *Iggh* en berbère, est un bel arbre, il existe à l'état disséminé dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussera, Messaâd), Laghouat (partie sud) et Ghardaïa (dans l'oued m'zab) (Belhadj., 2001).

II.1.2. Caractéristiques botaniques

➤ Les feuilles

Elles sont caduques, composées de sept à neuf folioles lancéolées, un peu ondulées, glabres, et portées sur un pétiole légèrement ailé (Cuvier, 1826 *in* Amara., 2009). Ces feuilles, relativement grandes, rougissent à l'automne puis tombent (Figure 3.b.) (Daget et Godron., 1974).

➤ Les fleurs

La floraison du pistachier de l'Atlas débute vers le mois d'avril (Daget et Godron., 1974). Les fleurs mâles sont portées en inflorescence terminales. Le calice est composé de 3 à 5 sépales pubescents et l'androcée comporte 5 à 7 étamines, à filets très courts. Les fleurs femelles, en grappes paniculées, ont un calice très petit. L'ovaire, en position supère, est uniloculaire et surmonté de 3 styles pourpres (El Oualidi *et al.*, 2004).

➤ Les fruits

Le fruit est une drupe ovoïde de 6 à 8 mm de long. Il est d'abord jaune puis bleu foncé, à maturité. Il porte un seul noyau osseux, ne contenant qu'une graine (Somon., 1987). Ces fruits sont appelés *El-Khodiri*, par les populations locales ; appellation due à la prédominance de la couleur vert-foncé, à maturité. De la grosseur d'un pois, ces drupes, comestibles, sont légèrement ovales, aplaties et riches en huile dense très énergétique (Belhadj., 2001). La fructification s'achève en juillet (Figure 3.c.) (Daget et Godron., 1974).



a. L'arbre



b. Les feuilles



c. Les fruits

Figure 3 : Des photos illustrant l'arbre, les feuilles, les fruits et les galles du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.).

➤ Les galles

Une galle est définie comme étant :

- ⇒ Une excroissance produite chez les végétaux sous l'influence de certains parasites (insectes, champignons) (Larousse., 2009).

⇒ Un gonflement anormal du tissu végétal provoqué par l'infection des bactéries, des mycètes, des virus, ou des nématodes, ou par irritation par des insectes et des acariens (Encyclopædia Britannica Online., 2009).

Les galles se développent sur les plantes, grâce à l'induction par plusieurs organismes différents : des microorganismes, des nématodes et des acariens. En outre, il y a plus de 15.000 espèces d'insectes gallicoles, parmi lesquels les acariens. Les galles peuvent être trouvées sur de nombreux organes de la plante hôte et un organe végétal donnée peut supporter différents types de galles (Figure 4) (Alvarez *et al.*, 2009).

Bien que le mécanisme de base exact reste inconnu, il semblerait que les insectes contrôlent la formation des galles (Rohfritsch et Shorthouse., 1982). Les facteurs moléculaires signalés comme agents déclencheurs de la formation de galles sont les phytohormones ; les acides aminés, les protéines et des virus mutualistes ont, également, été proposées. Ce qui semble clair, c'est que la formation de galles se fait grâce à des cellules qui reprennent leur activité méristématique (Alvarez *et al.*, 2009).



Figure 4 : Photo illustre les galles de *Pistacia atlantica* Desf.

II.1.3. Propriété et usage

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 (Hamdan et Afifi., 2004 ; Topçu *et al.*, 2007; Benhammou *et al.*, 2007, Benhammou *et al.*, 2008, Sifi *et al.*, 2015). Elles sont employées dans le traitement d'eczéma, les infections de la gorge, la lithiase rénale, l'asthme, l'estomac et comme un stimulant (Kordali *et al.*, 2003). *P. atlantica* constitue avec *P. lentiscus* des espèces principales de la production d'oléorésine (Delazar *et al.*, 2004). Cette résine qui est produit par l'écorce et exsudé naturellement de façon abondante par temps chaud est utilisée comme antiseptique du système respiratoire (Duru., 2003) et aussi pour d'autres usages

médicaux (Belhadj., 2001). Les fruits trouvent leur application dans la cuisine et les pratiques médicinales algériennes en particulier, dans la région de Djelfa, Laghouat et Ghardaïa. L'huile de ces fruits comestibles est souvent mélangée aux dattes écrasées et peut-être consommé à toute heure de la journée avec du petit lait ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes (Belhadj., 2001).

II.2. Les métabolites synthétisés par les plantes

Les plantes synthétisent une large gamme de substances, qui ont été subdivisées en deux groupes : les métabolites primaires et les métabolites secondaires dont une grande partie de ce chapitre sont consacrés.

II.2.1. Métabolites primaires

Ces métabolites tels que les acides aminés, les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques sont tous essentiels pour la croissance et la survie de la plante et représentent environ 90 % de la matière biologique rencontrée au niveau de la plante (Reynertson., 2005).

II.2.2. Métabolites secondaires

Les composés secondaires des plantes sont réputés depuis l'antiquité pour leurs propriétés pharmacologiques et depuis quelques décennies l'homme s'intéresse également à leurs autres activités biologiques (Najjaa *et al.*, 2010).

Les métabolites secondaires sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante. Ils sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème.

Ces composés sont très nombreux et variés, et certains sont largement répandus, comme les alcaloïdes, les terpènes et les tanins, tandis que d'autres ont une répartition plus restreinte comme les composés soufrés.

Ces substances ont la particularité d'être présentes à faibles concentrations dans les plantes, elles peuvent jouer différents rôles permettant à la plante de se défendre contre les insectes, les bactéries ou les champignons (Reynertson., 2005).

II.3. Les polyphénols

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale. Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (Martin et Andriantsitohaina., 2002).

Ils sont divisés en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Tapiero *et al.*, 2002).

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples ;
- celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones (Martin et Andriantsitohaina., 2002).

II.4. Classification des composés phénoliques

La structure chimique est identique à tous les polyphénols : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient.

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les phénols simples (C6) : un seul noyau phénol comme pour les acides phénoliques (C6–C1).
- Les flavonoïdes (C6-C3–C6) : 2 noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné.
- Les tanins hydrolysable et non-hydrolysable.
- Les stilbènes (C6–C2–C6).
- Les lignanes, les lignines et les coumestanes : 2 unités de phénylpropane.

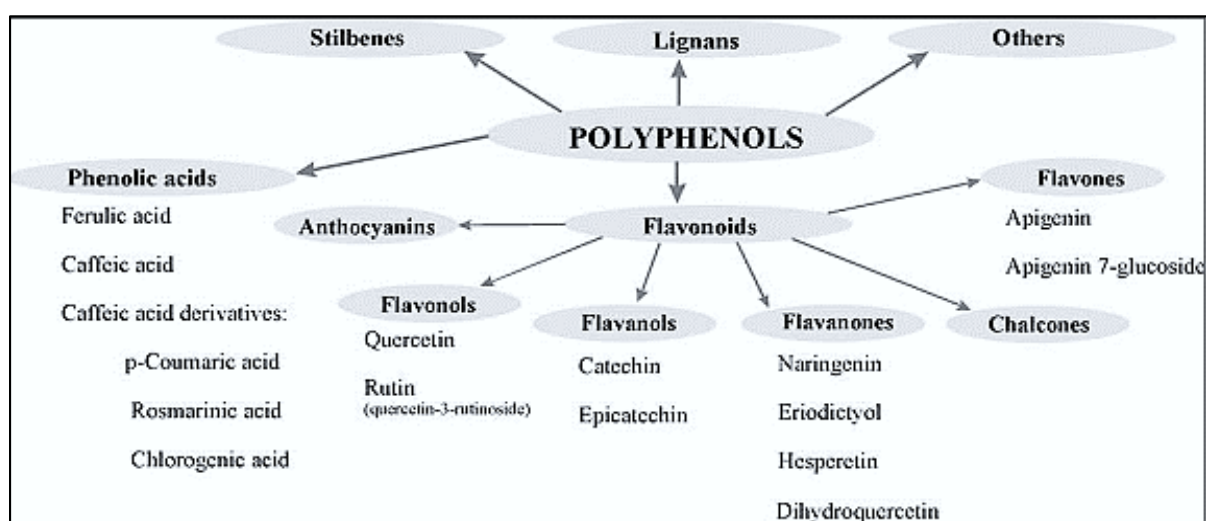


Figure 5 : Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe (Boros *et al.*, 2010)

II.5. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leurs structures chimiques et sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique, présentent un intérêt à ne pas négliger dans la prévention mais également dans le traitement des nombreuses pathologies (Martin et Andriantsitohaina., 2002).

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension. Cela peut-être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies.

Les polyphénols sont en effet capables d'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des LDL qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose, d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, d'empêcher l'agrégation plaquettaire, de stabiliser les cellules immunitaires et de promouvoir le relâchement des cellules musculaires lisses vasculaires. Ils ont ainsi été décrits comme étant des antioxydants, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux. (Martin et Andriantsitohaina., 2002).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (Maamri., 2008 ; Gauthuret., 1968).

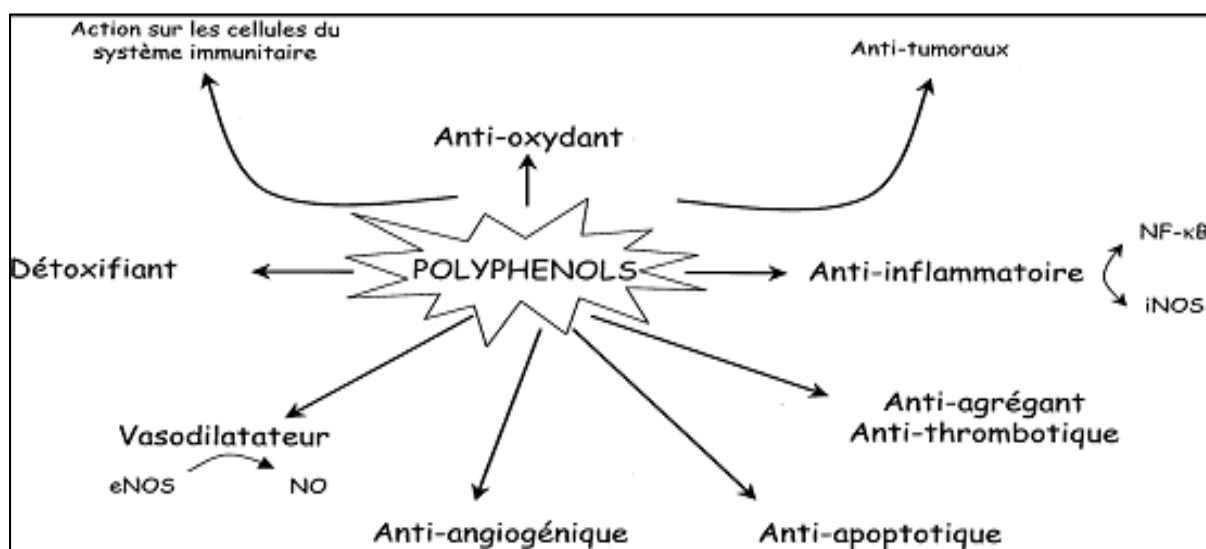


Figure 6 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina., 2002).

II.5.1. Activité antioxydante des polyphénols

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (Vansant., 2004).

Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier., 2003).

Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui sont attribuées à leur capacité de piéger directement les RL, de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des EOR via les réactions de Fenton et Haber-Weiss, d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, d'activer les enzymes antioxydantes et de réduire les radicaux α -tocophéryl (Cotelle., 2001 ; Lin et Weng., 2006 ; Heim *et al.*, 2002).

A. Propriétés anti radicalaires

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction représentée ci-dessous : $\text{FLOH} + \text{R}\cdot \rightarrow \text{FLO}\cdot + \text{RH}$ (réaction de piégeage). Où $\text{R}\cdot$ représente l'anion superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle. Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyde (FLO \cdot) (Amić *et al.*, 2003). Le radical flavoxyde (FL-O \cdot) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable comme illustré en figure 7.

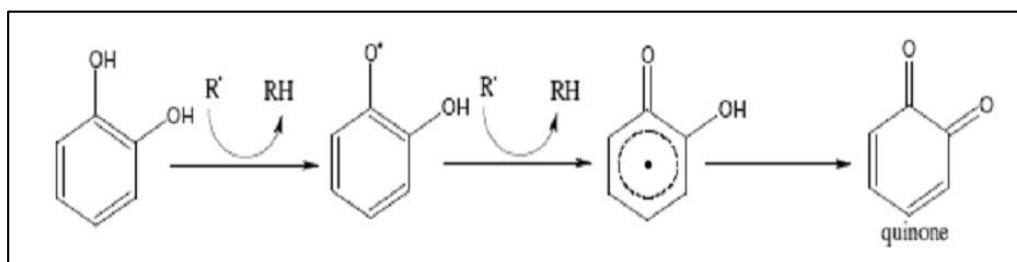


Figure 7 : Piégeage des ROS ($\text{R}\cdot$) par les flavonoïdes (Pietta, 2000).

En outre, le radical flavoxyde peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet pro-oxydant indésirable des flavonoïdes (Pietta., 2000).

B. Chélation des ions métalliques

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physiologiques cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus, à titre d'exemple Cu^{+2} est un stimulateur de la peroxydation des LDL (Tiqwari, 2001).

Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques grâce à leur structure chimique spécifique (Derbel et Ghedira, 2005). La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux :

- Site situé entre le groupe 3' OH et le groupe 4' OH du cycle B ;
 - Site situé entre le groupe 3OH et 4 C=O de l'hétérocycle C ;
 - Site situé entre le groupe 5OH du cycle A et le groupe 4C=O de l'hétérocycle C
- (Tiqwari, 2001).

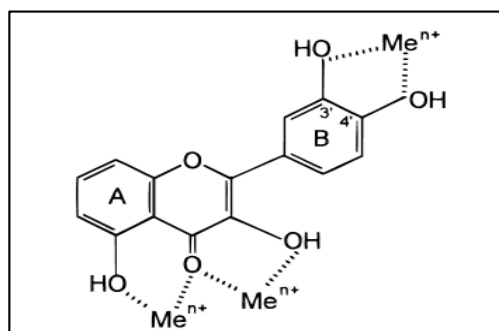


Figure 8 : Sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes (Pietta., 2000).

II .5.2. Activité contre le stress oxydatif

Les Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus courants et d'actualité pour les professionnels de la santé, les chercheurs et même pour le grand public (Haleng *et al.*, 2007).

Le corps humain produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS), comme l'anion radical superoxyde, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène par de nombreux systèmes enzymatiques grâce à la consommation d'oxygène. En petites quantités, ces objets peuvent être bénéfiques en tant que transducteurs du signal et des régulateurs de croissance (Atmani *et al.*, 2008).

II.6. Radicaux libres

II.6.1. Définition

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules

II.6.3. Mécanismes d'action des espèces réactives oxygénées

Les espèces réactives oxygénées (ERO) et Espèces réactives de l'Azote (ERN) sont connues pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'ils peuvent être à la fois nocifs mais aussi bénéfiques, voire indispensables pour les organismes vivants (Valko *et al.*, 2004).

Les ERO réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cible les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques (Beckman et Ames., 1998). Bénéfiques, lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire,

Par contre c'est nocifs, lorsqu'il y a un déséquilibre entre la balance des ERO et ERN et les systèmes de défense, avec comme conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (ADN, protéines, lipides) en lien avec l'apparition de nombreuses maladies graves (cancer, artériosclérose, arthrite, maladies neurodégénératives) : **c'est le stress oxydatif** (Evans et Halliwell., 1999).

II.6.4. Rôle biologique des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (Favier., 2003), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (Ardestani et Yazdanparast., 2007 ; Touafek., 2010 ; Marfak., 2003).

II.7. Stress oxydant

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui outrepassent leurs capacités antioxydante. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les moyens de défense est très dommageable pour les macro-biomolécules essentielles, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires,

prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus (Favier., 2006).

II.7.1. Notion de balance pro/antioxydant

Le déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène (ROS), et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants est appelé stress oxydatif (Reuter et *al.*, 2010).

La balance oxydative définit donc l'équilibre pro-antioxydant entre les espèces réactives de l'oxygène et les espèces antioxydantes. En médecine la balance oxydative est un concept pour maintenir l'organisme en bonne santé (Davies., 2000 ; Finkel et Holbrook., 2000). Son déséquilibre est sujet de nombreux problèmes comme les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Heim et *al.*, 2002; Noguchi., 2002). Cette balance est dynamique et est maintenue dans son bon équilibre par des mécanismes enzymatiques ou par des apports extérieurs de molécules très actives (Noguchi., 2002).

La figure 15 indique que dans les conditions normales, les antioxydants doivent être plus importants que les prooxydants, mais en conditions d'oxydation, les pro-oxydants emportent sur les antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (Reuter et *al.*, 2010).

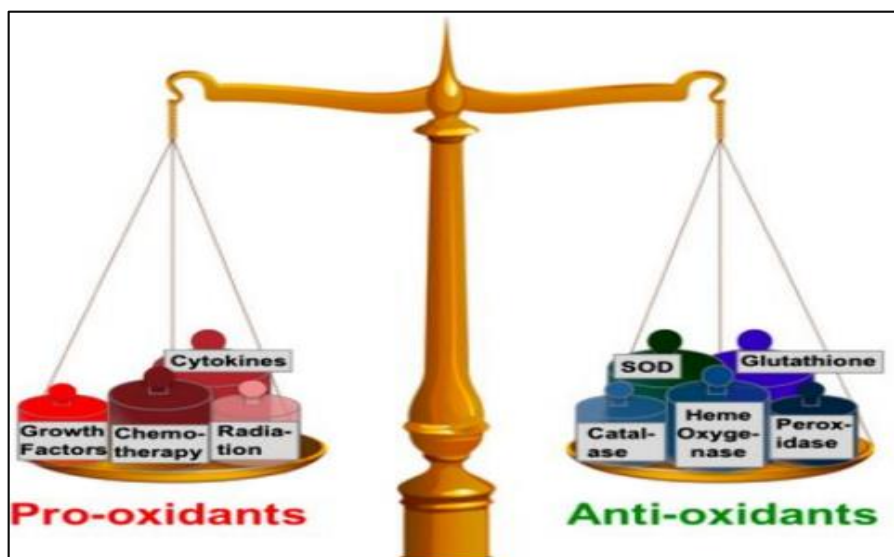


Figure 10 : Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants (Reuter *et al.*, 2010).

II.7.2. Les conséquences du stress oxydant et principale cibles biologiques des espèces réactives de l'oxygène (EOR)

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des

lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier., 2003).

Les conséquences du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire (figure 11). De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane entraînant des lyses immédiates.

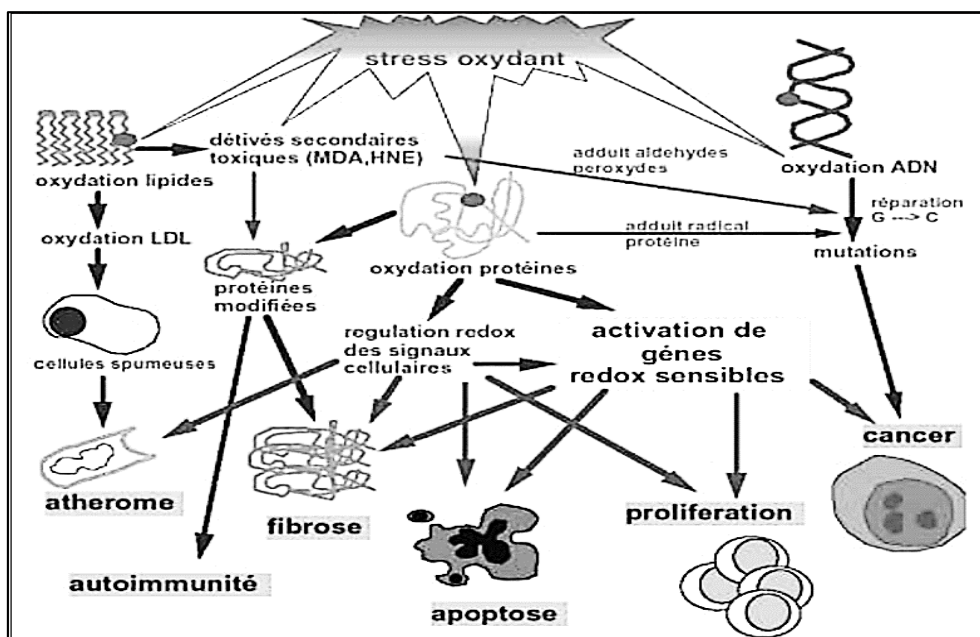


Figure 11. Conséquences pathogènes du stress oxydant.

II.7.3. Les maladies liées au stress oxydant

En effet, le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses pathologies, impliquant le stress oxydant dans leur développement, ont été recensées. Outre les maladies cardio-vasculaires (oxydation des lipides) et le cancer (oxydation de l'ADN), c'est certainement dans le cadre du diabète (obésité, syndrome métabolique) que des avancées spectaculaires ont été réalisées au cours des dernières années. Plusieurs mécanismes pathogéniques conduisent à une augmentation du stress oxydant et semblent impliqués dans l'apparition des complications de santé humaines, Il est potentiellement impliqué dans le développement du vieillissement ou de pathologies associées au vieillissement (maladies cardio-vasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète, dégénérescence maculaire, asthme, ...) (Haleng *et al.*, 2007).

II.8. Activité antioxydant

Les cellules utilisent nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Elles disposent de moyens de défense, les uns sont d'origine endogène, d'autres sont exogène.

II.8.1. Définition

Les antioxydants sont des composés chimiques à concentration relativement faible comparativement à la quantité des substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (ROS), capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, et stable dans le produit fin (Pokorny *et al.*, 2001).

II.8.2. Mécanismes d'action des antioxydants

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur (Yaacoub., 2009 ; Hellal., 2011).

II.8.3. La Classification des antioxydants

Les systèmes antioxydants sont de deux types, soit des molécules qui captent rapidement les ROS (antioxydants proprement dits), soit des systèmes enzymatiques catalysant la conversion des molécules prooxydantes (Salvayre A.N *et al.*, 2005).

Selon leurs structures variées, et la taille de leurs molécules antioxydantes, ils peuvent être classés en 2 classes :

II.8.3.1. Les antioxydants primaires

Plusieurs noms ont été attribués à ce groupe par exemple, antioxydants primaires, chain-breaking, piègeur des radicaux libres. Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux pyroxylés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement (ROO·), Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (Frankel *et al.*, 2000 ; Huang *et al.*, 2005).

II.8.3.2. Les antioxydants secondaires

Les antioxydants secondaires englobent une large gamme de différentes substances chimiques chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singlet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydants et destructeurs des hydroperoxydes. Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions antioxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singlets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux (Miller *et al.*, 1996).

Tableau II : Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires (Mohammedi., 2013).

Nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
b-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain, légumes verts, huitres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins

III.1. La récolte et séchage du matériel végétal

La récolte de matériel végétal (les galles de *Pistacia atlantica* Desf) a été effectuée au mois d’Août de l’année 2012, dans les deux régions *Ain-oussera*, *Laghouat*, respectivement localisées à 210, 450 Km de sud d’Alger, le capital de l’Algérie (voir figure ci-dessous).

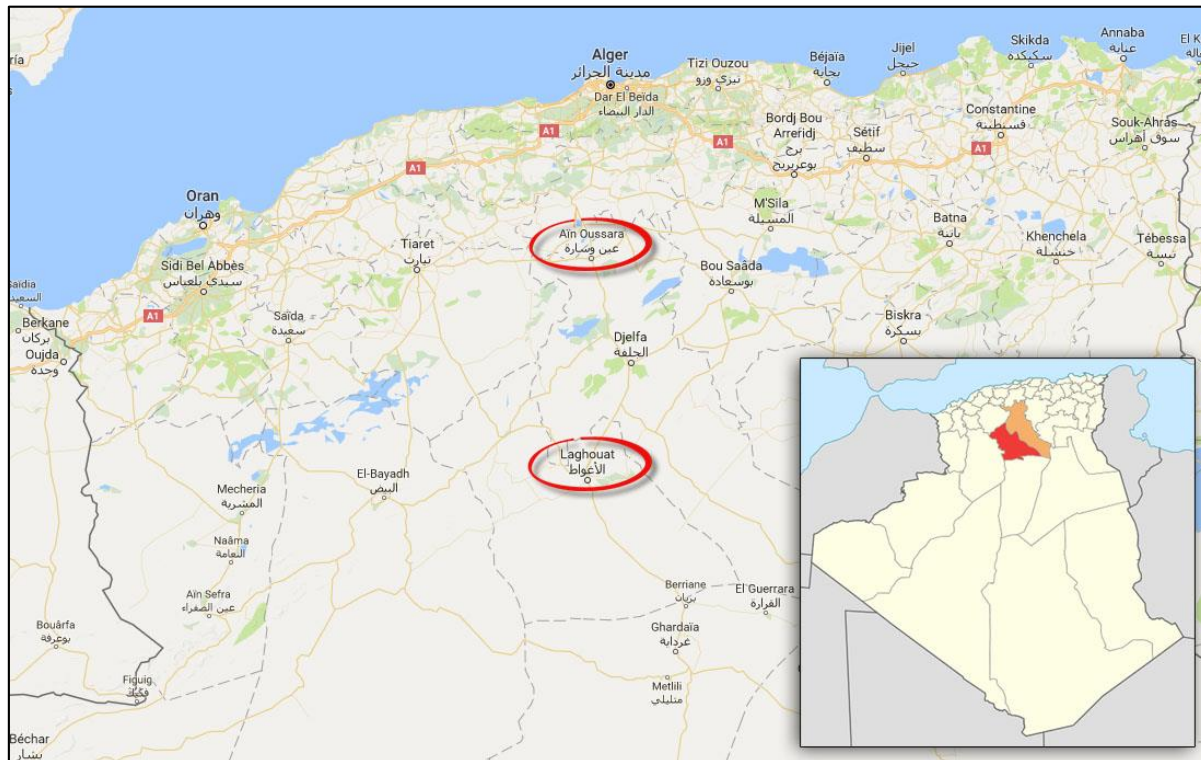


Figure 12 : Carte géographique représente le site de la récolte des échantillons de galles de *P. atlantica*

III.2. L’extraction des huiles essentielles

III.2.1. Le procédé d’extraction

Les échantillons d’huiles essentielles ont été obtenus par hydrodistillation à l’aide d’un appareil de type *Clevenger* (voir Figure 13).

Le montage est constitué d’un ballon en verre (de 2 litres) contenant 200g de matériel végétal (galles écrasées) additionné d’un litre d’eau, placé au-dessous d’un chauffe ballon. Ce dernier est surmonté d’une colonne qui communique avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d’eau chargées de gouttelettes d’huile essentielle, qui sont ensuite recueillies sous forme de distillat dans une ampoule à décanter. L’extraction dure deux heures et demi.

III.2.2. Le calcul de teneurs

La teneur en huiles essentielles est définie comme étant le rapport entre la masse d’huile essentielle obtenue et la masse sèche du végétal traité (Carée., 1953).

$$T\% = \left(\frac{m}{m_0} \times 100 \right)$$

$T\%$: teneur exprimé en % ;
 m : masse, en gramme, de l'huiles essentielles récupérée ;
 m_0 : prise d'essai initiale du matériel végétal en gramme (g).

III.2.3. La conservation

Afin d'éliminer toute trace d'eau, dans les huiles essentielles obtenue, on ajoute une petite quantité de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4). Par la suite, on les transfère dans des tubes en verre, hermétiquement fermé et couverts de papier aluminium. L'huile extraite est conservée, à l'abri de la lumière et au réfrigérateur à $+4^\circ\text{C}$, jusqu'à moment de l'analyse.

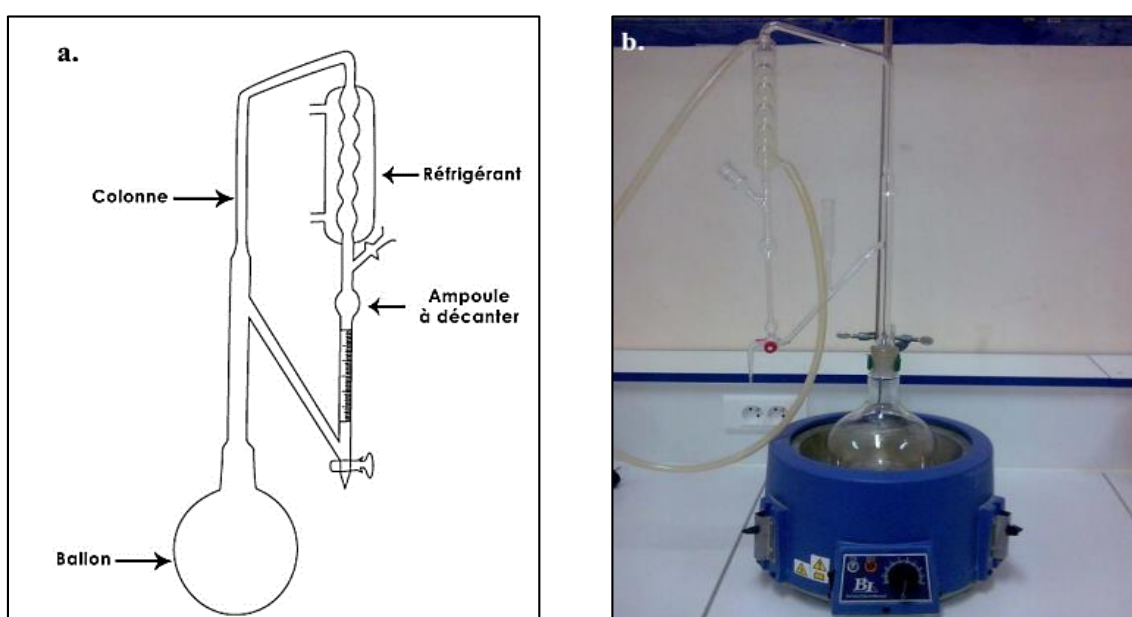


Figure13 : Appareil de l'hydrodistillation
a. Schéma illustre les parties essentielles du montage
b. L'appareil de type *Clevenger*, utilisé

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante (Test anti-DPPH)

III.3.1. Principe de la méthode

Pour étudier l'activité anti radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (*diphényl picryl-hydrayl*). Le radical DPPH• est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008). L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH• à 517 nm, qui est du à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H

par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre les équations suivantes (Maisuthisakul *et al.*, 2007, Da Silva Pinto *et al.*, 2008).



III.3.2. Protocole expérimental

Un volume de 300µL, de chaque solution fille, récemment préparée dans le méthanol, est ajouté à 1ml de solution de DPPH• (100µM) fraîchement préparée. Après 30 min d'incubation, à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lu contre le blanc à 517nm par spectrophotomètre (UV/Vis) (Sharif Ali *et al.*, 2008). Le pourcentage (%) d'inhibition des radicaux libres de DPPH• est calculé par la relation suivante :

$$I\% = \left(1 - \frac{A_{\text{Echant}}}{A_{\text{Blanc}}}\right) \times 100$$

A_{Echant} : Absorbance de la solution de DPPH• en présence de l'extrait ;
 A_{Blanc} : Absorbance de la solution de DPPH• en absence de l'extrait

A partir des valeurs du $I\%$, les valeurs EC50 sont déterminées en (mg/ml) par la courbe $I\% = f(C)$, qui représentent les concentrations d'huiles essentielles à 50% de neutralisation des radicaux libres (DPPH•). Le Trolox et la Vitamine E ont été utilisés comme contrôles positifs.

III.4. L'extraction des extraits acétoniques

III.4.1. Le procédé d'extraction

Les galles ont été réduites en poudre fine suite au broyage à l'aide d'un pilon et un mortier en premier temps puis par un mixeur en deuxième fois.

La poudre obtenue est macérée dans l'acétone, à raison de 100 ml pour 10g de la poudre, pendent 24 heures sous agitation continue à température ambiante. Les mélanges sont ensuite filtrés puis évaporé à sec sous pression réduite à 45°C au *Rotavapor*.

III.4.2. Dosage des composés phénoliques

III.4.2.1. Dosage des phénols totaux

a. Principe de la méthode

En pratique, plusieurs méthodes sont appliquées pour estimer la teneur en phénols totaux dans les tissus végétaux, mais aucune n'est apte seule de détecter tous les composés phénoliques

présents réellement dans ces tissus. Parmi elles, la méthode de Folin- Ciocalteu est utilisée depuis environ un siècle pour doser la quantité des phénols dans les plantes, elle est utilisée initialement pour les acides aminés (tyrosine et tryptophane), ou le réactif de Folin-Ciocalteu interagit avec le groupement phénolique hydroxylé de ces acides aminés (Vermerris *et* Nicholson., 2006).

Le principe est basé sur la réduction du réactif Folin- Ciocalteu de couleur jaune, qui est un mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), par les groupements hydroxyles des polyphénols, en oxydes bleus de tungstène et de molybdène qui absorbe dans le visible à 740nm, la réaction s'effectue de préférence dans un milieu basique (Vermerris *et* Nicholson., 2006). Pour cette méthode spectrophotométrique, il faut établir une courbe d'étalonnage qui relie les absorbances aux différentes concentrations, comme celle de l'acide gallique ou chlorogénique. Les concentrations en composés phénoliques sont alors rapportées en équivalent d'acide gallique ou chlorogénique respectivement (Vermerris *et* Nicholson., 2006).

Pour estimer la teneur en phénols totaux dans nos extraits, nous avons utilisé cette méthode, suivant le protocole décrit par Ben Ammar *et al* (2007), en prenant l'acide gallique comme étalon.

b. Protocole expérimental

Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de l'acide gallique allant de 0,025 à 0,2 mg/ml ont été préparées. Par la suite, un volume de 100µl du réactif de Folin-Ciocalteu (50%) est mélangé avec 100µl de chaque solution préparée, et après environ 5 min, 2ml de bicarbonates de sodium Na_2CO_3 (2%) ont été ajoutés au mélange. Le tout est laissé réagir pendant 30 minutes à l'obscurité. La lecture de la densité optique est effectuée à 765 nm contre un blanc réactif, et les résultats ainsi obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les extraits des échantillons de la plante *P.atlantica* ont été traités selon les étapes de protocole suivies lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et les résultats obtenus sont exprimés en mgEAG/g d'extrait sec.

III.4.2.2. Dosage des flavonoïdes

a. Principe de la méthode

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de Rao *et al* (2010). Cette méthode utilise le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) qui interagit spécifiquement avec les flavonoïdes en donnant une couleur jaune foncée. L'intensité de la coloration est évaluée par spectrophotomètre à 510 nm. De même que le dosage des phénols totaux, le dosage des

flavonoïdes nécessite aussi l'établissement d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard (la quercitine par exemple).

b. Protocole expérimental

Pour la préparation de la gamme d'étalon, une série de dilution allant de 0,2 à 2 mg/ml de solution de la quercitine est préparée. Dans un tube à essai, on met un volume de 100µl de la quercitine, 300µl d'eau distillé suivie par 30µl NaNO₂ (5%). Après 5 min à la température ambiante, un volume de 30µl d'AlCl₃ à 10% (133mg d'AlCl₃ et 400mg d'acétate de sodium sont dilués dans 100 ml d'eau distillée) a été ajouté. Après encore d'autres 5 min, la réaction a été traitée par 200 µl de 1 Mm de NaOH. A la fin, le mélange est dilué par 1 ml d'eau distillé. La lecture est effectuée à 510 nm et les valeurs des absorbances trouvées pour chaque solution sont utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage. Pour les essais, les mêmes étapes ont été suivies sauf qu'à la place de la quercitine on a introduit les extraits des échantillons de *P.atlantilca*.

III.4.3. Evaluation de l'activité antioxydante (antiradicalaire) contre le radical DPPH

Protocole expérimental

Un volume de 300µL, de chaque solution fille, récemment préparée dans l'éthanol, est ajouté à 1ml de solution de DPPH• (100µM) fraîchement préparée. Après 30 min d'incubation, à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lu contre le blanc à 517nm par spectrophotomètre (UV/Vis) (Sharif Ali *et al.*, 2008). Le pourcentage (%) d'inhibition des radicaux libres de DPPH• est calculé par la relation suivante :

$$I\% = \left(1 - \frac{A_{\text{Echant}}}{A_{\text{Blanc}}}\right) \times 100$$

A_{Echant} : Absorbance de la solution de DPPH• en présence de l'extrait

A_{Blanc} : Absorbance de la solution de DPPH• en absence de l'extrait

A partir des valeurs du $I\%$, les valeurs EC₅₀ sont déterminées en (mg/ml) par la courbe $I\%=(C)$, qui représentent les concentrations d'extrait acétonique à 50% de neutralisation des radicaux libres (DPPH•). Le Trolox et la Vitamine E ont été utilisés comme contrôles positifs.

IV.1. Huiles essentielles

IV.1.1. Rendement de l'extraction

Pour qu'une extraction soit optimale et efficace elle doit respecter plusieurs facteurs tels que les propriétés chimiques de soluté (solubilité), le transfert de matière, qui dépend de la taille des particules et de la structure du matériel végétal, le type de solvant choisi et de sa viscosité (Mitra., 2003).

L'Hydrodistillation est réalisée sur deux échantillons des galles de *Pistacia atlantica* de deux régions différentes placées dans un hydrodistillateur avec un rapport eau/matière végétale. Le tableau ci-dessous résume les rendements moyens en HE extraite (moyenne \pm écart type).

Tableau III : Taux d'extraction d'huile essentielle de différents échantillons étudiés.

Echantillons	Rendement (%)
<i>Ain-oussera</i>	0,73 \pm 0,12
<i>Laghouat</i>	0,49 \pm 0,05

Les variations dans le rendement peuvent être attribuées non seulement à l'origine géographique de la plante, à la nature (séchée ou fraîche) et à la technique d'extraction mais également à la période de cueillette de la matière végétale ainsi qu'au mode d'extraction.

Les galles de *P.atlantica* d'*Ain-Oussera* ont fourni un rendement en huile essentielle d'environ 0,73 \pm 0,12%, ce taux est supérieur à celui trouvé pour les galles de *P.atlantica* de *Laghouat* 0,49 \pm 0,05%. Ils sont aussi légèrement supérieurs à ceux obtenus par des huiles essentielles des galles prématurés (des plantes mâles et femelles) de *Pistacia atlantica* 0.53% et 0.46% v/w (Gourine *et al.*, 2011).

Les deux régions (*Laghouat* et *Ain-oussera*) ont le même climat semi-aride et chaud avec des altitudes 700m et 750m respectivement.

De nos jours l'hydrodistillation reste la méthode d'extraction des HE la plus convoitée par l'industrie. Cependant, l'extraction par le gaz carbonique (CO₂) supercritique sous haute pression engendre des rendements supérieurs et des HE caractérisées par un profil organoleptique naturel, néanmoins l'utilisation de cette méthode reste limitée dans la pratique industrielles pour des raisons de rentabilité économique (Glisic *et al.*, 2007 ; Djenane *et al.*, 2011).

IV.1.2. Discussion de l'analyse chromatographique

Les constituantes de cette HE ont été identifiées par (CPG) puis par (CG/SM) dans les conditions opératoires décrites auparavant.

L'analyse chromatographique (CG et CG/SM) d'huiles essentielles étudiées a mis en évidence quarante-trois (43) constituants dans les huiles essentielles des deux régions, *Aïn-oussera*, *Laghout* dont les composés majoritaires sont le l' α -pinène, le β -pinène respectivement.

Il a été signalé par Gourine *et al.* (2009) que le α -pinène et le α -thujène sont les composés majeurs des pieds mâles et le δ -3-carene chez les pieds femelles.

La teneur totale en composés dans l'huile essentielle de *Pistacia atlantica* de la région de *Aïn-oussera* est de 75% alors que 78.05% caractérise l'huile essentielle de *P.atlantica* de la région de *Laghout* les résultats obtenue sont plus ou moins proches.

L'huile essentielle de *Pistacia atlantica* des deux régions : *Aïn-oussera* et *Laghout* est caractérisée par une importante fraction de monoterpènes 89,87% et 91,3% respectivement, représentée par l' α -pinène (63.15% et 60.3%), le β -pinène (6,57% et 10,36%), le β -mycène (9,53% et 3,65%), limonène (2,21% et 5,06%) respectivement.

La fraction de monoterpènes oxygénés constitue 6,78% et 5.53% respectivement. Une faible fraction sesquiterpénique et d'acides gras.

Ces résultat sont en accord avec celui trouvé par Hassani *et al* (2008) pour Les huiles essentielles de feuilles, de fruits et de galles de *P. atlantica*, analysées par GC / FID, GC / MS et 13C-RMN, qui ont été dominées par des hydrocarbures monoterpéniques, l' α -pinène (32,6- 54,7%) et le β -pinène (8,0- 20,2%) étant les principaux composants. Les sesquiterpènes représentaient (14,1-21,7%) dans les huiles de feuilles, 3,6% dans l'huile de fruit et 4,8% dans l'huile de galle.

La distinction de composition constatée sur les huiles essentielles étudiées est vraisemblablement à mettre en rapport avec des facteurs biotiques tels que le climat spécifique aux régions de provenance des échantillons, les facteurs géographiques comme l'altitude et la nature du sol, aux méthodes d'extractions et aussi au type des colonnes utilisées pour effectuer les analyses chimiques.

Tableau IV: La composition chimique des huiles essentielles des galles de *P. atlantica* Desf. Prélevés dans les deux régions (*Ain-oussera* et *Laghout*). (Sifi *et al.*, 2015)

N°	COMPOSES	AIRE DU PIC CPG (%)		IRL*
		<i>Ain-oussera</i>	<i>Laghout</i>	
1	Tricyclene	1,36	1,1	1011
2	α-Pinène	63,15	60,3	1026
3	Camphène	5,18	3,11	1060
4	β-Pinène	6,57	10,36	1103
5	Verbenene	-	0,52	1115
6	Sabinène	0,81	tr**	1125
7	δ -3-Carène	-	0,97	1147
8	β-myrcène	9,53	3,65	1163
9	α -Phéllandre	-	-	1167
10	α -Terpinene	-	0,52	1185
11	Limonene	2,21	5,06	1207
12	β -Phellandre	0,47	2,25	1217
13	γ -Terpinene	-	-	1264
14	p-Cymene	0,59	1,29	1277
15	α -Terpinolene	-	2,08	1287
16	(E)-3-Hexen-1,ol	0,23	0,14	1393
17	β -Thujone	-	0,19	1453
18	terpinene 1 ol	-	-	1483
19	Bornyl acetate	2,41	1,33	1597
20	Camphene hydrate	0,27	0,19	1601
21	Terpinen-4-ol	0,13	0,37	1619
22	Cryptone	-	-	1663
23	allo-Aromadendrene	-	-	1669
24	(E)-Pinocarveol	0,67	0,13	1675
25	Ledene	0,15	0,30	1698
26	Linalyl propionate	0,42	0,27	1718
27	α -Terpineol	2,10	1,16	1722
28	α -Terpenyl acetate	0,33	1,02	1754
29	Bicyclogermacrene	-	0,17	1766
30	Germacrene B	-	0,15	1857
31	Geranyl acetone	0,22	0,73	1874
32	Palustrol	0,12	0,09	1944
33	Caryophyllene oxide	-	0,14	2007
34	Epiglobulol	-	-	2064
35	Ledol	-	0,11	2103
36	Globulol	-	-	2103
37	Viridiflorol	-	0,21	2138
38	Spathulenol	0,79	0,12	2148
39	γ -Eudesmol	0,11	-	2195
40	Isospathulenol	0,27	0,17	2259
41	Phytol	-	-	2666
42	Acide myristique	0,46	0,25	2732
43	Acide palmitique	-	-	2957
	Total identifié (%)	75,00	78,05	
	Monoterpènes	89,87	91,3	
	Monoterpènes oxygéné	6,78	5,53	
	Sesquiterpènes	0,15	0,62	
	Sesquiterpènes oxygéné	1,29	0,84	
	Acides gras	0,46	0,25	

** Trace $\leq 0,1\%$

- Composé absent dans l'échantillon

IV.1.3. Evaluation de l'activité antioxydante des différentes huiles essentielles

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des principes phytochimiques, sont fondées sur la détermination de produits résultants de l'oxydation ou bien en mesurant l'efficacité d'une substance à piéger les radicaux libres (Marc., 2004).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydant par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphenyl-picrylhydrazyle). Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydant peut être mesuré quantitativement d'une façon bien précise (Cristina *et al.*, 2009).

Le plus souvent, il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydant de l'échantillon à tester (Cristina *et al.*, 2009).

Afin de justifier l'utilisation de ces plantes dans la pharmacopée pour le traitement des maladies liées à l'oxydation, l'activité antioxydante des huiles essentielles de cette plante et de la référence vitamine E et le Trolox utilisée comme contrôle est consignée dans le tableau V.

Tableau V : Valeurs d'EC₅₀ représente l'activité anti radicalaire par la méthode DPPH

Échantillons	EC ₅₀ (mg/mL)
<i>Ain-oussera</i>	23,36 ± 1,07
<i>Laghouat</i>	19,88 ± 0,69

L'évaluation de l'activité anti-DPPH des huiles essentielles des échantillons suivant leurs concentrations (figure 14) est menée dans le but de déterminer les concentrations inhibitrices à 50% (EC₅₀). Les EC₅₀, par définition, sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important (Villano *et al.*, 2007 ; Khadri *et al.*, 2009). Les valeurs IC₅₀ sont déterminées en (mg/mL) exprimant la concentration efficace d'huile essentielle nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de DPPH.

D'après les résultats obtenus on constate que les allures des courbes sont différentes d'un échantillon à un autre suivant les différentes séries de dilutions appliquées. Ce qui indique que l'efficacité contre le DPPH est variable d'un échantillon à un autre.

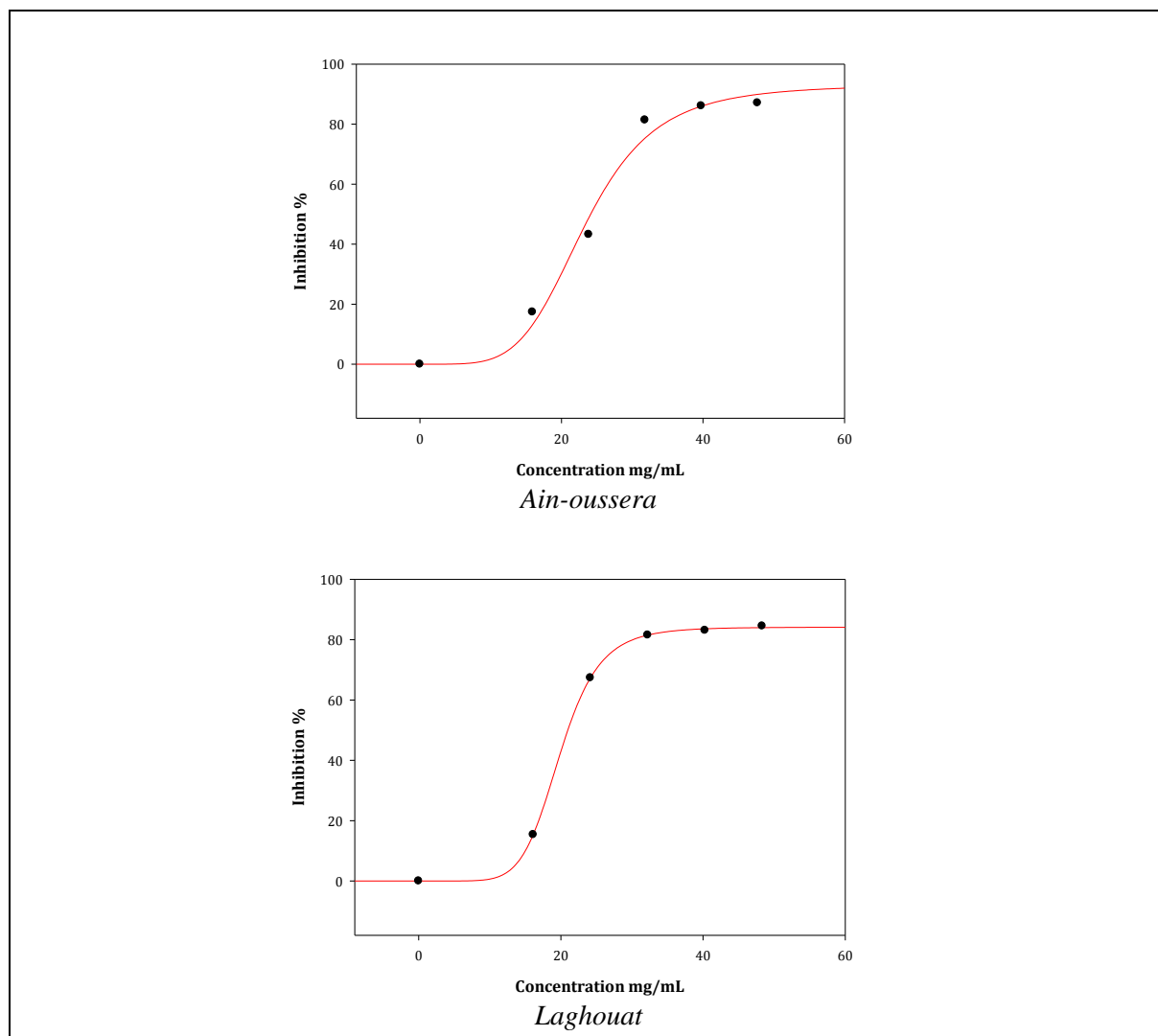


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations d'huiles essentielles des galles de *P. atlantica* des deux régions *Ain-oussera* et *Laghouat*

D'après la figure 14, l' EC_{50} est déterminé au environ de $23,36 \pm 1,07$ mg/mL pour l'échantillon de *Ain-oussera* en indiquant ainsi un pouvoir scavenger contre le DPPH moins important comparativement aux l'échantillon de *Laghouat* avec valeur d' EC_{50} égale à $19,88 \pm 0,69$ mg/mL. Ceci confirme que *P. atlantica* est efficace en termes d'effet anti DPPH.

Le test DPPH* des échantillons des huiles essentielles testées des deux régions montre une activité antioxydante faible, comparée à celle des antioxydants de référence, la vitamine E et le Trolox. Ces résultats sont différents de ceux précédemment obtenues de l'activité antioxydante des huiles essentielles des autres parties de *P. atlantica* (Raho et Benali, 2010 ; Gourine *et al.*, 2010). Cependant les différences observées dans l'étude pourrait expliquer par la différence de la composition chimique (Mecherara-Idjeri *et al.*, 2008).

IV.2. Extrait acétonique

IV.2.1. Rendement d'extraction

Tableau VI : Taux d'extraction de différents échantillons étudiés.

Echantillons	Rendement (%)
<i>Ain-oussera</i>	6,24 %
<i>Laghouat</i>	5,01 %

Les galles de *P.atlantica* d'*Ain-Oussera* ont fourni un rendement en extraits acétoniques d'environ 6,24 %, ce taux est supérieur à celui trouvé pour les galles de *P.atlantica* de *Laghouat* 5,01 %.

IV.2.2. Résultats de dosage des composés phénoliques

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal brut. Néanmoins, une estimation peut être obtenue par différentes méthodes.

La méthode de Folin-Ciocalteu est très sensible mais malheureusement peu spécifique, car beaucoup de composés réducteurs non phénoliques peuvent interférer tels que les caroténoïdes et la vitamine E (Kahkonen *et al.*, 1999), cependant, elle reste la méthode la plus employée.

IV.2.2.1. Teneur en phénols totaux

La courbe d'étalonnage des phénols totaux réalisée avec l'acide gallique ; molécule standard ; est représentée dans la figure ci-dessous. La teneur en phénols totaux pour tous les extraits est évaluée par la même procédure suivie pour l'acide gallique selon le protocole détaillé précédemment.

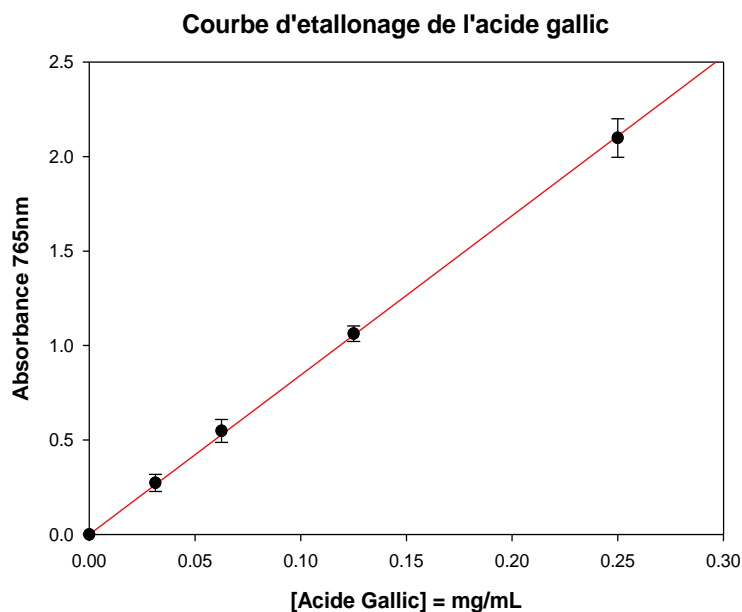


Figure 15 : Courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

Les résultats de la teneur en phénols totaux de l'extrait acétonique de chaque échantillon, exprimés en mg EAG/g d'extrait sec, sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VII : Teneur en composés phénoliques totaux

Echantillons	Composés phénoliques (mg EAG/g extrait sec)
<i>Ain-oussera</i>	61,459 ± 0,415
<i>Laghout</i>	103,070 ± 4,327

La teneur des phénols totaux des extraits acétoniques des échantillons étudiées dépend essentiellement : de leur origine (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008), la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (Park et Cha., 2003), la durée de conservation (Özgülven et Tansi, 1998) et les facteurs génétiques (Aganga., 2001).

D'après ces résultats, les teneurs en phénols totaux montrent que la valeur la plus importante est celle de l'extrait des galles de *P. atlantica* de *Laghout* (103.070 ± 4.327mg EAG/g) suivie par l'échantillon d'*Ain-Oussera* (61.459 ± 0.415 mg EAG/g).

Ces résultats sont différents de ceux précédemment obtenues pour autres parties de *P. atlantica* (les extraits de feuilles et les bourgeons avaient des teneurs phénoliques élevées avec 255,789 ± 4,733 et 233,946 ± 6,205 mg EAG/g, respectivement (Toul *et al.*, 2016).

Les résultats montrent que l'extrait brut de feuilles contient 340,58 ± 31,83 µg EAG/mg d'extrait (Ziane *et al.*, 2016).

La richesse des extraits polaires en composés phénoliques est une caractéristique prédictible vu la propriété de ces derniers d'être solubles dans l'eau et les solvants polaires et peu solubles dans les solvants apolaires (Macheix *et al.*, 2005).

IV.2.2.2. Teneur en flavonoïdes

La méthode de dosage des flavonoïdes est plus spécifique, si on la compare à celle de dosage des phénols totaux, car elle est basée sur la formation de complexe chromogène spécifique entre les flavonoïdes et $AlCl_3$. L'application du protocole, a été mise à profit, en premier lieu, pour la préparation de courbe d'étalonnage avec une série de dilution de la quercitine (figure 16).

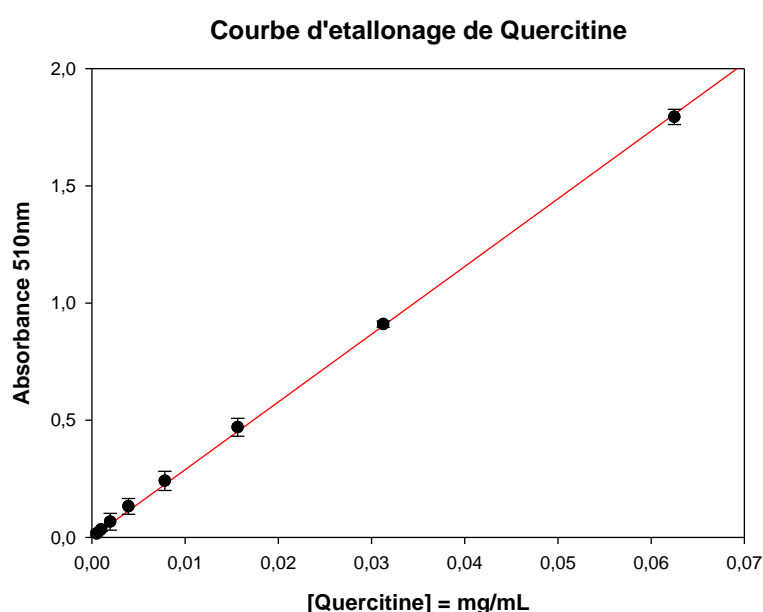


Figure 16 : Courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitine pour le dosage des flavonoïdes

Les résultats de la teneur en flavonoïde de l'extrait acétonique de chaque échantillon, exprimés en mg EQr/g d'extrait sec, sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Teneur en flavonoïdes

Echantillons	Flavonoïdes (mg EQr/g extrait sec)
<i>Ain-oussera</i>	5,3979 ± 0,2076
<i>Laghout</i>	5,6055 ± 0,1384

Les résultats révèlent que les teneurs en flavonoïdes varient d'un échantillon à une autre. L'extrait de galles de *P. atlantica* d'*Ain-oussera* qui est marqué par la teneur la plus faible en phénols totaux, présente une teneur plus au moins proches en flavonoïdes avec l'échantillon de

Laghouat dont les taux sont les suivants : $5,3979 \pm 0,2076$ et $5,6055 \pm 0,1384$ mg EQr/g respectivement.

Ces résultats sont largement inférieurs à ceux obtenues pour autres parties de *P. atlantica* (les feuilles montrent que la teneur des flavonoïdes dans les extraits éthanoliques 44 mg ER/g (Rigane *et al.*, 2016). Ce qui explique le choix du solvant d'extraction influence sur la teneur en composés phénolique quel que soit, phénols simple ou bien flavonoïdes.

IV.2.3.Évaluation de l'activité antioxydante des extraits acétoniques « DPPH »

Tableau IX : Activité antiradicalaire par la méthode DPPH

Echantillons	EC ₅₀ (µg/mL)
<i>Ain-oussera</i>	27,14
<i>Laghouat</i>	11,77
Vitamine E	110,7
Trolox	03,10

Puisque les valeurs d'IC₅₀ présentent les concentrations d'inhibiteurs nécessaires pour balayer 50% des radicaux libres et qui sont inversement proportionnelle à l'activité antioxydante, d'après le classement croissant schématisé de la figure 17 on remarque que l'ensemble des extraits acétoniques ont un pouvoir antioxydant supérieur à la vitamine E, comparativement au Trolox. en se basant sur les résultats obtenus. On peut conclure que la variation de la capacité antioxydante de ces extrais comparativement à celle du Trolox et la vitamine E pourrait principalement due à la présence de certains molécules potentiellement actives.

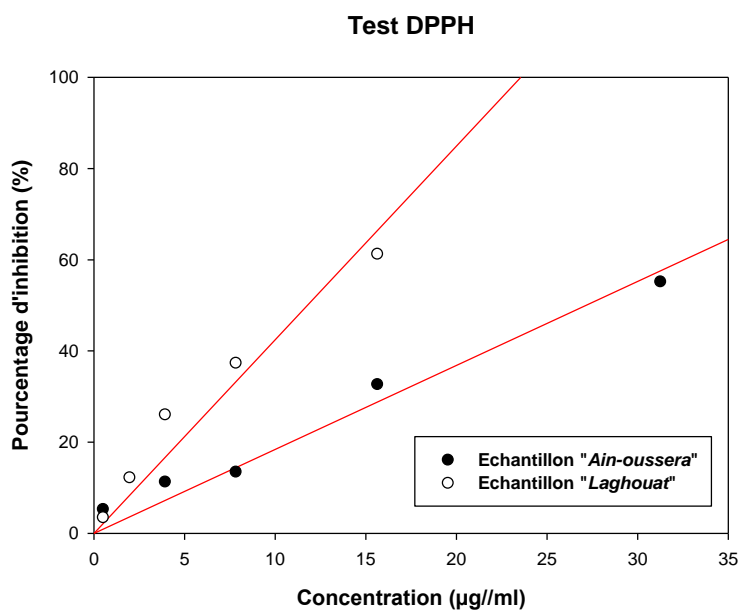


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extrait acétoniques des galles de *P. atlantica* des deux régions *Ain-oussera* et *Laghouat*

La synthèse de ces résultats indique que l'extrait de *P. atlantica* de *Laghouat* est le plus efficace en termes d'activité anti-radicalaire contre le DPPH, en montrant l'EC₅₀ la plus basse (11,77 µg/ml) la plus proche de celle exprimée par le Trolox (3,10 µg/ml). Alors que, les galles de l'espèce *P. atlantica* de la région d'*Ain-oussera*, ont manifesté la valeur d'EC₅₀ la plus élevée atteignant (27,14 µg/ml) reflétant ainsi l'activité anti radicalaire plus faible.

Selon Toul *et al* (2016), l'activité antioxydante des extraits préparés à partir de sept parties de *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *atlantica* (Fruits, feuilles, bourgeons, tiges, racines, écorces de tronc internes et externes) les valeurs de EC₅₀ de concentrations variaient de 0,059 à 5,712 mg / mL de DPPH ; 0,015 à 3,141 mg / ml.

En comparant ces résultats avec celle de nos résultats des huiles essentielles, une différence significative a été observée en terme activité antioxydantes. Les valeurs d'EC₅₀ des échantillons en huiles essentielles ont été exprimées en mg/mL ; en revanche les valeurs d'EC₅₀ des extraits acétonique ont été exprimées en µg/mL.

En effet, un grand nombre de travaux réalisés sur l'activité anti-radicalaire d'extraits de plantes ont montré que les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Burda et Oleszek., 2001 ; Mansouri.*et al.*, 2005).

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

La valorisation des plantes médicinales appliquées dans les différentes cultures ethniques, en étudiant leurs activités biologiques, est une étape clé pour tenter de trouver des remèdes pour plusieurs problèmes de santé et ouvre sur des perspectives de découvrir de nouvelles molécules naturelles et la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutique vue les effets secondaires des médicaments.

Notre travail de recherche est focalisé sur la valorisation de deux échantillons de *Pistacia atlantica* provenant de deux régions de sud Algérien (*Laghouat* et *Ain-oussera*), en intéressant particulièrement aux galles.

Les extraits et l'huiles essentielles des deux échantillons de la plante médicinale : *P. atlantica* ont fait l'objet d'une étude détaillée. Commenant par l'extraction et l'analyse chimique par chromatographie CG et CG/SM pour les huiles essentielles des deux échantillons étudiés.

Les analyses effectués par la chromatographie CG et CG/SM ont confirmé la richesse des huiles essentielles des galles de la plante étudiée en divers constituants, dont les composés majoritaires sont le α -pinène, le β -pinène le β -mycène et limonène respectivement.

L'extraction des composés phénoliques a été faite à partir d'une poudre fine de ces galles de plante en utilisant l'acétone comme solvant d'extraction. Les rendements de cette extraction montrent que l'échantillon de *Laghouat* est plus riche en phénols totaux en comparaison aux échantillons d'*Ain-oussera*.

Le dosage des phénols totaux, par la méthode de Folin-ciocalteu, affirme que *P. atlantica* de la région de *Laghouat* est relativement riche en ces composés (103.070 ± 4.327 mg EAG/g). Cependant, le taux est plus faible est exprimé par les galles de *P. atalntica* de *Ain-oussera* (61.459 ± 0.415 mg EAG/g).

Quant aux teneurs des plantes en flavonoïdes, l'extraits de *P. atlantica* de deux régions *Laghouat* et de *Ain-oussera* ont le même taux de (5.6055 ± 0.138 et 5.3979 ± 0.2076 mg EQr/g extrait sec) respectivement.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire contre le DPPH affirme que l'huile essentielle de galles de *P. atlantica* de *Laghouat* est plus puissant avec une EC_{50} ($19,88 \pm 0,69$ mg/mL) un peu basse par rapport à EC_{50} de l'échantillon d'*Ain-oussera* ($23,36 \pm 1,07$ mg/mL) l' EC_{50} des deux échantillons est loin à celle de standard Vitamine E ($110,7$ μ g/ml), et plus ou moins proche à l' EC_{50} de Trolox ($03,10$ μ g/ml). Ceci serait expliqué par le contenu important de cette plante en composés phénoliques. D'autre part l'extrait acétonique de galles de cette plante, est loin d'être comparable avec celles des huiles essentielles, l'extrait de l'échantillon de *Laghouat* a exprimé une EC_{50} plus élevée (11.77 μ g/ml). Tandis que l'extrait de *P. atlantica* d'*Ain-oussera* a montré une EC_{50} moins importante (27.14 μ g/ml), reflétant l'activité anti-radicalaire la plus faible.

Concernant l'activité anti-radicalaire on peut dire qu'il n'est y a pas une grande différence entre l'activité des huiles essentielles et des extraits acétonique de *P. atlantica* des deux régions *Laghouat* et *Ain-oussera*.

Nous concluons à partir de cette étude que les huiles essentielles et les extraits acétonique des galles de *P. atlantica* constituent une source intéressante en divers composés, cette richesse peut expliquer le contenu de cette plante en composés phénoliques. Par contre le test DPPH• des échantillons des deux régions d'étude, montre une activité antioxydante un peu faible, comparée à celle des antioxydants de référence mais reste importante, Ce qui témoigne et justifie leur utilisation en médecine traditionnelle dans le traitement de diverses maladies. Cependant, ces résultats restent partiels et d'autres travaux sur cette plante s'imposent aux niveaux pharmacologiques et chimiques, car les approches sont restées globales en ne prenant en compte que l'ensemble des composés présents dans les extraits. Il serait essentiel, à l'avenir de préciser la nature des composés phénoliques, en utilisant des méthodes plus avancées telles que l'HPLC et la RMN.

Aussi, il serait intéressant de tester les composés identifiés individuellement en faisant appel à des tests pharmacologiques *in vivo*. Finalement, il est impératif de vérifier également l'absence d'effets cytotoxiques des composés.

A

- AFNOR NF T75-006**, « Les huiles essentielles-vocabulaire-1ere liste », (1998, b) A.F.N.O.R. (Association Française de normalisation). Recueil des normes françaises « Les huiles essentielles ». Ed. A.F.N.O.R., Tour Europe, 2ème Ed. Paris, 1986.
- AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé)**. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles.
- Alvarez, R., Encina, A., Pérez Hidalgo, N.** (2009). Histological aspects of three *Pistacia terebinthus* galls induced by three different aphids *Paracletus cimiciformis*, *Forda marginata* and *Forda formicaria*. *Plant Science*, 176 :303–314.
- Amara, M.** (2009). Contribution à l'étude de *Pistacia atlantica* Desf. Dans le Nord-Ouest Algérien : Aspect écologiques et cartographie. *Thèse de Magister : Ecologie végétale*, Université de Tlemcen, 150 p.
- Amić, D., Bešlo, D., Trinajstić, N.** (2003). Structure–Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta CCACAA*, 76: 55-61.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R.** (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem*, 104: 21-29.
- 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 Chemistry*, 112: 303–309.
- Audigie, C.L., Dupon, G., Zongain, F.** (1995). Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème édition. *Doin*, Paris, p. 44.

B

- Beckman, K. B et Ames, B. N.** (1998). The Free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 78 (2) : 547-581.
- Belaiche, P.** (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. *Maloine*. Paris.
- Belhadj, S.** (2001). Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. 11eme colloque du grempa sur le pistachier et l'amandier, Sanliurfa (Turkey). Zaragoza : (Cahiers Options Méditerranéennes 56, *Ciheam-Iamz*, 107-109.
- Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel, I., Skandrani, I., Naffeti, A., Boubaker, J., Ben Sghaier, M., Bhouri, W., Mahmoud, A., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K.** (2007). Antibacterial and cytotoxic activities of extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae). *Ann. Microbiol.* 57: 453-460.

- Benjlali, B.** (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation, p : 17-59.
- Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felinger, A.** (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217: 7972–7980.
- Boukhatem, M.N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., Hakim, Y.** (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie), *Revue Nature et Technologie*, 03: 37-45.
- Bozin, B., Mimica-Duric, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R.** (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae), *Food Chemistry*, 111: 925-929.
- Britannica Concise Encyclopedia.** (2009). "gall." *Encyclopædia Britannica Online*, 25 Sept. 2009. <http://search.eb.com/ebc/article-9365158>
- Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, Ed. Editions médicales internationales *TEC et DOC*, Paris. P : 1120.
- Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2^{ème} édition, Paris : *Lavoisier Techniques & Documentation*, p : 915
- Bruneton, J.** (2008). Menthe in : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4^{ème} édition, Paris.
- Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R.** (2000). Biochemistry and molecular biology of plants. *American Society of Plant Physiologists*, chapitre 24, p: 1250-1318.
- Burda, S., et Oleszek, W.** (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2774-2779.

C

- Carée, P.** (1953). Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Edit. Ballière JB. et fils.
- Chalchat, J.K., Carry, L. P., Menut, C., Lamaty, G., Malhuret, R., Chopineau, J.** (1997) Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res*, 9: 67-75.
- Collin, G. (2000). Quelques techniques d'extraction de produits naturels. *Info-essences*, 13:4-5.
- Cotelle, N.** (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. Current topics in medicinal chemistry, 1: 569-590.

D

- Da Silva Pinto, M., Maria Lajolo, F., Innés Genovese, M.** (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa* Duch), *Food Chemistry*, 107: 1629-1635.
- Daget, Ph., et Godron, M.** (1974). *Vocabulaire d'écologie*. Hachette, Paris, p : 273.
- Davies, K.J.** (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life* 50 : 279–289.
- De Maack, F., et Sablier, M.** (1994) .Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier : P2614. Vol papier n° : TA3. Bases documentaires, *Techniques d'analyse*.
- Derbel, S., Ghedira, K.** (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et nutrition*, 1: 28-34.
- Desjobert, J. M., Bianchini, A., Tommy, P., Costa, J., Bernardini, A. F.** (1997). Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25 (6) : 13-16.
- Duraffourd, C., D'Hervicourt, L. Lapraz, J. C.** (1990). Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2^{ème} éd. *Masson*, Paris.

E

- Eisenhut, M.** (2007). The toxicity of essential oils,.article in presse. *International Journal of Infectious Diseases*, 11(4) : 365.
- El Oualidi, J., Ater, M., Taleb, A.** (2004). Conception, essai et valorisation des meilleures pratiques de conservation *in-situ* d'espèces végétales sauvages d'importance économique. *Rapport National du Projet Régional EP/INT/204/GEF* (commandité par la FAO).
- Evans, P., et Halliwell, B.** (1999). "Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria." *Annals of the New York Academy of Sciences*, 884: 19-40.

F

- 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.
- Favier, A.** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64 (6) : 390-396.
- Finkel, T., Holbrook, N.J.** (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408 :239–247.

-**France-Ida, J.** (1996). Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Info-essence*, 3 : 5-6.

-**France-Ida, J.** (1998). Comment s'assurer de la pureté d'une huile essentielle ? *Info – essences*, 7: 1-2.

-**Frankel, E.N., Meyer, A. S.** (2000). "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants". *Journal of Science and FoodAgriculture*, 80: 1925-1941.

G

-**Gauthuret, R.J.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Université de Bordeaux*, p 7-87-1234-133.

-**Ghedira, K.** (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: 162-169.

-**Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A.M.** (2001). Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. *TEC et DOC*, Paris.

-**Ghnimi, W.** (2015). Etude Phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acetylcholinestérase. *Thèse de Doctorat en Chimie /Biologie* de l'université de Lorraine et de la faculté des Sciences de Bizerte, p : 3.

-**Gourine, N ., Sifi, I., Gaydou, M. E., Yousfi, M.** (2011). Chemical Composition of the Essential Oil of Unripe Galls of *Pistacia atlantica* Desf from Algeria.

-**Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Pushpangadan, P.** (2005). Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana' herbs of *Ayurveda*. *Journal of Ethnopharmacology*, 99 :165-178.

-**Grysole, J.** (2004). La commercialisation des huiles essentielles. *Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation*, 139-141.

H

-**Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J .P.** (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62 (10): 628-638.

-**Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J.** (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.

-**Hellal, Z.** (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). *Mémoire de Magister*. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

-**Hernandez Ochoa, L.R.** (2005) .Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. *Thèse de doctorat*, Institut national polytechnique de Toulouse.

-**Huang, D., Ou, B., Priorr, L.** (2005). "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6) : 1841-1856.

K

-**Kouadio, B., Djeneb, C., Yvette, F.N.B., Yao, K., Basile, Y.A., Cynthia, Y.Y., Alain, A.S., Guédé Noël, Z.** (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le Département de Transua, District du Zanzan (Côte d'Ivoire), *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2 (27) : 4230-4250.

L

-**Laouer, H.** (2004). Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. *Thèse de Doctorat d'état*, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

-**Larousse.** (2009). Dictionnaire Larousse, Paris, p : 1120.

-**Lin, J.K., Weng, M.S.** (2006). Flavonoids as Nutraceuticals. In: The science of flavonoids. Grotewold, E. *Eds, Springer*, p: 217.

M

-**Maamri, S.** (2008). Etude de *pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. *Mémoire de Magister* Université de Boumerdes, P : 10 11 12 35 57.

-**Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmmit, R.** (2007). Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some that indigenous plants, *Food Chemistry*, 100:1409-1418.

-**Mansouri, A., Ennbarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P.** (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem* 89: 411–420.

- Marfak, A.** (2003). Radiolyse gamma des flavonoides, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides .*Thèse de doctorat en biophysique* l'université de Limoges, P : 6-7-27-45.
- Martin, S., Andriantsitohaina, R.** (2002).Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie*, 51 : 304–315.
- Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V., Casanova, J.** (2008). Composition of Leaf, Fruit and Gall Essential Oils of Algerian Pistacia atlantica Desf.
- Meziti, A.** (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L Etude in vitro et in vivo. *Mémoire de Magister* Université de Batna.p 30-35-49-67.
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L.P.** (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett*, 384 : 240-2.
- 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, Option : Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses. Université Abou Bekr Belkaid.
- Moro Buronzo, A.** (2008). Le Grand Guide des Huiles Essentielles : Santé, Beauté, Bien être ; Ed : *Hachette Pratique*, p : 4.

N

- Najjaa, H., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Ammar, E., Neffati, M.** (2011). Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre Allium, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Bot. Gallica*, 158 : 111-123.
- Noguchi, N.** (2002). Novel insights into the molecular mechanisms of the antiatherosclerotic properties of antioxidants: the alternatives to radical scavenging. *Free Radic. Biol. Med*, 33 : 1480–1489.

P

- Paré, J.** (1997). Procédé assisté par micro-ondes. *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles*, 4 :4.
- Paris, M., Hurabielle M.** (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome I, édition *Masson*.
- Pietta, P.G.** (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63:1035–1042

-**Pokorny, J., Yanishlieva, N., Cordon, H.** (2001). Les antioxydants dans les aliments. Les applications pratiques. *Woodhead Publishing limfted. CRC Press.* Cambridge Angleterre.

-**Pradeau, D., et Dauphin, C.** (2007). Chromatographie planaire : applications. Dossier P1476, Base documentaire : *Techniques d'analyse.*

R

-**Rahal, S.** (2004) - Chimie des produits naturels et des êtres vivants. *O.P.U.* Edition. p.162

-**Rao, SVC. A., Reddy, S.G., Babu, P. P., Reddy, A. R.** (2010). The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from Njavara rice bran. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10:4.

-**Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B.** (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic. Biol. Med* 49: 1603- 1616.

-**Reynertson, K.A.** (2005). Plants That Fight Cancer. *Economic Botany*, 59:201-202.

-**Rigane, G., Ghazghazi, H., Aouadhi, C., Ben Salem, R., Nasr, Z.** (2016). Contenu Phénolique, la capacité antioxydante et l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *Pistacia atlantica*.

-**Rohfritsch, O., Shorthouse, J.D.** (1982). Insect galls, in: G. Kahl, J.S. Schell (Eds.), *Molecular Biology of Plant Tumors, Academic Press, New York*, p: 131- 152.

S

-**Salvayre, A.N., et Salvayre, R.** (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*, 5 (12) : 433-438.

-**Schwedt, G.** (1993). Méthodes d'analyse. Ed. *Flammarion.*

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

-**Sifi, I.; Gourine, N.; Gaydou, E. M. & Yousfi, M.** (2015). Chemotypes of essential oil of unripe galls of *Pistacia atlantica* Desf. from Algeria. *Nat Prod Res*, 29(20), 1945-1949.

-**Somon, E.** (1987). Arbres et arbrisseaux en Algérie. *Edit. OPU, Alger*, 586p.

T

-**Tapiero, H., Tew, K.D., Nguyen, Ba.G., et Mathé, G.** (2002). Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomedical, Pharmacotherapy*, 56: 200-207.

- Telphon, T.** (2003). ABC des huiles essentielles. Ed, Grancher, p358.
- Tiqwari, A.K.** (2001). Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*, 81 (9): 1179-1181.
- Touafek, O.** (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algérien. *Thèse de doctorat*, Université de Constantine, p : 9-12-76.
- Toul, F., Belyagoubi-Benhammou, N., Zitouni, A., Atik-Bekkara, F.** (2016) Activité antioxydante et profil phénolique des différents organes de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* d'Algérie.
- Trében Maria,** (1985). La Santé à la Pharmacie du Bon Dieu, 4^{ème} édition *ENNSTHALER*, p : 3.

Υ

- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J.** (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266 (1-2) : 37-56.
- Valnet, J.** (1984) .Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. *Maloine S.A. éditeur*. Paris p 544
- Vansant, G.** (2004).Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». *Institut Danone*.
- Vermerris, W., et Nicholson, R.** (2006). Phenolic Compound Biochemistry. *Springer Science. Netherlands*, p : 276.

W

- Wichtel, M., Anton, R.** (2003). Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique (Edition Lavoisier, France). 2^{ème} édition, *Tec & Doc*. Paris. p : 1-21

Y

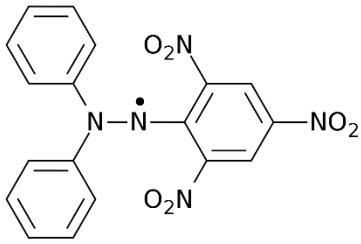
- Yaacoub, R.** (2009). Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Intéret de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés. *Thèse de doctorat*. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech).

Z

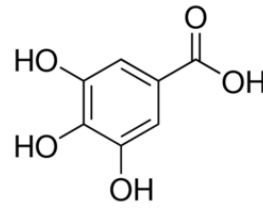
- Ziane, N., Dahamna, S., Aouachria, S., Khanouf, S., Harzallah, D.** (2016). *Pistacia atlantica*, nouvelle substance utilisée contre le diabète associé au stress oxydant. Quantification

of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa* Duch), *Food Chemistry*, 107: 1629-1635.

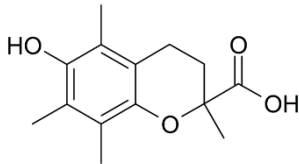
Annexe I



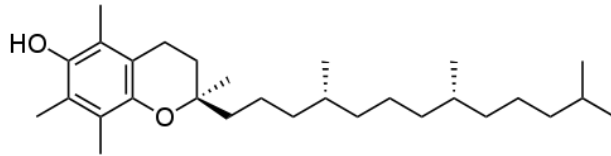
Structure de la molécule de DPPH
(Diallo, 2005)



Structure de l'acide gallique
(Kubola et Siriamornpun, 2008)

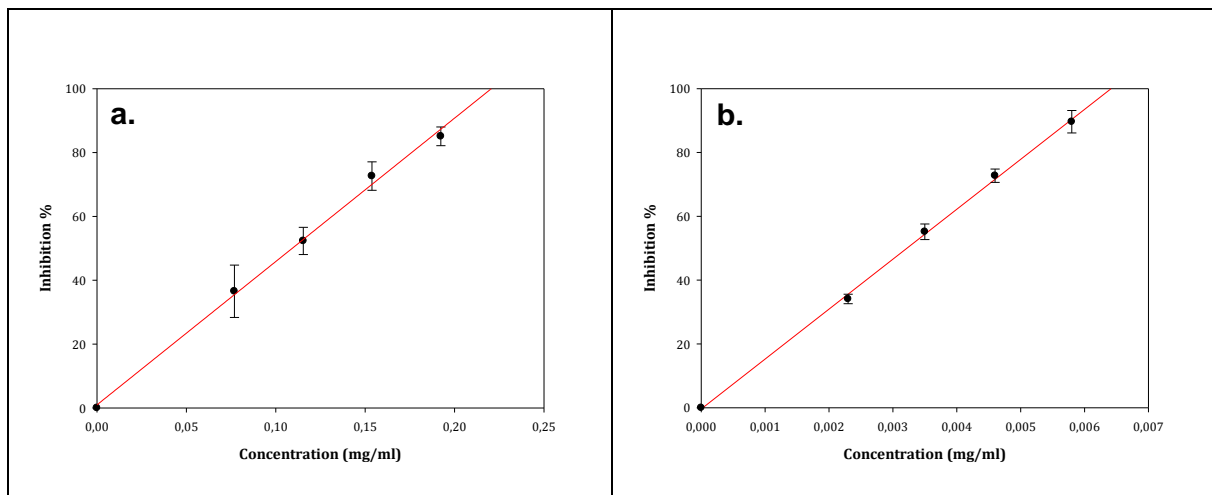


Structure chimique du Trolox



Structure de la vitamine E

Annexe II : L'activité antioxydant de la Vitamine E (a) et du Trolox (b), des antioxydants de référence par le test DPPH.



Annexe III

