

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار تليدجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم والهندسة
FACULTE DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGENIEUR
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE MASTER

Pour l'obtention du Titre de Master en Biochimie

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V)
Filière : Biochimie
Spécialité : Biochimie des produits naturels

THEME

*Activité antioxydante des huiles des fruits
du pistachier de l'Atlas*

Réalisé par : ADILA Reguia et BELBOUL Imane

Encadré par : Mr. GUENANE Hamid

Devant les jury:

Mme HAMIA C. Présidente

Mme NEBAG H. Examinatrice

Année universitaire 2013/2014

(Activité antioxydante des huiles des fruits du pistachier de l'Atlas)**ADILA Reguia & BELBOUL Imane****Résumé :**

L'huile des fruits du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) est connue, depuis longtemps, pour ses vertus multiples, ce qui l'a mise au centre de plusieurs travaux expérimentaux.

A travers cette modeste contribution, nous avons étudié l'activité antioxydante de l'huile des fruits de Pistachier de l'Atlas selon plusieurs paramètres, entre autres, le degré de maturation.

Les huiles ainsi extraites ont subi plusieurs tests tels que la quantification des tocophérols totaux, l'étude du pouvoir antioxydant (par deux tests de référence, DPPH et Molybdate), extraction et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'étude de leurs activités.

Les résultats obtenus ont indiqué une différence entre l'huile des fruits matures et celle des immatures. Cette dernière, en dépit d'un rendement faible, s'est distinguée par une richesse en tocophérols et par une activité antioxydante marquée. En outre, sa teneur en composés phénoliques actifs est assez intéressante, ouvrant la voie à de nouvelles perspectives en vue de sa mise en valeur.

Mots clés: *Pistacia atlantica*, Fruit, Huile, Tocophérols, Antioxydant, Stade de maturation, polyphénols, flavonoïdes.

(النشاط المضاد للأكسدة لزيوت ثمار الفستق الأطلسي)

ملخص:

زيت ثمار الفستق الأطلسي (البطم الأطلسية) معروف منذ القديم , وذلك لفوائده الكثيرة ، و التي جعلت منه مركز للعديد من الأعمال التجريبية. من خلال هذه المساهمة المتواضعة، قمنا بدراسة النشاط المضاد للأكسدة لزيت ثمرة الفستق الأطلسية وفقا لعدة معايير، من بينها ، درجة النضج. الزيوت المستخلصة خضعت لعدة اختبارات مثل قياس كمية المحتوى الكلي من التوكوفيرول، ودراسة النشاطات المضادة للأكسدة (باستعمال إختبارين DPPH وموليبدات)، واستخراج وتحديد إجمالي البوليفينول والفلافونويدات ودراسة نشاطات هذه الأخيرة. أظهرت دراسة النتائج وجود فرق بين زيت الثمار غير الناضجة والثمار الناضجة. هذه الأخيرة على الرغم من مردودها المنخفض تميزت بوفرته من حيث التوكوفيرول , كذلك من حيث نشاطها المضاد للأكسدة الملحوظ. بالإضافة إلى ذلك، محتواها الهام من المركبات الفينولية النشطة ، مما يجعلها تستحق فتح آفاق جديدة لتنميتها.

الكلمات الرئيسية: البطم الأطلسي *Pistacia atlantica* , ثمار , زيت , توكوفيرول , مضاد للأكسدة , مرحلة النضج , الفينولات , الفلافونويدات .

(Antioxidant Activity of fruits of pistachio oils Atlas)

Summary:

The oil from the fruits of Atlas Pistachio (*Pistacia atlantica*) is known for a long time for its many virtues, which was placed at the center of several experimental works.

Through this modest contribution, we investigated the antioxidant activity of the fruit oil of Atlas Pistachio according to several parameters, among them , the degree of maturation.

Oils extracted and underwent several tests such as the quantification of total tocopherols, the study of their activity antioxidant power (two benchmark tests, DPPH and Molybdate), extraction and determination of total polyphenols and flavonoids and the study activities thereof. The results showed a difference between mature and immature oil. The latter, despite a low yield is distinguished by a wealth of tocopherols and a marked antioxidant activity. In addition, its content of active phenolic compounds is quite interesting, opening up new perspectives for its development.

Key words: *Pistacia atlantica* Fruit Oil, Tocopherol Antioxidant Stadium maturation, polyphenols, flavonoids.



Dédicace

Je dédie ce travail :

♥ *A mes parents pour m'avoir donné ma chance à l'Université et de m'avoir appris à ne jamais baisser les bras, même dans l'adversité. Si j'en suis là ; c'est grâce à vous ... pour leur patience, écoute et tes encouragements au quotidien, et aussi leur soutien durant toute ma vie ♥*

*À mon père Mohammed *(que dieu ait son âme), qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'aurais souhaité t'avoir à mes côtés. Malheureusement, le sort en a décidé autrement. Tu seras toujours parmi nous.*

♥ *Mon père **J'espère que tu habites les paradis ♥ AMEN*

Il est naturel que ma pensée la plus forte aille vers ma mère, à qui je dois la vie et une part essentielle de ma personnalité. Qu'elle sache que l'amour qu'elle me donne continue à m'animer et me permet d'envisager l'avenir comme un défi.

♥ *que dieu la garde et la protège ♥*

A mes chers frères Noureddine, hadj Ali, Tahar et ma sœur Naima. A eux tous, je souhaite un avenir plein de joie et de bonheur.

♥ *A mes adorables nièces et neveux, Oussama et Aya Amira ♥*

♥ *A tous les membres de ma famille ♥*

♥ *A « Mon future Mari », hadj Ali ♥*

A mes meilleurs amis (es) Amina, Souad, Khadîdja, Imane, Zohra, pour les bons moments que nous avons partagés et que nous aurons encore INCHA ALLAH vous êtes ma deuxième famille

A mes enseignants, en reconnaissance de tous les sacrifices consentis par tous et chacun pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon

Amour

REGUIA A

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force ; la puissance et la volonté de terminer ce travail après une longue

Patience et d'effort

Il va de soi que nous remercions nos parents pour leurs patience ; écoute ; et encouragements

Tous les sentiments de respect et de gratitude à Mr. G'UENANE hamid maître assistant à l'université Amar Telidji Laghouat, pour son encadrement de qualité et pour nos avoir accordé sa confiance. Nous avons apprécié en vous vos critiques ; vos remarques ; vos suggestions ont été d'un grand apport pour la réalisation de notre travail.

Nous adressons nos vifs remerciements à Mr YOUSFI Mohamed professeur à l'université Amar Telidji Laghouat.

Nos reconnaissances toute particulières et gratitude, à Mr. GOUZI hicham maître assistant à l'université Amar Telidji Laghouat et tous les responsables de laboratoire de Biologie pour l'aide précieuse et chaleureuse au sein du laboratoire ; pour les nombreux services qu'ils nous ont rendus durant la réalisation de ce travail.

Nos remerciements les membres de jury d'avoir bien voulu accepter, de juger ce travail.

Enfin, nos remerciements toutes les personnes qui, de près ou de loin, nos enseignants de notre département qui participe et/ou veille à notre formation

Merci

Nous aurons le destin que nous aurons mérité

DEDICACES

Merci Allah (mon Dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel.

Je dédie ce mémoire à ...

A ma très chère mère Remada Khadra

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A mon très cher papa Belboul Tahar

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes adorables sœurs Sara et Rania

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

Malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur.

A mon très cher frère Mohammed

Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mon très cher mari Djaballah Omar

Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

A ma chère binôme Adila Rekaia

C'est ainsi qu'est née notre amitié et c'est pour cela que nous partageons ce coin de vie.

A notre cher professeur Guenane Hamid

*Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez
toujours été présent.*

Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu durant cette année.

BELBOUL Imane

Table des matières

	Pages
Résumé	
Remerciement	
Dédicaces	
Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur <i>Pistacia atlantica</i>	3
I.1.Présentation du <i>Pistacia atlantica</i> Desf	3
I.2.Classification taxinomique	4
I.3.Caractéristiques anatomiques et botaniques du <i>Pistacia atlantica</i> Desf	4
I.4.Répartition géographique	5
I.5.Rôles et usages de l'arbre	5
I.5.1.Utilisations locales	5
I.5.2.Autres utilisations	6
Chapitre II : Généralité sur les lipides	7
II.1. Lipides : vue d'ensemble	7
II.2.Classification des lipides	7
II.2.1.Acides gras	8
II.2.1.1.Acides gras saturés	8
II.2.1.2.Acides gras désaturés (insaturés)	8
II.2.1.2.1.Acides gras monodésaturés	9
II.2.1.2.2.Acides gras polydésaturés	9
II.2.1.3.Acides gras hydroxylés	10
II.2.1.4.Acides gras ramifiés	10
II.2.1.5.Acides gras à très longue chaîne	11
II.2.1.6.Eicosanoïdes, peroxides	11
II.2.2.Glycérolipides	12
II.2.2.1.Glycérides (acyl-glycérols)	12
II.2.2.2.Glycérophospholipides	12
II.2.2.3.Bétaïne lipides	13
II.2.3.Sphingolipides	13
II.2.3.1.Sphingomyélines	14
II.2.3.2.Sphingoglycolipides	14
II.2.3.2.1.Glycolipides neutres simples ou Galactolipides	14
II.2.3.2.2.Glycolipides neutres complexes	15
II.2.3.2.3.Glycolipides acides ou Gangliosides	15
II.2.4.Cérides	16
II.2.5.Lipides polyisopréniques	16
II.2.5.1.Polyisopréniques	16
II.2.5.1.1.L'acide acétique activé	16
II.2.5.1.2.Isoprénoïdes	17
II.2.5.2.Stérols et Stéroïdes	19
II.2.5.2.1.Stérols	19
II.2.5.2.2.Dérivés des stérols	20
II.2.5.2.2.1.Acides biliaires	20
II.2.5.2.2.2.Hormones stéroïdes	20
II.2.5.2.2.3.Vitamine D	21

II.2.5.2.2.4.Brassinostéroïdes	21
II.2.5.2.2.5.Alcaloïdes et hétérosides stéroïdiques	22
II.2.5.2.3.Hopanoïdes	22
II.2.5.3.Caroténoïdes	22
II.2.5.3.1.Carotènes	22
II.2.5.3.2.Xanthophylles	23
II.2.5.3.3.Vitamines A	23
II.2.5.4.Quinones à chaîne isoprénique	24
II.2.5.4.1.Vitamines E	24
II.2.5.4.2.Ubiquinones et plastoquinones	25
II.2.5.4.3.Vitamines K	25
II.3.Rôles biologiques	26
II.3.1.Combustible	26
II.3.2.Matériau	26
II.3.3.Isolant	26
II.3.4.Rôles particuliers	27
Chapitre III : Généralité sur les polyphénols	28
III. Polyphénols	28
III.1. Définitions	28
III.2. Structure de Polyphénols Végétaux	28
III.3. classification des polyphénols	29
III.3.1. Les polyphénols monomériques	30
III.3.1.1. Les acides phénoliques	30
III.3.1.2. Les flavonoïdes	30
III.3.2. les polyphénols sous forme de polymères.....	32
III.3.2.1. Les tanins	32
III.3.2.2. Lignines	32
III.4. Propriétés chimique des polyphénols	32
III.4.1. Inhibition enzymatique.....	32
III.4.2. Chélation des ions métalliques	33
III.5. Propriétés thérapeutiques des polyphénols	33
Chapitre IV : Radicaux libres ; stress oxydatif et pouvoir antioxydants	34
IV. Stress oxydatif	34
IV.1. Définition du stress oxydatif	34
IV.2. Origine du stress oxydatif	35
IV.2. les radicaux libres	36
IV.2.1. Définitions	36
IV.2.2. Origine et production des espèces oxygénées réactives	37
IV.3.3. Nature et sources cellulaires des EOR	38
IV.3. Implications pathologiques du stress oxydatif	39
IV.3.1. Les dommages oxydants	40
IV.3.1.1. Peroxydation lipidique	41
IV.4. L'activité antioxydante	41
IV.4.1. Définition d'un antioxydant	41
IV.4.2. Mécanisme d'action d'un antioxydant	42
IV.4.3. Les systèmes antioxydants	42
IV.4.3.1.Différents types d'antioxydants	42
IV.4.3.1.1. Selon leur action	42
IV.4.3.1.2. Selon leur source	43
IV.4.4. Sources des antioxydants exogènes	46

IV.4.4.1. Les antioxydants synthétiques	46
IV.4.4.2. Les antioxydants naturels	46
<i>Deuxième partie : Etudes Expérimentale</i>	
Chapitre I : Matériels et méthodes	47
I. Matériels et méthodes	47
I.1. Matériel	47
I.1.1. Matériel et équipement	47
I.1.2 Matériel végétal	47
I.1.2.1. Récolte des échantillons	47
I.1.2.2. Tri et extraction	47
I.2. Méthodes	50
I.2.1. Méthodes d'extraction des lipides	50
I.2.2. Analyses biochimiques	52
I.2.2.1. Calcul du rendement d'extraction	52
I.3. Etudes expérimentales	52
Première partie (Pour l'ensemble des échantillons huileux)	52
I.3.1. Analyses quantitative des lipides	52
I.3.1.1. Dosage des tocophérols pour l'ensemble des échantillons lipidiques	52
I.3.2. Evaluation du pouvoir antioxydant	53
I.3.2.1. Test de piégeage du radical DPPH°	53
I.3.2.2. Test Molybdate phosphate	54
Deuxième partie (Pour les huiles regroupées au nombre de 5 avant et après extraction de polyphénols)	55
Troisième partie (extraction, dosage et activité des composés phénoliques dans l'huile)....	55
I.3.3. Méthodes d'extraction des composés phénoliques	55
I.3.4. Analyses quantitative des composés phénoliques	57
I.3.4.1. Dosage des phénols totaux	57
I.3.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	58
I.3.5. Évaluation de pouvoir antioxydant des polyphénols	58
I.3.6. Analyse statistique des données	58
Chapitre II : résultats et discussion	59
Première partie	59
II.1. Etude de l'ensemble des échantillons lipidiques.....	59
II.1.1. Caractéristiques des huiles extraites et rendement	59
II.1.2. Taux des tocophérols totaux	64
II.1.3. Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles des fruits du Pistachier de l'Atlas	67
II.1.3.1. Test de piégeage d'un radical libre le DPPH	67
II.1.3.1.1. Relation entre teneur en tocophérols et pouvoir anti radicalaire	70
II.1.3.2. Test Molybdate Phosphate	72
Deuxième partie	72
II.2. Analyse biochimique de la fraction lipidique avant et après extraction des composés phénoliques	75
II.2.1. Relation entre teneur en tocophérols et pouvoir antioxydant	77
II.3. Extraction des composés phénoliques... ..	80
II.3.1. Rendement de l'extrait phénolique brut	80
II.3.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes	82
II.3.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques.....	85
Conclusion générale	88
Références bibliographique	89

Annexes 104

Liste des tableaux

Numéro	Titre des tableaux	Pages
1	Structure, propriétés et dénomination des quatre homologues de tocophérol	25
2	Structure, propriétés et dénomination des quatre homologues de tocotriénols	25
3	Principales classes de composés phénoliques	29
4	Les principales affections liées au stress oxydatif	37
5	Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques	39
6	Données géographiques des trois régions	47
7	Caractéristiques des fruits du pistachier de l'Atlas étudiés	48
8	composition des échantillons regroupés	55
9	Pourcentage des graines mures, immatures et intermédiaires estimé approximativement sur la base des fruits triés	58
10	Couleur et la teneur d'huile des fruits de pistachier de l'Atlas	60
11	Teneurs en tocophérols totaux pour les extraits lipidiques des fruits de maturité différente	64
12	Teneurs en tocophérols totaux pour les échantillons mélanges	65
13	Valeurs de l'EC ₅₀ calculé pour les différents extraits lipidiques des fruits de maturité différente lors du test DPPH.	69
14	Valeurs de l'EC ₅₀ calculé pour les échantillons mélanges lors du test DPPH.	70
15	Résultats du test Molybdate Phosphate pour quelques échantillons représentatifs	72
16	Résultats du test Molybdate Phosphate pour les échantillons mélanges	73
17	Comparaison entre les teneurs en tocophérols, les pouvoirs d'inhibitions et les pouvoirs réducteurs, avant et après extraction des polyphénols.	76
18	Masses, rendement, concentrations des extraits phénoliques bruts des huiles des fruits de pistachier de l'Atlas	81
19	Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes contenues dans les extraits phénoliques bruts	84
20	Pouvoir antioxydant d'extrait phénolique brut évalué par les deux tests (DPPH et Molybdate)	87

Liste des figures

Numéro	Titre des figures	Pages
1	Photographie illustrant l'arbre du Pistachier de l'Atlas (Photo originale)	3
2	Classification des lipides	7
3	Structure des prostaglandines et leukotriènes	11
4	Structures de di- et tri-acylglycérols	12
5	Lipides végétaux de chloroplaste	13
6	Structure de sphingolipide	13
7	Structure de Sphingomyéline	14
8	Structures des Glycolipides neutres simples	15
9	Structure de Glycolipide neutre complexe	15
10	Structure de base d'un gangliosides	15
11	Structure de ganglioside monosialylé	16
12	Structure du palmitate de cétyle	16
13	Biosynthèse des lipides	17
14	Voie de biosynthèse des isoprénoïdes	18
15	Structure de base des stéroïdes	19
16	Différents structures de stérols	19
17	Principaux acides biliaires	20
18	Différents hormones stéroïdes	21
19	Vitamine D ₂ ou ergocalciférol	21
20	Structure de brassinolide	21
21	Dérivé de l'hopane : bactério-hopane-tétrol	22
22	β-carotène, dérivé de l'isoprène	23
23	Structures des carotènes et de la vitamine A	23
24	Structure chimique de base des tocophérols et tocotrinéols	24
25	Structures des quelques quinones naturelle	25
26	Structure de la vitamine K ₁	26
27	Structure de base des flavonoïdes	30
28	Structures chimiques des principales classes de flavonoïdes naturels et de composés phénoliques non-flavonoïdes	31
29	Effets du stress oxydatif	34
30	Résumé de l'équilibre entre la production de dérivés actif de l'oxygène DAO et les systèmes antioxydants	36
31	Sources des espèces oxygénées réactives	38
32	Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde	39
33	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants	41
34	Piégeage des EOR par les flavonoïdes	45
35	Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.	45
36	Réseau des antioxydants	46
37	Organigramme de la méthodologie d'étude	51
38	Deux formes, un antioxydant et un radical libre	53
39	Variation du rendement d'extraction des huiles à partir des fruits du Pistachier de l'Atlas selon un degré de maturité croissant	62

40	Variation du rendement d'extraction pour les 8 échantillons mélanges issues des différents arbres C, G et E. Classés selon plusieurs cueillettes	63
41	Courbe d'étalonnage de la vitamine E	64
42	Comparaison entre les teneurs en lipide et en tocophérols totaux selon différents degré de maturation	66
43	Graphe représentant l'activité antioxydant de la vitamine E par le test du DPPH	67
44	Graphe représentant l'activité anti oxydante des extraits lipidique des fruits, de maturité différente, cueillies du même arbre C, par le test du DPPH	68
45	Graphe représentant l'activité anti oxydante des extraits lipidique des fruits, de maturité différente, cueillies du même arbre G, par le test du DPPH	68
46	Graphe représentant l'activité anti oxydante des extraits lipidiques des fruits, des mélanges, cueillis du même arbre E, par le test du DPPH	69
47	Corrélation entre les valeurs du pouvoir d'inhibition (exprimé en EC50) et les teneurs en tocophérols totaux d'extraits lipidiques exceptés des mélanges	71
48	Corrélation entre les valeurs du pouvoir d'inhibition (exprimé en EC50) et les teneurs en tocophérols totaux d'extraits mélanges.	71
49	Graphe représentant l'activité antioxydant de la vitamine E par le test du molybdate phosphate	72
50	Corrélation entre teneur en tocophérols totaux et le pouvoir réducteur, exprimé en capacité équivalente en Vitamine E (mg/g), d'extraits lipidiques exceptés des mélanges	74
51	Corrélation entre teneur en tocophérols totaux et le pouvoir réducteur, exprimé en capacité équivalente en Vitamine E (mg/g), d'extraits des mélanges	75
52	Graphe représentant l'activité anti oxydante des 5 échantillons d'huiles regroupées, par le test du DPPH, avant l'extraction des polyphénols	77
53	Graphe représentant l'activité anti oxydante des 5 échantillons d'huiles regroupées, par le test du DPPH, après l'extraction des polyphénols.	77
54	Corrélation entre le pouvoir d'inhibition (EC ₅₀) des lipides et la teneur en tocophérols totaux, avant l'extraction des polyphénols	78
55	Corrélation entre le pouvoir d'inhibition (EC ₅₀) des lipides et la teneur en tocophérols totaux, après l'extraction des polyphénols	78
56	Corrélation entre la capacité équivalente des lipides et la teneur en tocophérols totaux, après l'extraction des polyphénols	79
57	Corrélation entre la capacité équivalente des lipides et la teneur en tocophérols totaux, après l'extraction des polyphénols	79
58	Variation du teneur en extrait phénoliques brut à partir des huiles des fruits du Pistachier de l'Atlas	82
59	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	83
60	Courbe d'étalonnage de la rutine	83
61	Comparaison de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des fruits de Pistachier de l'Atlas.	85
62	Graphe représentant le pourcentage d'inhibition % des cinq extraits phénoliques bruts en fonction de concentration par le Test DPPH	85

63	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vitamine C) faite par les deux tests DPPH (à gauche) et Molybdate (à droite).	86
64	Régressions entre le pouvoir d'inhibition (EC50) d'extraits phénoliques bruts (Immatures, Matures) en mg/ml et la teneur en phénols totaux, et flavonoïdes	87
65	Régressions entre capacité équivalente d'extraits phénoliques bruts (Immatures, Matures) en mg de la vitamine C/g d'extrait phénolique brut et la teneur en phénols totaux, et flavonoïdes	87

Abréviation	Signification
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFNOR	Association Française de normalisation
Abs	Absorbance
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
Ac.	Acide
ATP	Adénosine Tri Phosphate
BHA	Butyl Hydroxy Anisole
BHT	Butyl Hydroxy Toluène
C	Carbone
CP	Composé phénolique
Cer	Céramide
Cu²⁺	Ion cuivrique
C₁₆ : 0	Acide palmitique
C₁₈ : 2	Acide linoléique
C₂₀ : 4	Acide arachidonique
C₂₂ : 6	Acide docosahexaénoïque
DAO	Dérivé Actif de l'Oxygène
DHA	Acide docosahexaénoïque
DGTH	Diacyl-Glycéril-Triméthyl-Homosérine
DGHTA	Diacyl-Glycéril-Hydroxyméthyl-Triméthyl-β-Alanine
DPPH	2, 2-diphényl-1- picrylhydrazyl
EOR	Espèce Oxygénée Réactive
EC	Efficient Concentration
EPA	Acide Eicosa Pentaénoïque
FRO	Forme active de l'oxygène
Fe²⁺	Fer ferreux
Fl	Flavonoïde
GSH	Glutathion sous forme réduite
(GS[•])	Radical thyl
GPX	Glutathion peroxydases
GM	Mono-sialogangliosides
GD	Di-sialogangliosides
GT	Tri-sialogangliosides
GQ	Tétra-sialogangliosides
GP	Penta-sialogangliosides
g	Gramme
H	Hydrogène
HPGPx	Hydroperoxyde-glutathion peroxydase
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
I	Unité isoprène
I%	Pourcentage d'inhibition

Kg	Kilogramme
LTB4	leucotriène B tétraénoïque
MDA	Malondialdéhyde
Mn	Manganèse
Mo	Molybdène
mg	Milligramme
ml	Millilitre
N	Azote
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
O₂^{•-}	Anion superoxyde
O	Oxygène
•OH	Radical hydroxyle
ONOOH	Nitroperoxyde
PK	Point kilométrique
PM	Molybdates phosphate
P	Phosphore
PGE2	Prostaglandine E
ROO•	Radical peroxyde
RO•	Radical alkoxyde
SOD	Superoxyde dismutase
S	Soufre
TBARS	Acide thiobarbiturique
4-HNE	4-hydroxynonenal
Δ, ω	Signes de la double liaison

De nombreuses recherches ont mis en évidence le rôle des phénomènes oxydatifs dans l'initiation de maladies aussi différentes que l'artériosclérose, les problèmes inflammatoires, cardiaques, pulmonaires, les cancers ainsi que le processus de vieillissement. De telles maladies apparaissent lorsque les mécanismes de défense contre les radicaux libres, dont dispose l'organisme, sont submergés. Il est donc nécessaire, à ce moment-là, d'aider le corps à lutter contre ces agressions par un apport exogène d'antioxydants. Une des sources majeures de ces substances est constituée par les plantes (Pincemail *et al.*, 1998).

L'Algérie dispose d'un ensemble d'espèces végétales naturelles et cultivées à gamme importante et variée. Cette richesse naturelle reste insuffisamment connue. Une bonne partie des ressources végétales à intérêt économique, social et sanitaire n'est pas connue du grand public.

Le Pistachier de l'Atlas est l'une des plantes médicinales les plus utilisées au niveau locale. Les extraits des fruits de cette plante sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques (Benabderrahmane *et al.*, 2009). En outre, cet arbre recèle d'autres vertus en raison de la composition des huiles de ses fruits (Yousfi *et al.*, 2003 ; Benhssaini *et al.*, 2004), de sa composition en flavonoïdes (Peksel *et al.*, 2013), de l'activité anti oxydantes de ses huiles essentielles (Gourine *et al.*, 2010) et en raison de l'activité anti oxydantes des huiles de ses graines (Yousfi *et al.*, 2003; Bellakhdar et Bentrirèche, 2013).

Dans la littérature, Très peu de travaux sont rapportés quant à la variation de l'activité anti oxydante des huiles des fruits du Pistachier de l'Atlas en fonction de leur degré de maturité. Bellakhdar et Bentrirèche en 2013 avaient mis en évidence une activité assez marquée au niveau des huiles des fruits immatures (Bellakhdar et Bentrirèche, 2013).

Le présent travail se veut une continuité logique de ce qui a été entrepris en 2013 par Bellakhdar et Bentrirèche. Ainsi, nous nous sommes proposés d'étudier la variation de l'activité anti oxydante des huiles, à partir de plusieurs arbres, selon le degré de maturation des fruits. Nous avons également recherché, dans l'huile, la présence d'éventuels composés phénoliques ainsi que leurs activités. Pour notre connaissance, c'est la première fois que ce paramètre est examiné selon l'évolution de la maturation.

La présente étude vise:

- La quantification des tocophérols totaux au niveau des huiles issues de plusieurs graines de couleur et de degrés de maturation différent.

- L'évaluation du pouvoir antioxydant des mêmes huiles par deux tests de référence, DPPH et Molybdate phosphate.
- La recherche d'éventuels composés phénoliques ainsi que leur activité dans l'huile.

I.1.Présentation du *Pistacia atlantica* Desf

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.), en arbre local : elbetoum, botma, betouma ou btouma et en berbère Igth (Monjauze, 1980).

Le nom commun de cette espèce se rapporte aux montagnes d'atlas ou cette espèce se développe. Cet arbre est également connu comme le pistachier sauvage, faux pistachier.

Les fruits sont appelés Elkhodiri par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur verte foncée à maturité, ils sont globuleux, renfermant une graine verte (Baba aissa, 2000).

Le genre *Pistacia* est représenté en Algérie par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica*.

Le pistachier vrai (*Pistacia vera*) et le pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica*) ou *bétoum* sont caractérisés du point de vue écologique par une grande tolérance aux variations climatiques, ils peuvent croître sous des tranches pluviométriques assez faibles et s'accommodent de tous les sols.

On extrait de leurs graines une excellente huile alimentaire. Si pour le pistachier vrai, les caractéristiques physiques et biochimiques sont connues, ce n'est pas le cas pour le pistachier de l'atlas. En effet les résultats d'analyses montrent que les graines de *bétoum* sont très riches en lipides avec une grande teneur en acides gras mono-insaturés et en phytostérols, teneurs comparables à celle de l'huile d'olive, qu'on commence à peine à entrevoir ses vertus thérapeutiques et nutritionnelles envers certaines pathologies (Ghalem et Benhssaini, 2007).



Figure 1 : Photographie illustrant l'arbre du Pistachier de l'Atlas (Photo originale, 2009).

I.2. Classification taxinomique

Le pistachier de l'atlas peut être classé en quatre sous-espèces, à savoir *mutica*, *cabulica*, *kurdica* et *atlantica* ; cette dernière est présente en Afrique du Nord (Benhssaini et Belkhodja, 2004).

Ces mêmes sous-espèces présentent une même formule chromosomique de $2n= 28$ (Ghaffari *et al.*, 2003).

Pistacia atlantica Desf. est classé taxonomiquement de la façon suivante (Harfouche, 2005):

Régne : Végétal

Sous-régne : Viridaeplantae

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiacees

Genre : *Pistacia*

Espèce : *atlantica* Desf.

I.3. Caractéristiques anatomiques et botaniques du *Pistacia atlantica* Desf

Pistacia atlantica Desf. Est un arbre à feuilles caduques et à tronc bien individualisé qui peut atteindre jusqu'à 18 m de hauteur (Benhssaini et Belkhodja, 2004).

Les grands sujets peuvent atteindre facilement les 1 000 ans.

L'écorce produit une résine mastic qui peut être distillée mais exsude naturellement par temps chaud (Benabderrahmane *et al.*, 2009).

De par sa dioïcie et ses fleurs nues, *Pistacia atlantica* constitue une espèce particulière des Anacardiacees (Gaussen *et al.*, 1982).

Mais quelques pieds, exceptionnellement monoïques, ont été rencontrés dans les montagnes de Yunt de la Province de Mania en Turquie (Kafkas *et al.*, 2001).

Cet arbre a une écologie difficile à cerner ; il est d'une grande plasticité, lui permettant d'exister depuis les marges du Sahara jusqu'aux moyennes montagnes subhumides (Benabid et Fennane, 1994).

Cette espèce forestière, dite de resquillage, s'accommode à tous les sols, excepté du sable. Elle se contente d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150 mm et parfois moins (Benhssaini et Belkhodja, 2004).

I.4.Répartition géographique

Le genre *Pistacia*, appartenant à la famille des Anacardiacees, comprend de nombreuses espèces très répandues dans la Méditerranée et le Moyen-Orient. (Kaska *et al.*, 1996) .

En Algérie :

Plusieurs espèces endémiques de *Pistacia* colonisent le territoire algérien (*Pistacia lentiscus*, *Pistacia therebintus* et *Pistacia atlantica*). Ils se rencontrent dans la plupart des zones semi-arides ou steppiques, solitaire ou en association avec *Ziziphus lotus* Jujubier (*cedra* en arabe local) et *Pinus halepensis* (Benabderrahmane *et al.*, 2009).

Existant dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussera, Messaad), Laghouat (partie sud) et Ghardaia (dans l'oued m'zab) (Monjauze, 1980).

Le pistachier de l'Atlas se régénère et pousse toujours à l'intérieur du *Ziziphus lotus* qui constituerait une bonne protection aux jeunes pousses contre les vents et le pâturage. En plus de cela, le sol où les feuilles du *Ziziphus lotus* tombent deviendrait acide et faciliterait la germination des graines (Belhadj, 2001).

I.5.Rôles et usages de l'arbre

Cet arbre peut présenter plusieurs utilisations :

I.5.1.Utilisations locales

Les fruits de cet arbre (*El Khodiri*) sont drupes comestibles. Ils sont riches en huile dense très énergétique, l'huile est souvent mélangée aux dattes écrasées et peut être consommée à toute heure de la journée avec du petit lait. L'huile a un goût très proche de celui du beurre, elle est très appréciée dans la région.

Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes (Belhadj, 2003).

La résine mastic du Pistachier est utilisée comme un chewing-gum, dont les populations locales faisaient autrefois quelque usage et dont la pharmacie s'est longtemps servie pour la fabrication d'onguents comme masticatoire contre les infections stomacales et comme antiseptique pour voies respiratoires (Benabderrahmane *et al.*, 2009).

L'arbre fournit un bois d'artisanat de toutes les espèces du pistachier constituent un apport en fourrage considérable pour l'alimentation du bétail surtout en automne.

Cette essence peut entrer dans le cadre de la lutte contre la désertification utilisée pour la fixation des dunes, comme brise vents (Belhadj, 2003).

I.5.2. Autres utilisations

Les espèces du genre *Pistacia* sont largement utilisées dans les industries agroalimentaires.

La résine du Pistachier est utilisée dans la production de colle, dans la restauration des œuvres d'art en verre, en porcelaine, en bois et en métal. Elle est aussi utilisée dans les préparations de certains produits cosmétiques et en parfumerie, comme ingrédient en odontologie conservatrice.

Les fruits de cette plante sont aussi utilisées dans le traitement de l'eczéma, la paralysie, les diarrhées, les infections de la gorge, les calculs rénaux et l'asthme. C'est ainsi qu'on les considère comme agent astringent, antiinflammatoire, antipyrétique, antibactérien et antiviral (Benabderrahmane *et al.*, 2009).

II.1.Lipides : vue d'ensemble

Un lipide (du grecque lipos : gras) se définit comme un composé de poids moléculaire faible ou intermédiaire (<5000 Da) avec une proportion importante de chaînes hydrocarbonées dans sa structure (Van Meer, 1998).

Les lipides forment un vaste groupe de substances d'origine biologique qui se dissolvent aisément dans les solvants organiques comme l'acétone, le méthanol, le chloroforme et le benzène mais sont peu ou pas solubles dans l'eau à cause de l'absence d'atomes polarisants comme O, N, S, P (Koolman et Rohm, 2006).

II.2.Classification des lipides

Les lipides ont des structures et des fonctions très diverses ; chez les êtres vivants, certains sont abondants, d'autres sont présents en faible quantité. On classe les lipides en fonction de leur nature chimique et du rôle qu'ils tiennent dans la structure et le fonctionnement des organismes (Weinman et Mehul, 2013).

Ils sont difficilement classables (Demay ,2011). On peut les classer selon leur structure chimique, leur rôle, leur charge comme ci-dessous :

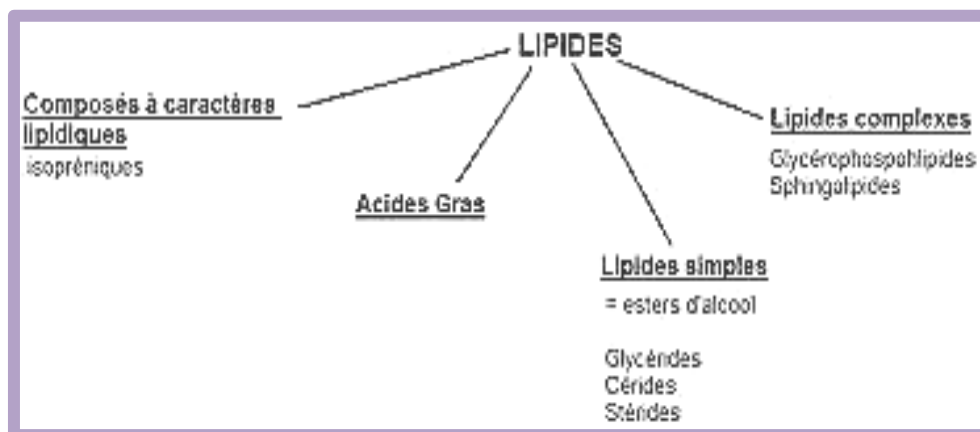


Figure 2 : Classification des lipides (Demay ,2011).

❖ Les lipides simples

Les lipides simples encore appelés homolipides sont des corps ternaires (C, H, O). Ils sont des esters d'acides gras que l'on classe en fonction de l'alcool :

-Acyglycérols (ou glycérides) sont des esters du glycérol.

-Cérides sont des esters d'alcool à longues chaînes (alcool gras).

-Stérides sont des esters de stérols (alcool polycyclique) (Voet et Voet, 1998).

❖ Les lipides complexes

Ces hétérolipides contiennent des phosphates, sulfates ou glucides. Ils sont classés par rapport à la molécule qui fixe les acides gras:

* Soit le glycérol qui se distingue des acyglycérols par l'hétérogroupe et qui sont subdiviser en:

-glycérophospholipides

-glyceroglycolipides.

* Soit une base sphingoides (dialcool aminé) qui définit les sphingolipides (Voet et Voet, 1998).

Autre classification des lipides selon leur structure chimique (Weil, 2009):

II.2.1.Acides gras

Définition

On les trouve en petites quantités à l'état libre, mais en grandes quantités engagés dans des liaisons ester ou amide. En règle générale, ces acides sont monocarboxyliques, à chaîne linéaire non ramifiée comprenant un nombre pair d'atomes de carbone (entre 4 et 40) (Morin, 2005).

Classification

Ils peuvent être saturés ou insaturés, et parfois hydroxylés ou ramifiés.

II.2.1.1.Acides gras saturés

Ont pour formule générale : $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$. Les plus fréquemment rencontrés sont : l'acide palmitique et l'acide stéarique (Hunter, 1986).

II.2.1.2.Acides gras désaturés (insaturés)

La numérotation des acides gras se fait à partir du carboxyle terminal (carbone 1) vers le groupe CH_3 (carbone n). La double liaison est indiquée par le signe Δ , accompagné du chiffre correspondant au premier atome de carbone participant à la double liaison. On utilise de plus en plus le signe « : » suivi du nombre de doubles liaisons, la place de celle-ci étant indiquée

entre parenthèses.

Il existe aussi une nomenclature biochimique. Le carbone 1 est dans ce cas le méthyl terminal. La place de la dernière double liaison est indiquée par le sigle ω suivi du nombre d'atomes du carbone existant jusqu'à cette double liaison.

Les principaux acides gras désaturés sont :

II.2.1.2.1. Acides gras monodésaturés (Une double liaison)

Acide oléique (C_{18}), double liaison entre les C_9 et C_{10} , on abrège : (C_{18}, Δ^9 , ou: 18 : 1 (9), ou 18 ω 9).



II.2.1.2.2. Acides gras polydésaturés (plusieurs doubles liaisons)

Les plus courants ont les doubles liaisons non conjuguées séparées par un groupe méthylène. Les végétaux peuvent cependant renfermer des acides gras à doubles liaisons conjuguées comme :

Acide linoléique ($C_{18}, \Delta^{9,12}$, ou 18 : 2 (9,12), ou 18 : 2 ω 6).



Acide linoléique ($C_{18}, \Delta^{9,12,15}$ ou 18 : 3 (9, 12, 15), ou 18 : 3 ω 3).



Acide arachidonique ($C_{20}, \Delta^{5,8,11,14}$),

Acide docosahexaénoïque ($C_{22}, \Delta^{4,7,10,13,16,19}$).

Depuis quelques années on souligne l'importance de l'apport des acides gras désaturés indispensables oméga-6 (ω -6) et oméga-3 (ω -3) dans l'alimentation humaine, notamment pour la prévention des maladies cardio-vasculaires.

Pour les acides gras ω -6, l'acide linoléique (C_{18}) est le précurseur de l'acide arachidonique (C_{20}), tandis que pour les ω -3, l'acide linoléique (C_{18}) est le précurseur (présent dans certaines huiles végétales, telles que les huiles de colza ou de lin) de l'acide eicosapentaénoïque ou EPA (C_{20}) et de l'acide docosahexaénoïque ou DHA (C_{22}) présents dans les huiles de poisson.

Si, chez les Mammifères, les acides gras polyinsaturés peuvent avoir jusqu'à 22 carbones et 6 doubles liaisons, dans le règne végétal, ces acides dépassent pas 18 carbones et 4 doubles liaisons (Weil, 2009).

II.2.1.5. Acides gras à très longue chaîne

Ce type d'acide gras a été mis en évidence dans tout le règne vivant (bactéries, végétaux, animaux). Il comprend des acides gras ayant de 25 à 40 atomes de carbone. Ces acides, suivant les espèces ou les tissus, peuvent être saturés, monodésaturés ou polydésaturés. Ils ont un nombre pair ou impair d'atomes de carbone.

Ils sont soit linéaires, soit ramifiés. Certains sont hydroxylés. Les cellules de l'épiderme des Mammifères renferment des acides ω hydroxylés qui ont un rôle dans la structure de ce tissu. Ils participent à l'élaboration d'une barrière hydrophobe (Petit *et al.*, 2007).

II.2.1.6. Eicosanoïdes, peroxydes

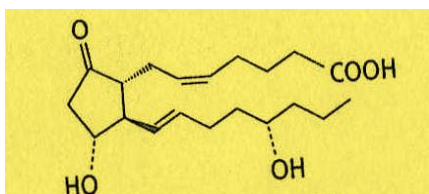
Les eicosanoïdes forment un groupe de lipides dérivant de l'acide arachidonique (oméga 6), un acide gras polydésaturé à 20 carbones.

Les prostaglandines dérivent de l'acide arachidonique sous l'action de la cyclooxygénase.

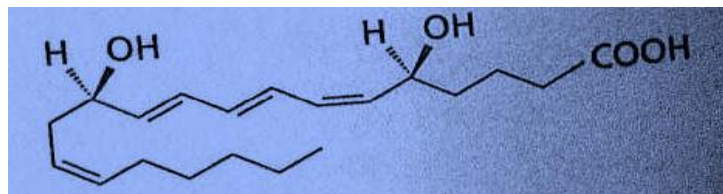
Ils sont considérés comme composés ubiquitaires des tissus de tous les mammifères. Ils assurent divers rôles de régulation physiologique. Ils assurent un contrôle de la pression sanguine. Ils interviennent également au niveau des systèmes inflammatoires.

Un groupe de structure voisine des prostaglandines est représenté par les thromboxanes. Ils sont présents dans les plaquettes sanguines. Ce sont des inhibiteurs de l'action de certaines prostaglandines. Ils régulent le taux d'AMPC qu'il augmente dans la thyroïde, le poumon, l'hypophyse et qu'il diminue dans les tubules rénaux et les tissus adipeux.

Un troisième groupe d'eicoisanoïdes est constitué par les leukotriènes qui dérivent de l'acide arachidonique sous l'action de la lipooxygénase. Si la synthèse des prostaglandines et thromboxanes nécessite une cyclisation de la chaîne lipidique, la chaîne lipidique linéaire est conservée lors de la synthèse des leukotriènes. Par contre, l'intervention de peroxydes est requise pour la synthèse des 3 groupes d'eicosanoïdes. (Weil, 2009)



Prostaglandine PGE₂



Leukotriène B₄ (LTB₄)

Figure 3 : Structure des prostaglandines et leukotriènes (Weil, 2009).

II.2.2. Glycérolipides

II.2.2.1. Glycérides (acyl-glycérols)

Ce sont les composés obtenus par estérification des fonctions alcool du glycérol par des acides gras. On distingue des mono-, des di- et des tri-acylglycérols (ou mono, di et triglycérides, ancienne nomenclature conservée en nutrition et en pathologie). En outre, les acyl-glycérols pourront différer par la nature et la position des acides gras estérifiés. Pour indiquer la position, on désigne les atomes de carbone du glycérol par 1,2 et 3. Ainsi, le composé A de la figure suivante est le 1-palmitoyl 2-oléyl glycérol, le composé B est le 1-palmitoyl 2-oléyl-3-stéaroyl glycérol.

Lorsque les acides gras estérifiés en position 1 et 3 sont différents (comme dans le composé B), un centre d'asymétrie apparaît au niveau du carbone 2 et on peut donc avoir les isomères I et II représentés sur la figure 4. La plupart des glycérolipides naturels sont du type II (Cuvelier *et al.*, 2004).

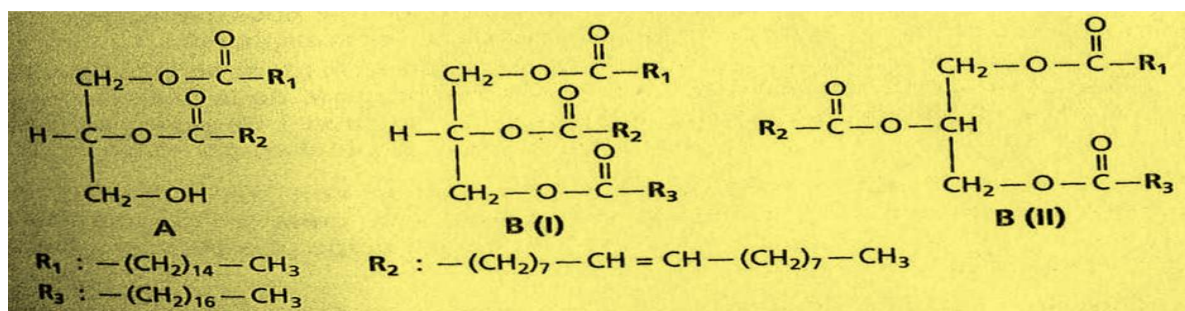


Figure 4 : Structures de di- et tri-acylglycérols (Cuvelier *et al.*, 2004).

II.2.2.2. Glycérophospholipides (phosphatides, phospholipides)

Ce sont les représentants les plus nombreux de la grande famille des phospholipides.

On les trouve en concentrations importantes dans les membranes cellulaires et subcellulaires de tous les organismes vivants. Seuls, les virus dits «non enveloppés» (virus qui n'incorporent pas dans leur structure des éléments membranaires de la cellule hôte) en sont dépourvus. Certains phosphatides sont de bons agents émulsifiants (lysophosphatides, lécithines) (Weil, 2009).

II.2.2.3. Bétaïne lipides

Deux lipides, le diacyl-glycéril-triméthyl-homosérine (DGTH) et le diacylgly-céryl-hydroxyméthyl-triméthyl-β-alanine (DGHTA), sont des constituants importants des chloroplastes des végétaux cryptogames (algues, mousses, sphaignes...). Ils auraient le rôle de la phosphatidyl-choline, souvent absente de ces structures (Eichenberger, 1993).

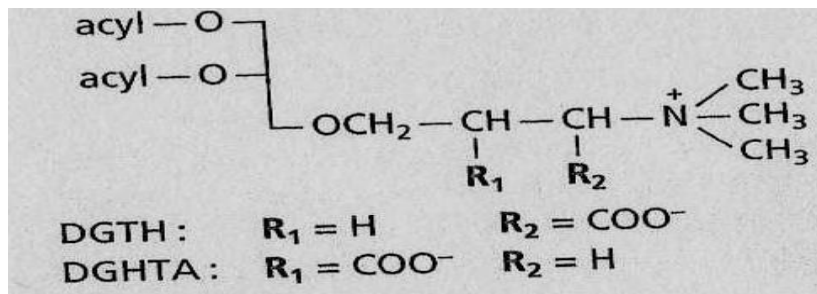


Figure 5 : Lipides végétaux de chloroplaste (Eichenberger, 1993).

II.2.3. Sphingolipides

Définition

L'alcool n'est plus ici le glycérol, mais un amino-alcool à longue chaîne. Le composé le plus fréquent est la sphingosine (Figure 6) qui a 18 atomes de carbone et une double liaison en 4-5 (la numérotation se fait à partir de l'alcool primaire).

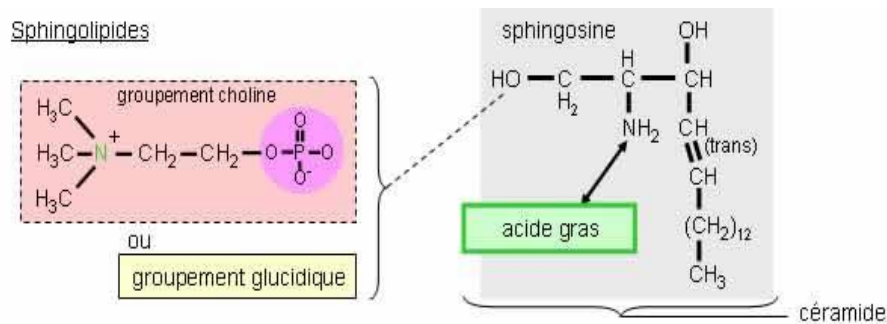


Figure 6 : Structure de sphingolipide (Coutouly *et al.*, 2006).

La sphingosine est liée à un acide gras par sa fonction aminé formant un céramide. La liaison est donc une fonction amide, et non une fonction ester comme dans les glycérides, les stérides ou les phosphatides. Les céramides ont été trouvés en petites quantités à l'état libre dans de nombreuses cellules eucaryotes et procaryotes (Coutouly *et al.*, 2006).

Classification

On classe les sphingolipides en deux catégories :

II.2.3.1.Sphingomyélines

Le céramide est lié par sa fonction alcool primaire (carbone 1) à une phosphoryl-choline (Figure 7). Les sphingomyélines ont été trouvées dans la plupart des organes. Elles sont présentes, comme les phosphatides, dans les membranes cellulaires et plus particulièrement dans la membrane plasmique. Chez les Mammifères, existe un analogue de la sphingomyéline dans laquelle la phosphoryl-choline est remplacée par une phosphoryl-éthanolamine (Coutouly *et al.*, 2006).

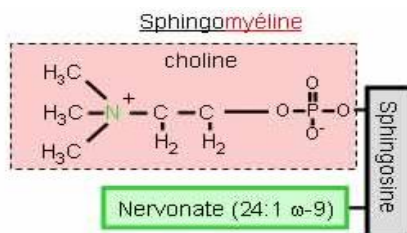


Figure 7 : Structure de Sphingomyéline (Coutouly *et al.*, 2006).

II.2.3.2.Sphingoglycolipides

Ce sont des lipides caractérisés par la présence dans leur molécule d'un ou plusieurs oses liés au carbone 1 d'un céramide. L'ose est toujours fixé sur le céramide par sa fonction réductrice.

Ils sont subdivisés en 3 sous classes :

II.2.3.2.1.Glycolipides neutres simples ou Galactolipides

Dans le cas des galactolipides, l'ose fixé sur le céramide est un galactose donnant les cérébrosides (galactosylcéramide) Cer (β 1-1) Gal (Figure 8 à gauche). Le galactose peut être estérifié par une molécule d'acide sulfurique. On parle alors de sulfatides (Figure 8 à droite). Cérébrosides et sulfatides sont, chez les Mammifères, essentiellement localisés dans le tissu rénal et le tissu nerveux (gaines de myéline). En dehors des Vertébrés, on les trouve rarement (Koolman et Rohm, 2006).

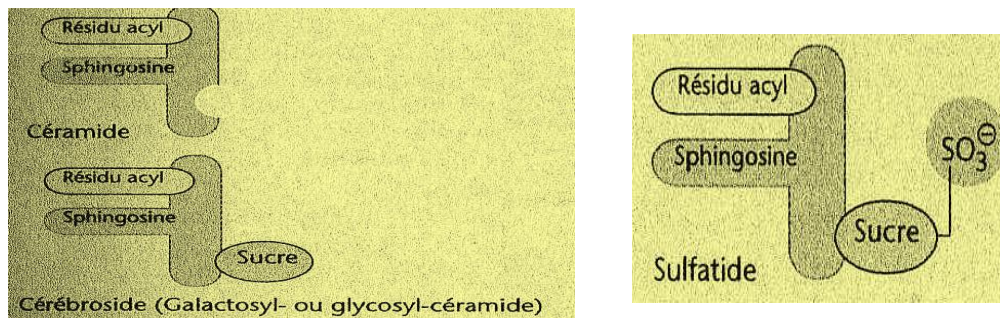
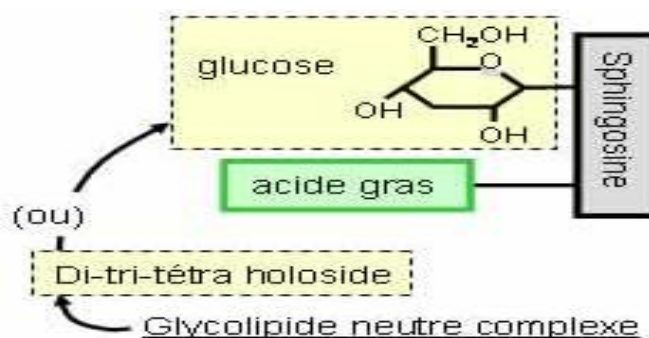


Figure 8 : Structures des Glycolipides neutres simples (Koolman et Rohm, 2006).

II.2.3.2.2. Glycolipides neutres complexes

Sur le céramide sont fixés un ou plusieurs sucres (jusqu'à une dizaine). Chez les Vertébrés, le premier sucre est le glucose. On parle alors de glucosyl-céramides. Il existe une très grande variété de structures dans lesquelles les oses les plus fréquemment trouvés sont, outre le glucose, le galactose, le mannose, le fucose, la glucosamine et la galactosamine (Figure 9). Les glycolipides neutres, en particulier les glucocérobrosides, sont présents dans pratiquement tous les organismes depuis les Procaryotes jusqu'aux Mammifères où ils peuvent former jusqu'à 20% des lipides (Coutouly *et al.*, 2006).

Figure 9 : Structure de Glycolipide neutre complexe (Coutouly *et al.*, 2006).

II.2.3.2.3. Glycolipides acides ou Gangliosides

Leur structure est celle d'un (céramide-glucose-galactose) sur lequel sont fixées une ou plusieurs molécules de galactose, N-acétylgalactosamine, N-acétylglucosamine ou fucose (voir Figure 10) (Weil, 2009).

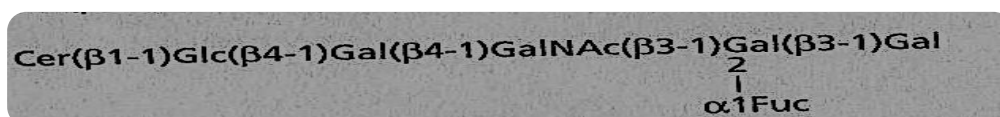


Figure 10 : Structure de base d'un gangliosides (Weil, 2009).

Le sucre le plus caractéristique des gangliosides est cependant l'acide neuraminique (ou acide sialique) sous forme N-acétylée ou N-glycolylée. Suivant le nombre d'acide neuraminique par molécule, on groupe les gangliosides en :

- Mono-sialogangliosides (GM3 , GM2, GM1)
- Di-sialogangliosides (GD3, GD2, GDI)
- Tri-sialogangliosides (GT3, GT2, GT1)
- Tétra-sialogangliosides (GQ1)
- Penta-sialogangliosides (GP1)

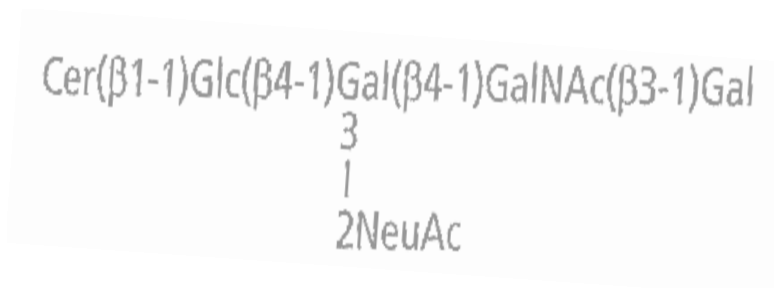


Figure 11 : Structure de ganglioside monosialylé (GM1) (Weil, 2009).

Les Mono et Di-sialogangliosides sont ceux trouvés dans les cellules peu différenciées et les cellules tumorales des Mammifères. Chez ces derniers, seuls quelques tissus (intestin, cerveau) contiennent de fortes concentrations de gangliosides.

Les cellules neuronales sont tout particulièrement riches en gangliosides Polysialilés (Bata *et al.*, 1978).

II.2.4.Cérides

Ce sont les constituants des cires (cires végétales, cuticules des Insectes, blanc de baleine, etc.). Ce sont des esters ayant jusqu'à 50 carbones formés par l'union d'acides gras et d'alcools à longue chaîne. Exemple : le palmitate de cétyle (Figure 12) (Weil, 2009).

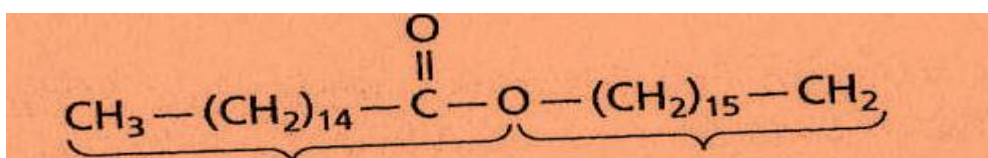


Figure 12 : Structure du palmitate de cétyle (Weil, 2009).

II.2.5.Lipides polyisopréniques

II.2.5.1.Polyisopréniques

II.2.5.1.1.L'acide acétique activé

Un élément de base dans la synthèse des lipides.

Bien que les lipides présents dans les organismes animaux ou végétaux puissent présenter des formes très différentes, ils ont cependant en commun une même voie de biosynthèse : tous les lipides proviennent de l'acétyl-CoA, « l'acide acétique activé ».

1. Une voie majeure conduit de l'acétyl-CoA aux acides gras activés. A partir de là se forment ensuite les graisses, les phospholipides et les glycolipides (Figure 13), ainsi que certains dérivés particuliers des acides gras. Chez les animaux et dans la plupart des plantes cette voie est dominante sur le plan quantitatif.

2. La deuxième voie conduit de l'acétyl-CoA à l'isopentényl-diphosphate, « l'isoprène activé » (Figure 13), qui est l'élément constitutif de base des isoprénoïdes. Sa biosynthèse sera présentée avec celle du cholestérol (Koolman et Rohm, 2006).

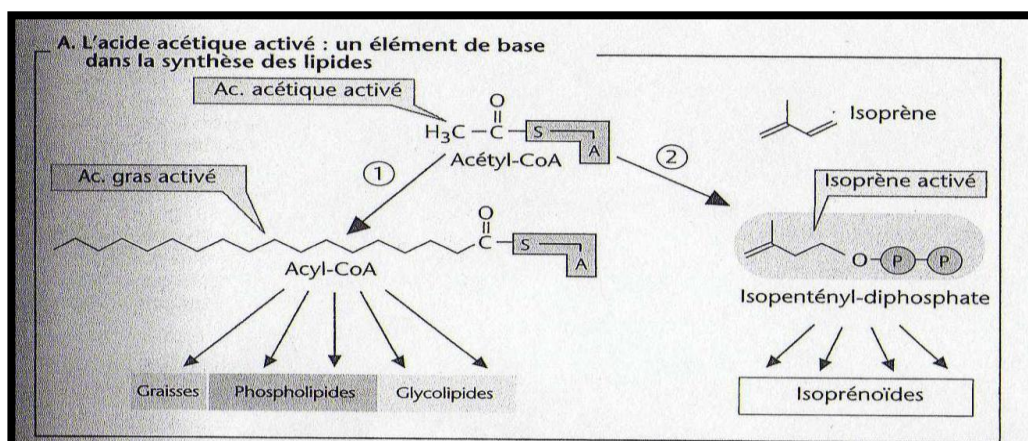


Figure 13 : Biosynthèse des lipides (Koolman et Rohm, 2006).

II.2.5.1.2.Isoprénoïdes

Les isoprénoïdes dérivent d'un élément de base commun, l'isoprène (2-méthyl-1,3-butadiène), un composé méthylé et ramifié à cinq atomes de carbones. L'isopentényl-diphosphate, « l'isoprène activé », sera utilisé par les animaux et les végétaux pour la synthèse d'oligomères et de polymères linéaires ou cycliques. Pour les quelques isoprénoïdes présentés ci-contre, on a donné de façon systématique le nombre d'unités isoprène (I) (Figure 14).

A partir de l'isoprène activé, la voie métabolique conduit par dimérisation au géraniol activé (1 = 2) puis au farnésol activé (I = 3). C'est à ce niveau que la biosynthèse des isoprénoïdes se

ramifie. Une élongation supplémentaire du farnésol conduit à des chaînes ayant un nombre croissant d'unités isoprène, au phytol (I = 4), au dolichol (I = 14 - 24) et finalement également au caoutchouc (I = 700 - 5000). Au contraire, une association «tête à tête» du farnésol conduit au squalène (I = 6) puis de là par cyclisation au cholestérol (I = 6) et ensuite aux autres stéroïdes.

Chez les végétaux, le métabolisme des isoprènes est très divers et conduit à de nombreuses substances odorantes ou à des huiles essentielles.

Parmi ces composés on peut citer le menthol (I = 2), le camphre (I = 2) et le citronellol (I = 2).

Ces composés en C₁₀ seront également appelés monoterpènes.

Les isoprénoïdes avec une fonction d'hormone ou de signal constituent un groupe important : à ce groupe appartiennent les hormones stéroïdes (I = 6) et les rétinoates (anions de l'acide rétinoïque ; I = 3) chez les vertébrés, ainsi que les hormones juvéniles (I = 3) chez les arthropodes. Les hormones végétales peuvent également présenter une structure isoprénoïde, comme par exemple les cytokinines, l'acide abscissique ou les brassinostéroïdes (Bradley et Calvert, 2009).

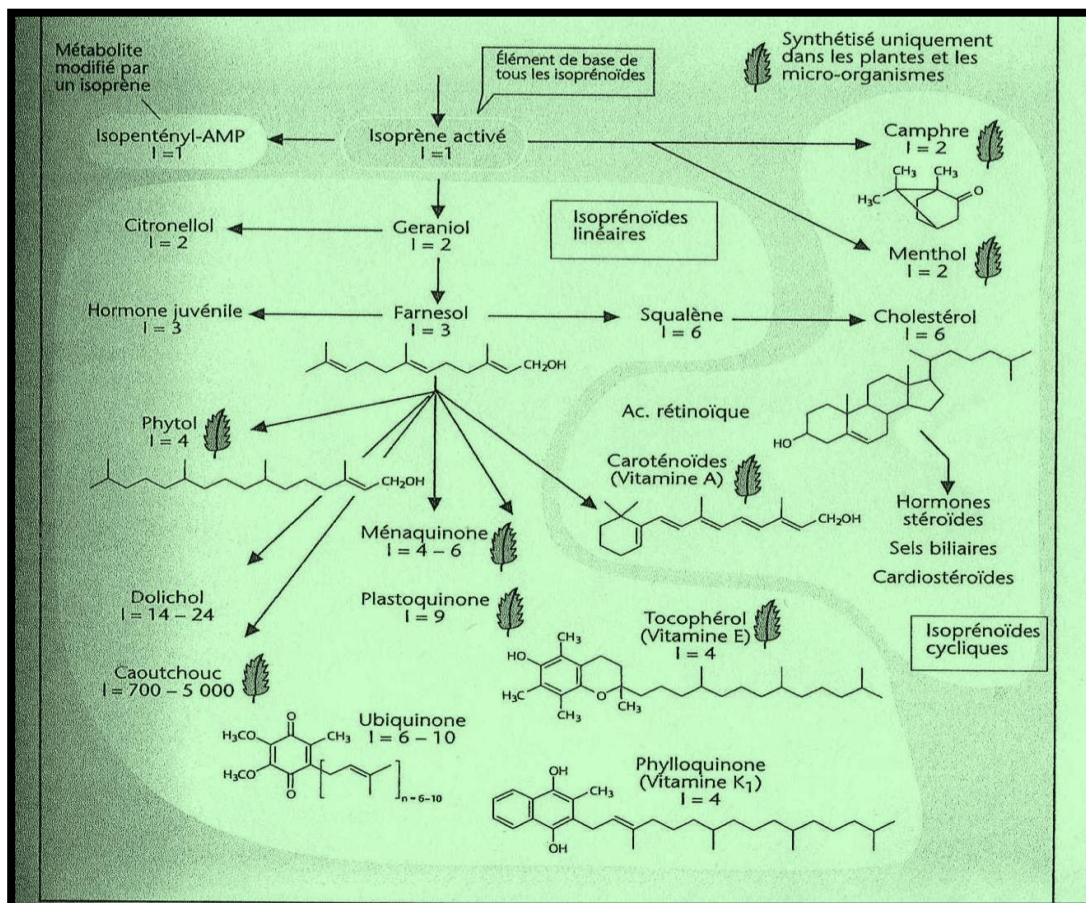


Figure 14 : Voie de biosynthèse des isoprénoïdes (Bradley et Calvert, 2009).

II.2.5.2. Stérols et Stéroïdes

Structure de base des stéroïdes

La caractéristique commune des stéroïdes est un noyau composé de quatre cycles saturés et baptisé gonane. De nombreux stéroïdes comportent également à l'extrémité de ce noyau, une chaîne latérale, ex : le cholestane, la structure de base des stérols (stéroïdes-alcools).

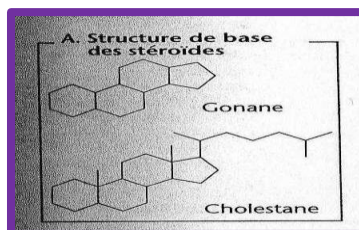


Figure 15 : Structure de base des stéroïdes (Koolman et Rohm, 2006).

Classification

Les trois groupes de stéroïdes les plus importants sont les stérols, les dérivés des stérols qui sont les acides biliaires et les hormones stéroïdes et troisièmes groupes c'est les hopanoïdes . On trouve également chez les végétaux des composés à structure stéroïde remarquables par leur action pharmacologique, les stéroïdes alcaloïdes, les digitaliques et la saponine.

II.2.5.2.1. Stérols

Ce sont des stéroïdes alcools. Ils comportent sur le C₃ un groupe hydroxyle en position β et possèdent sur le cycle B et dans la chaîne latérale une ou plusieurs doubles liaisons; il n'existe pas d'autres fonctions contenant un oxygène comme les fonctions carbonyle ou carboxyle.

Le plus important stérol animal est le cholestérol. Dans les plantes et les micro-organismes on trouve à la place du cholestérol une grande variété de stérols comparables, par exemple l'ergostérol, le β -sitostérol et le stigmastérol (Figure 16).

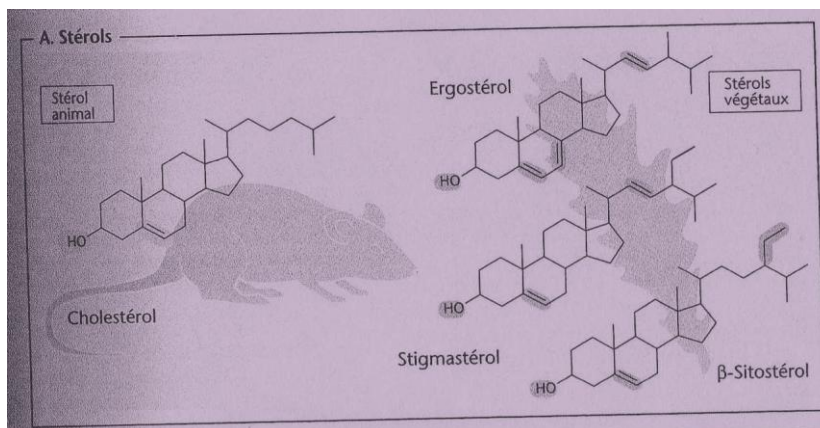


Figure 16 : Différent structures de stérols (Koolman et Rohm, 2006).

Le cholestérol est présent dans tous les tissus animaux et particulièrement dans le tissu nerveux. C'est un composant fondamental des membranes cellulaires, dont il contrôle la fluidité. Les formes de stockage et de transport du cholestérol sont constituées par des esters d'acides gras (Koolman et Rohm, 2006).

II.2.5.2.2.Dérivés des stérols

II.2.5.2.2.1.Acides biliaires

Les acides biliaires sont formés dans le foie à partir du cholestérol. Leur structure dérive de celle du cholestérol : leur caractéristique est une chaîne latérale raccourcie de trois carbones et dont le dernier atome de C a été oxydé pour former un groupe carboxyle. La double liaison du cycle B a été réduite. Les acides biliaires maintiennent le cholestérol de la bile en solution sous forme de micelles et accélèrent la digestion des lipides.

L'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique sont les acides biliaires primaires formés dans le foie. Leur déshydroxylation en C₇ par les micro-organismes de la flore intestinale conduit à deux acides biliaires secondaires, l'acide lithocholique et l'acide désoxycholique (Guilloton *et al.*, 2013).

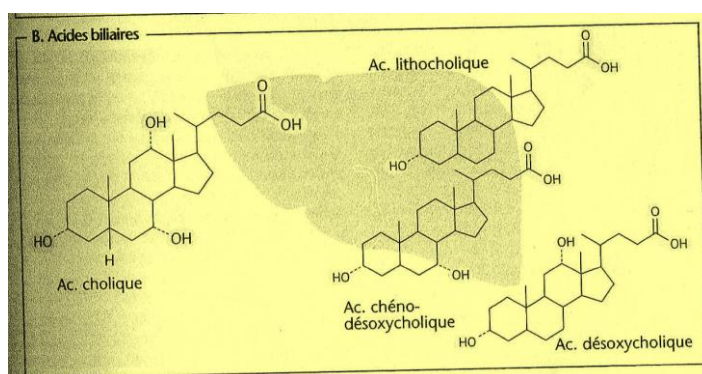


Figure 17 : Principaux acides biliaires (Koolman et Rohm, 2006).

II.2.5.2.2.2.Hormones stéroïdes

La transformation du cholestérol en hormones stéroïdes, peu importante sur le plan quantitatif, a une grande signification physiologique. Ces hormones constituent un groupe de signaux lipophiles, qui contrôlent le métabolisme la croissance et la reproduction.

On trouve chez l'homme six hormones stéroïdes, la progestérone, le cortisol, l'aldostérone, la testostérone l'œstradiol et le calcitriol (ancienne appellation : 1,25-dihydroxycalcitriol).

L'œstradiol est aromatique, son groupement hydroxyle sur le C₃ a un caractère phénolique.

Le calcitriol se distingue du reste des hormones stéroïdes car il contient encore le squelette carboné complet du cholestérol, mais est devenu un «sécostéroïde» ouverture du cycle B.

L'ecdysone est l'hormone stéroïde des arthropodes, on peut la voir comme une forme ancienne d'hormone stéroïde. Il existe également chez les végétaux des stéroïdes possédant des fonctions de signal (Koolman et Rohm, 2006).

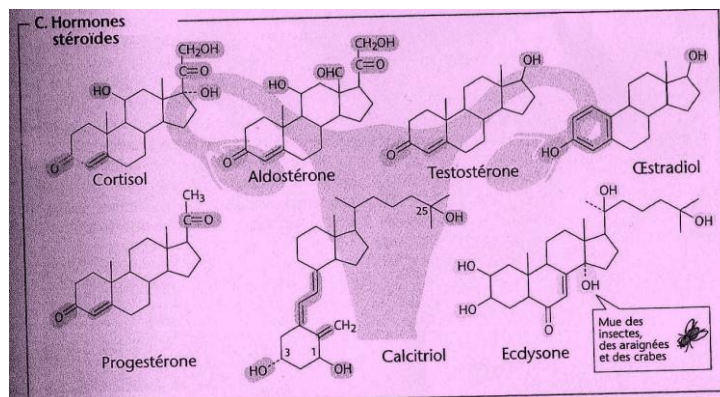


Figure 18 : Différents hormones stéroïdes (Koolman et Rohm, 2006).

II.2.5.2.2.3. Vitamine D

Il existe plusieurs composés très voisins ayant une même action vitaminique; l'un d'eux est la vitamine D₂ ou ergocalciférol (Figure 19). Il faut remarquer que le cycle B est ouvert et que l'on n'a donc plus le noyau du cyclopentano-phénanthrène caractéristique des stéroïdes (Pascaud, 2005).

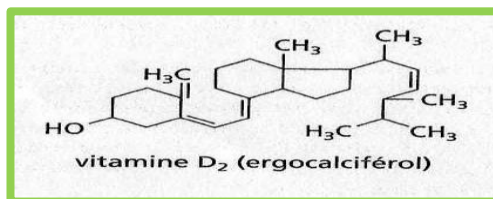


Figure 19 : Vitamine D₂ ou ergocalciférol (Weil, 2009).

II.2.5.2.2.4. Brassinostéroïdes

Ils forment un groupe important de stéroïdes végétaux comprenant une quinzaine de composés dont le plus important est le brassinolide (Figure 20). Leur structure est voisine de celle des hormones stéroïdes des mammifères. Ils agissent par un récepteur, réglant l'activité de nombreux gènes, tout particulièrement ceux réglant la fertilité et la croissance des plantes (Szekeres et al., 1995).

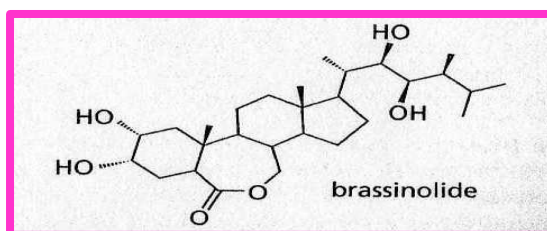


Figure 20 : Structure de brassinolide (Weil, 2009).

II.2.5.2.2.5. Alcaloïdes et hétérosides stéroïdiques

Ils sont représentés par un grand nombre de composés (plus d'une centaine) synthétisés par les végétaux. Ils dérivent de la molécule des stéroïdes, en général par introduction de nouvelles fonctions (acide, alcool, amine...). Certains sont combinés à un sucre (glucose, galactose, arabinose, rhamnose...) lié à une fonction alcool ou acide du cycle. La majorité de ces composés est douée d'activité pharmacologique (Bruneton, 2009).

II.2.5.2.3. Hopanoïdes

Si quelques bactéries peuvent incorporer du cholestérol dans leurs membranes, aucun procaryote n'est capable de le synthétiser. Par contre, un certain nombre de ceux-ci synthétisent un groupe de dérivés polyisopréniques voisins des stérols : les hopanoïdes.

La structure de base est l'hopane, composé à 30 carbones (voit ci-dessous). On connaît plus d'une cinquantaine de composés dérivant de l'hopane, en particulier les bactério-hopane-tétrol (R=OH) et -aminotriol (R=NH₂) et leur dérivés osidiques pour le premier et peptidiques pour le second.

Les hopanoïdes pourraient avoir chez les procaryotes un rôle analogue à celui des stérols chez les eucaryotes (Weil, 2009).

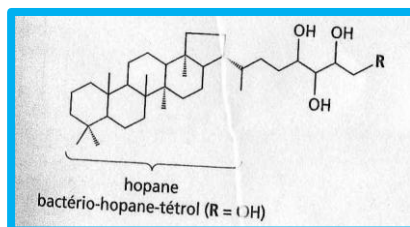


Figure 21 : Dérivé de l'hopane : bactério-hopane-tétrol (Weil, 2009).

II.2.5.3. Caroténoïdes

II.2.5.3.1. Carotènes

Les carotènes sont des dérivés de l'isoprène (Figure 22). Ils comportent un grand nombre de doubles liaisons conjuguées, ce qui leur confère une coloration pouvant aller du jaune au rouge (Pettersson et Jonsson, 1990). Les carotènes α et β (pigments de la carotte) sont cyclisés aux deux extrémités (et ne diffèrent que par la position d'une double du cycle), alors que le γ -carotène n'a qu'un seul cycle (Figure 23), et que le lycopène (pigment de la tomate) n'est pas cyclisé du tout.

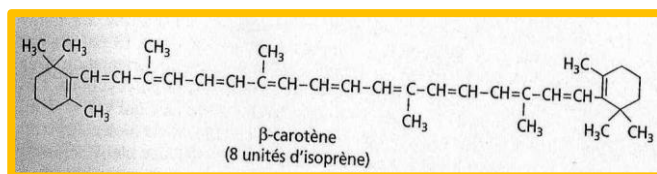


Figure 22 : β-carotène, dérivé de l'isoprène (Weil, 2009).

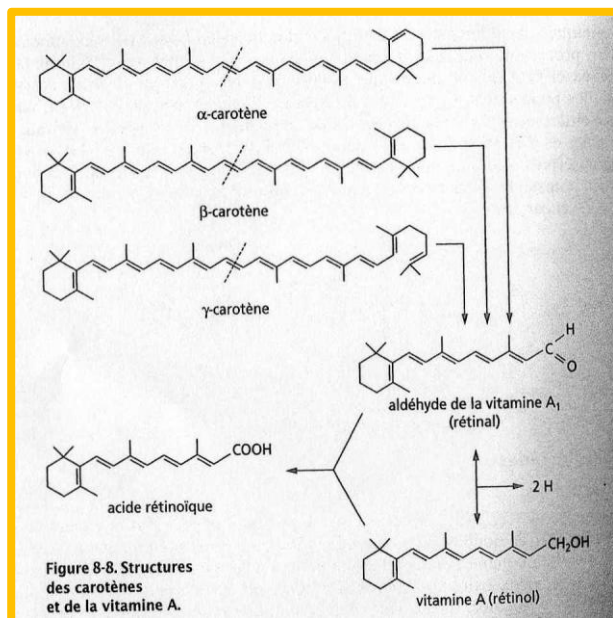


Figure 23 : Structures des carotènes et de la vitamine A (Weil, 2009).

II.2.5.3.2. Xanthophylles

Ce sont des pigments qui dérivent des carotènes par oxydation et ont des groupements hydroxyle sur les cycles (Mortain-bernard et Falkowski, 1989).

II.2.5.3.3. Vitamines A

On peut placer les composés doués d'activité vitaminique A à la suite des carotènes car ils en dérivent directement, comme le montre la (Figure 23). L'organisme animal scinde en effet le carotène et il apparaît le rétinol, aldéhyde de la vitamine A qui peut ensuite être réduit en alcool. (Weil, 2009). La vitamine A a plusieurs rôles :

Elle a un effet sur la croissance de l'animal, et elle protège les tissus épithéliaux.

Un dérivé de la vitamine A, l'acide rétinique (Figure 23) est un modulateur de la croissance cellulaire. Son rôle dans protection des épithéliums semble être relié au fait que des dérivés du rétinol (rétinol-pyrophosphoryl-ose) sont, comme les dolichols, des intermédiaires importants de la synthèse de certaines glycoprotéines.

Son rôle le mieux connu est celui de cofacteur dans le processus de la vision : la vitamine A se lie à l'opsine, une protéine de la rétine, pour donner le pigment visuel appelé rhodopsine. Sous l'action de la lumière, la rhodopsine est scindée en opsine et en rétinol (alcool de la vitamine A). Ce dernier est réoxydé en rétinol (Bjelakovic et al., 2012).

II.2.5.4. Quinones à chaîne isoprénique

Nous avons également rangé des substances qui sont susceptibles de donner très facilement des quinones. (Weil, 2009) :

II.2.5.4.1. Vitamines E

La vitamine E existe sous huit formes naturelles, quatre tocophérols : (α -tocophérol et β -tocophérol et γ -tocophérol et δ -tocophérol) et quatre tocotriénols : (α -tocotriénol et β -tocotriénol et γ -tocotriénol et δ -tocotriénol) (Brigelius-Flohe et Traber, 1999).

Les tocophérols sont constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone. Les tocotriénols diffèrent des tocophérols par la présence de trois doubles liaisons sur cette chaîne latérale (DellaPenna, 2005).

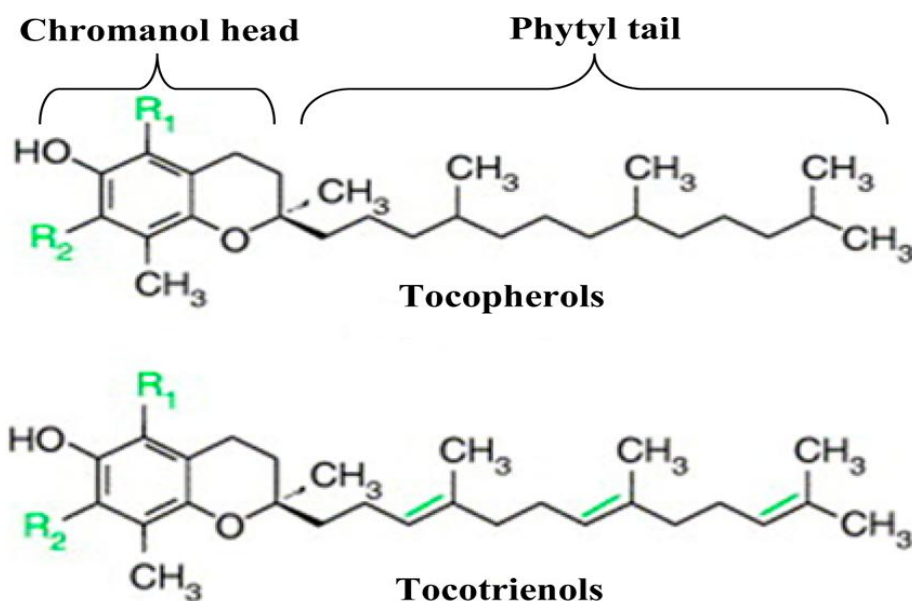


Figure 24 : Structure chimique de base des tocophérols et tocotriénols (DellaPenna, 2005).

La différence entre les formes alpha, bêta, gamma et delta réside dans le nombre et la position des groupements méthyle sur le noyau chromanol (Traber et Arai, 1999) :

Tableau 1 : Structure, dénomination des quatre homologues de tocophérol (Traber et Arai, 1999) :

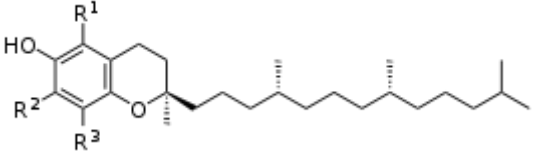
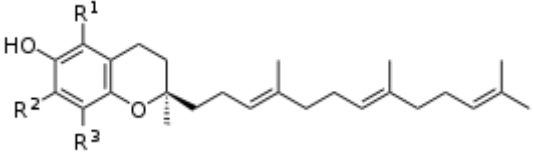
Substituants des tocophérols	R ¹	R ²	R ³	Nom
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	α-tocophérol
	CH ₃	H	CH ₃	β-tocophérol
	H	CH ₃	CH ₃	γ-tocophérol
	H	H	CH ₃	δ-tocophérol

Tableau 2 : Structure, dénomination des quatre homologues de tocotriénols (Traber et Arai, 1999) :

Substituants des tocotriénols	R ¹	R ²	R ³	Nom
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	α-tocotriénol
	CH ₃	H	CH ₃	β-tocotriénol
	H	CH ₃	CH ₃	γ-tocotriénol
	H	H	CH ₃	δ-tocotriénol

II.2.5.4.2. Ubiquinones et plastoquinones

Les ubiquinones se trouvent surtout dans les mitochondries animales et végétales où elles jouent un rôle important dans le système transporteur d'électrons.

La plastoquinone a une structure très voisine (Figure 25) et participe au transport des électrons dans les chloroplastes.

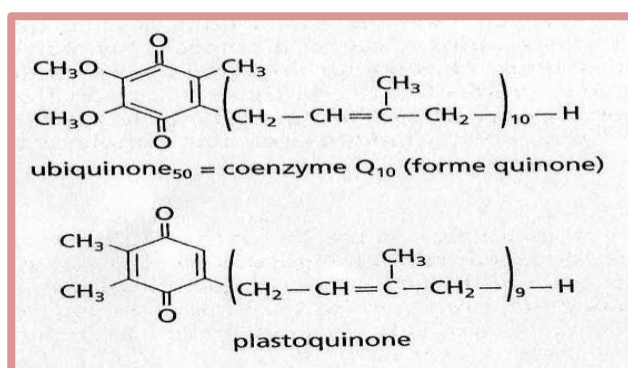


Figure 25 : Structures des quelques quinones naturelle (Weil, 2009).

II.2.5.4.3. Vitamines K

La vitamine K₁, ou phyloquinone a également une structure très semblable, comme on peut le voir sur la (Figure 26); c'est une naphthoquinone sur laquelle est greffée une chaîne de quatre

unités isopréniques appelée reste phytyle. La phylloquinone est présente chez les végétaux où elle a un rôle d'accepteur d'électrons dans les processus liés à la photosynthèse.

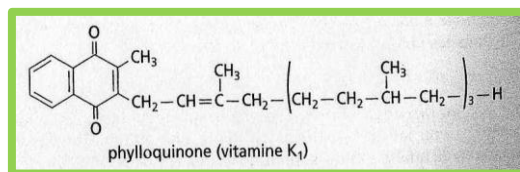


Figure 26 : Structure de la vitamine K₁ (Weil, 2009).

Les ménaquinones, ou vitamines K₂, diffèrent de la vitamine K₁ par le nombre d'unités isopréniques de la chaîne latérale (il peut y avoir jusqu'à 10 unités) et par le nombre de doubles liaisons présentes sur cette chaîne. On les trouve chez les bactéries. La vitamine K₂ est la forme active de la vitamine K chez les Mammifères (la phylloquinone est transformée en ménaquinone dans le foie) (Siguret, 2006).

II.3.Rôles biologiques

II.3.1.Combustible

Les lipides constituent un vecteur énergétique majeur de la nourriture.

En termes quantitatifs ils constituent la réserve d'énergie la plus importante chez les animaux. Les graisses neutres sont principalement stockées sous forme de gouttelettes lipidiques dans des cellules spécialisées les adipocytes.

En cas de besoin, les acides gras seront de nouveau libérés et oxydés dans les mitochondries en présence d'oxygène, pour donner de l'eau et du dioxyde de carbone. Cette réaction aboutit à la réduction de coenzymes qui seront utilisés dans la chaîne respiratoire pour la production d'ATP (Brown *et al.*, 1959).

II.3.2.Matériau

Les lipides amphiphiles seront utilisés par les cellules pour la formation des membranes.

Les lipides typiques des membranes sont les phospholipides, les glycolipides et le cholestérol. Les graisses ne sont que faiblement amphiphiles et ne conviennent pas comme composant des membranes (Lagarde, 2003).

II.3.3. Isolant

Les lipides sont de remarquables isolants.

Chez les animaux supérieurs, les graisses neutres présentes dans les tissus sous-cutanés et autour de certains organes (graisse constitutive) participent à l'isolation thermique et mécanique.

En tant que composants essentiels des membranes cellulaires, ils servent à l'isolation mécanique et électrique des cellules vis-à-vis de leur environnement.

L'imperméabilité des lipides membranaires aux ions permet l'établissement d'un potentiel de membrane (Koolman et Rohm, 2006).

Le film lipidique qui intervient non seulement dans la plasticité membranaire, dans sa plus ou moins grande perméabilité vis-à-vis des ions, mais aussi en tant que réservoir des médiateurs néoformés tels que les prostaglandines et les leucotriènes (Pacheco *et al.*, 1983).

II.3.4. Rôles particuliers

Certains lipides remplissent dans l'organisme des tâches particulières. Les stéroïdes, les eicosanoïdes et quelques métabolites des phospholipides jouent un rôle de signal. Ils servent d'hormone, de médiateur ou de second messager.

Quelques lipides servent d'ancrage pour insérer les molécules dans la membrane.

D'autres lipides sont des cofacteurs de réactions enzymatiques par ex. la vitamine K ou l'ubiquinone.

Le rétinol, un caroténoïde qui est le pigment sensible à la lumière, joue un rôle central dans le processus visuel.

L'homme ne peut pas synthétiser certains lipides et devra les trouver dans son alimentation sous forme d'acides gras essentiels ou de vitamines liposolubles (Koolman et Rohm, 2006).

III. Polyphénols

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Martin et Haider, 1971).

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit (Boyd et Carlucci, 1993).

III.1. Définitions

In vitro, les polyphénols présentent des activités antioxydantes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces activités sont attribuées en partie à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (HO·) et superoxyde (O₂·-) mais aussi à leur affinité pour une grande variété de protéines dont certains enzymes et récepteurs (Millet *et al.*, 2003).

L'expression de « composés phénoliques CP » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles et qui ne contiennent aucun atome d'azote et qui dérivent de la biogénèse d'acide chiquimique ou/et d'acétate (Bloor, 2001). Ils sont généralement des antioxydants aux effets anticancéreux, anti-inflammatoires et antiviellissement (Bennetau-Pelissero, 2014).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (Alarcon Flores *et al.*, 2012).

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Hoffmann, 2003).

III.2. Structure de Polyphénols Végétaux

Les composés phénoliques ou polyphénols, constituent l'une des plus nombreuses et largement distribués groupes de substances dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures

phénoliques connus. La plupart des grandes classes de polyphénol végétal sont énumérés dans le tableau situé en annexe 7, en fonction du nombre d'atomes de carbone du squelette de base. La structure de polyphénols naturels varie à partir de molécules simples, comme des acides phénoliques, des composés hautement polymérisés, tels que les tanins condensés (Urquiaga et Leighton, 2000).

Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés nommés flavonoïdes diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique (Hoffmann, 2003).

III.3. classification des polyphénols

Une classification de ces substances a été proposée par HARBORNE en 1980 (Tableau 3) (Harborne , 1980).

Tableau 3 : Principales classes de composés phénoliques (Castellano *et al.* ,2012)

Nombre d'atomes de carbones	Squelette de base	Classe	Exemple
7	C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide gallique
9	C6-C3	Acide hydroxycinnamiques	Acide caféique
		Coumarines	Scopolétole
10	C6-C4	Naphtoquinones	Juglone
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Quercétol
		Isoflavonoïdes	Daïdzéine
		Anthocyanes	Malvidine
N		Oligomères procyanidoliques tanins	

D'après le tableau ci-dessus on peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

Les principales classes qui sont largement répandues :

III.3.1. Les polyphénols monomériques

III.3.1.1. Les acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués :

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique,
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Serve *et al* , 1983).

III.3.1.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Figure 27). Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones (Figure 28). Ils sont trouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plante renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisée en médecine traditionnelle de par le monde (Ghedira ,2005).

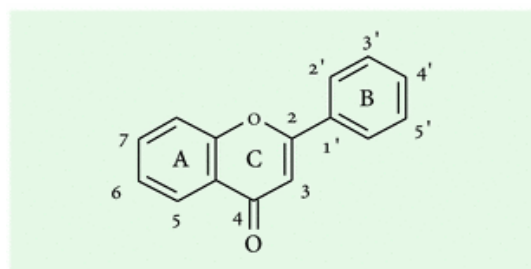


Figure 27 : Structure de base des flavonoïdes (Ghedira ,2005).

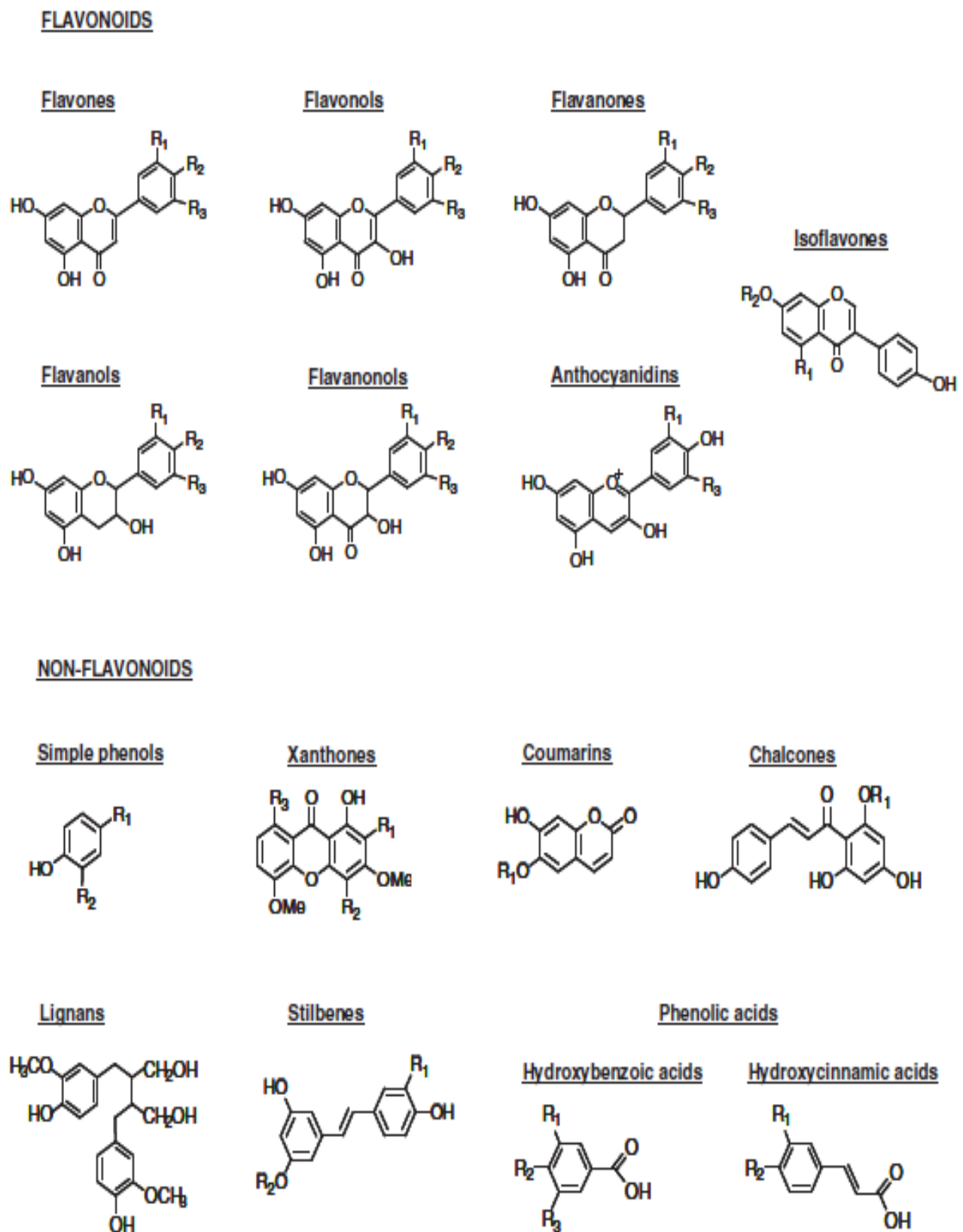


Figure 28 : Les structures chimiques des principales classes de flavonoïdes naturels et de composés phénoliques non-flavonoïdes (Kathithileni, 2011).

III.3.2. les polyphénols sous forme de polymères

III.3.2.1. Les tanins

Les tanins sont des composés poly-phénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre dure et imputrescible, en se fixant sur les protéines. Cependant on a deux grandes groupes de tanins : les tanins hydrolysables ; les tanins condensés, non hydrolysables ou tanins catéchiques dérivant des catéchols et des proanthocyanidols par condensation (Urquiaga et Leighton, 2000).

III.3.2.2. Lignines

Ces composés de haut poids moléculaires contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation (copolymérisation) de trois alcools phénylpropéniques (Wertz, 2010).

III.4. Propriétés chimiques des polyphénols

III.4.1. Inhibition enzymatique

Les phénomènes d'interaction polyphénols - protéines ont été largement étudiés *in vitro*, particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes, modulation du fonctionnement de divers récepteurs ainsi que du processus de transcription de certains gènes (par interaction du cytosol avec les facteurs de transcription ou certains précurseurs) (Havsteen, 2002).

Outre les effets antioxydants, l'inhibition de la production des EOR par les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage direct des EOR (Havsteen, 2002).

III.4.2. Chélation des ions métalliques

Les ions du fer ou du cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, les ions du fer pour la catalase, et ceux du cuivre pour la superoxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène. En outre, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^{2+} est une source de superoxyde et peroxyde d'hydrogène. Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante (Hider et al, 2001).

L'activité antioxydante piégeage des radicaux libres sont élaborés dans le chapitre IV.

III.5. Propriétés thérapeutiques des polyphénols

De nos jours, les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancer. Ils ont également des actions positives sur l'obésité, le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. Les catéchines du thé sont des inhibiteurs de l'angiogénèse *in vitro*.

IV. Stress oxydatif

Une production faible ou modérée de radicaux libres est nécessaire pour le bon fonctionnement de l'organisme (Droge, 2007). En effet, il est apparu que les formes oxydantes pouvaient assurer certaines fonctions physiologiques fondamentales comme la régulation du tonus vasculaire, le contrôle de la ventilation, la régulation de la production d'érythropoïétine l'adhésion cellulaire, la réponse immunitaire et la mort cellulaire programmée (apoptose). Par l'activation de nombreux facteurs de transcription, les EOR jouent aussi un rôle important dans la signalisation cellulaire Certains des oxydants possèdent en effet toutes les caractéristiques biochimiques du second messager : formation et dégradation enzymatiques, augmentation transitoire de leur concentration, action spécifique (figure 29) (Coisne, 2007).

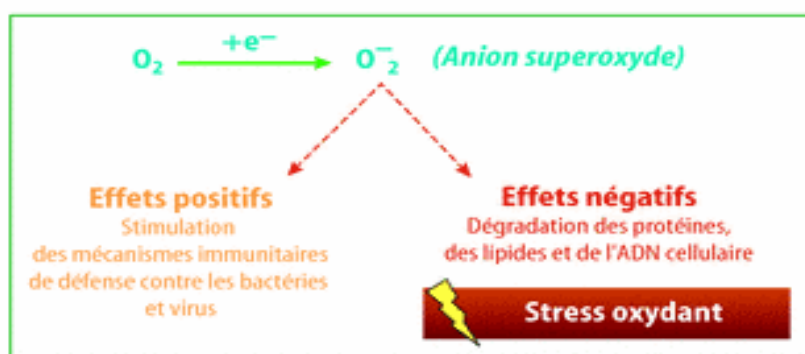


Figure 29 : les effets du stress oxydatif (Menville –bourg, 2005)

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydatif », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines.

IV.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est un processus physiopathologiques (Léophonte *et al* ,2005). Il est défini comme une oxydation intracellulaire excessive due et un déséquilibre entre la production d'espèces oxydantes ou formes réactives de l'oxygène (FRO) et celle des systèmes antioxydants (Pasquier ,1995)

Lors d'un stress oxydatif, les espèces oxygéné réactives EOR non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN (Koechlin-Ramonatxo ,2006).

Le stress oxydatif est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés (Favier, 1997) ; c'est à dire entre les

molécules pro-oxydante particulièrement les espèces radicalaires réactives dérivées de l'oxygène telles que le radical hydroxyle $\text{OH}\cdot$ ou l'anion superoxyde : O_2^- et d'autre part les espèces antioxydantes (Guichardant *et al.*, 2006)

Lors d'un déséquilibre entre la production des substances prooxydantes (radicauxlibres) et la capacité de défense des antioxydants, la balance redox ou homéostasie redox se voit déséquilibrée en faveur des oxydants. On parle alors de stress oxydant (Coisne, 2007)

IV.2. Origine du stress oxydatif

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (Favier, 2003)

Le déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés peut avoir diverses origines :

- ❖ Il faut souligner que les ERO peuvent d'ailleurs jouer un rôle physiologique important comme dans la phagocytose des bactéries par les cellules polymorphonucléaires . Un stress oxydant se définira lorsqu'il y aura un déséquilibre profond entre antioxydants et prooxydants en faveur de ces derniers. Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie– reperfusion, vieillissement), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines, ...) (Pincemail *et al.*, 2002)
- ❖ Une déficit nutritionnel en antioxydant (Favier, 1997), contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (Pincemail *et al.*, 2002) surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants. Pour y faire face l'organisme dispose d'enzymes antioxydants codés par un génome permettant une adaptation à une dose raisonnable de radicaux de l'oxygène. Selon les circonstances le stress oxydant sera la cause ou une des causes de maladies comme le cancer, l'athérome ou la cataracte (Favier, 1997).

Le statut anti-oxydant humain reflète l'équilibre dynamique entre les systèmes de défense anti-oxydant et la production d'espèces radicalaires oxygénées (radicaux libres). Un déséquilibre de cette balance en faveur des composés pro-oxydants conduit à un état de stress oxydant pouvant être associé ou conduire à de très nombreuses affections (Lehucher *et al.*, 2001) (figure 30)

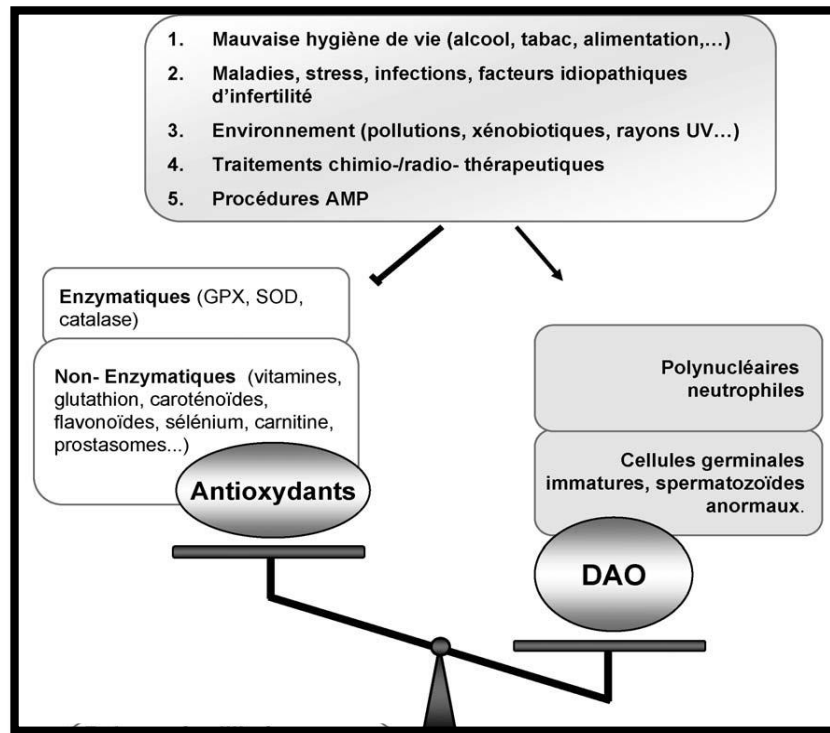


Figure 30 : Résumé de l'équilibre entre la production de dérivés actifs de l'oxygène DAO et les systèmes antioxydants (Pons-Rejraji *et al.* , 2009)

IV.2. les radicaux libres

IV.2.1. Définitions

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante << libre >> en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé. La formation de radicaux libres (superoxyde et hydroxyle par exemple) est une conséquence normale du métabolisme aérobie chez l'homme. Toutefois, un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydants conduit à un stress oxydatif pouvant entraîner des altérations moléculaires et cellulaires. Les lipides et l'ADN sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres (Goudable et Favier , 1996).

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons « les radicaux primaires » à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($^{\bullet}OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical peroxy (ROO^{\bullet}) et le radical alkoxy (RO^{\bullet}).

Les autres radicaux libres, dits « radicaux secondaires » telles que l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde (ONOOH), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003). Dans le phénomène de « stress oxydatif métabolique », les radicaux libres oxygénés qui interviennent, vont être produits de façon massive (Gauche et Hausswirth, 2006).

IV.2.2. Origine et production des espèces oxygénées réactives

L'appellation espèces oxygénées réactives (EOR) inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc....) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite (Halliwell et Whiteman, 2004). Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Gauche et Hausswirth, 2006) (Tableau 4).

Tableau 4: Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (Bartosz, 2003).

Nom	Symbole
Espèces Radicalaires	
Anion super-oxyde	$\text{O}_2^{\bullet-}$
Radical hydroxyle	OH^\bullet
Monoxyde d'azote	NO^\bullet
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	HOCl
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Peroxydinitrite	ONOO^-

L'instabilité des EOR rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques. Leurs constantes de vitesse réactionnelle varient selon leurs natures, elles sont très élevées et peuvent aller de 10^5 à $10^{10} \text{ mol.l}^{-1}\text{s}^{-1}$. La durée de vie des EOR est extrêmement très courte de la nano à la milli seconde (Lechuer-Michel *et al.*, 2001) En effet, la toxicité des EOR n'est pas nécessairement corrélée avec leur réactivité, dans plusieurs cas des espèces peu réactives peuvent être

à l'origine d'une grande toxicité en raison de leur demie vie longue qui leur permet de se diffuser et gagner des locations sensibles (Kohen et Nyska , 2002).

IV.3.3. Nature et sources cellulaires des EOR

L'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des EOR, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue d'EOR, soit à une diminution de la capacité de défenses antioxydantes (Gardès-Albert *et al.*, 2003). La pollution, le tabagisme, l'alcoolisme, la prise des contraceptifs, l'exposition prolongée au soleil ou à des radiations, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont des sources de production des EOR (figure 31). Une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants exogènes nécessaires (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydante. Le stress oxydant peut être de courte durée, grâce aux systèmes antioxydants, limité, avec un retour rapide à un état redox physiologique. Un déséquilibre redox prolongé a des conséquences en pathologie et dans le vieillissement des tissus (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

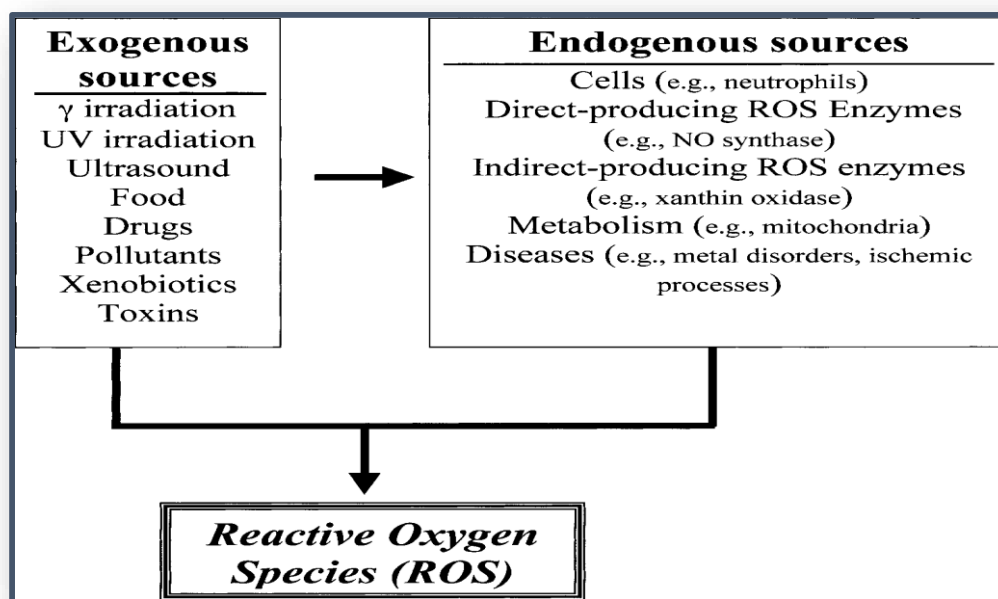


Figure 31 : les sources des espèces oxygénée réactives (source endogènes et exogènes) (Kohen et Nyska , 2002)

IV.3. Implications pathologiques du stress oxydatif

Les réactions d'oxydoréduction qui transfèrent les électrons d'une substance vers un agent oxydant sont nécessaires à la vie, mais peuvent produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices .Le stress oxydatif a été mis en cause dans la pathogenèse de nombreuses maladies humaines graves telles que certains cancers, les maladies cardiovasculaires, les maladies

dégénératives liées au vieillissement, sans que l'on sache encore s'il est cause ou conséquence de ces maladies (Tanguy *et al.*, 2009) (Tableau 5).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés (Sohalet Mockett , 2002)

Tableau 5 : Les principales affections liées au stress oxydatif.

PATHOLOGIE	REFERENCE
Maladies inflammatoires	(Densiov et Afanas'ev, 2005)
Emphysème	(Lechuer-Michel <i>et al.</i> , 2001)
Athérosclérose	(Harrison <i>et al.</i> , 2003)
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	(Sorg, 2004)
Diabète sucré	(Pal Yu, 1994)
Maladies auto-immunes	(Halliwel et guetteridge ,1999)

IV.3.1. Les dommages oxydants

Les radicaux libres peuvent diffuser dans le cytoplasme et à travers les membranes, pour aller altérer des composants cellulaires éloignés de leur site de production ou encore pour atteindre d'autres cellules. De plus, l'attaque des composants organiques des cellules (lipides, protéines ou glucides) engendre la transmission d'une cascade radicalaire (figure 32) soit à l'intérieur d'une même molécule, soit à l'intérieur d'un même tissu en agissant d'une molécule à une autre.

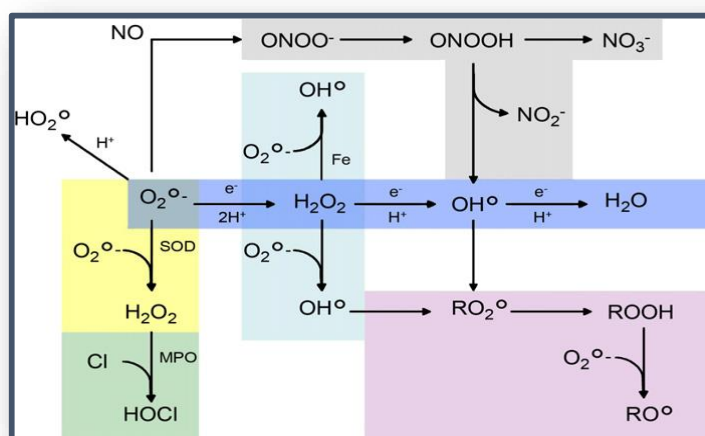


Figure 32 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

En absence d'équipement antioxydant tissulaire efficace pour stopper cet enchaînement radicalaire, le phénomène de dégradation connaît une progression rapide, qui, après interaction avec les autres systèmes tissulaires, devient très vite exponentielle. Cette transmission extrêmement rapide peut alors conduire au transfert de l'agression radicalaire sur plusieurs centimètres au sein d'un tissu en une fraction de seconde (Coisne, 2007).

IV.3.1.1. Peroxydation lipidique

Lorsque les membranes phospholipidiques des membranes cellulaires et subcellulaires sont attaquées par les radicaux libres, une chaîne de réactions peroxydantes s'installe et perturbe la fluidité membranaire. Les membranes cellulaires doivent comporter une fluidité élevée pour maintenir l'homéostasie et l'activité métabolique de l'organisme. Une chute de la fluidité membranaire est observée dans certaines pathologies métaboliques.

Les réactions radicalaires provoquent des dépôts de lipides oxydés dans les vaisseaux ou les tissus âgés ou génèrent des dérivés carcinogènes. Les dégradations oxydatives des lipides conduisent à la formation éventuelle d'hydrocarbures exhalés comme le pentane, d'aldéhydes comme le malondialdéhyde ou MDA Avec l'acide thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE), ces sous-produits de la peroxydation lipidique sont les marqueurs les plus couramment utilisés dans l'étude des dommages radicalaires induits. La peroxydation lipidique entraîne donc la formation en cascade de nombreux produits qui peuvent à leur tour réagir et dégrader les protéines et l'ADN (Coisne, 2007)

IV.4. L'activité antioxydante

Les EOR sont produites de façon permanente dans notre organisme. Afin de contrôler ou de limiter les effets délétères des EOR, notre organisme a développé une batterie de défenses antioxydantes qui lui ont d'ailleurs permis de s'adapter à vivre dans un environnement riche en oxygène (Pincemail et Meurisse ,1998). Les antioxydants peuvent stopper les réactions en chaîne en se combinant aux radicaux libres et en inhibant ainsi leur action (Tanguy ,2009).

IV.4.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (Servais, 2004) (Figure 33).

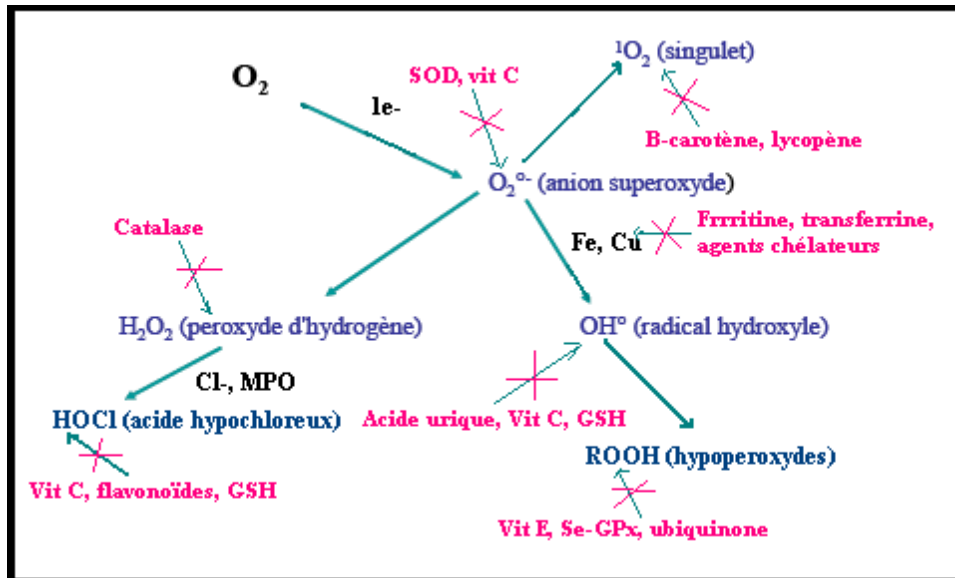


Figure 33 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail *et al*, 2002).

IV.4.2. Mécanisme d'action d'un antioxydant

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 puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Berset et Cervelier, 1996)

IV.4.3. Les systèmes antioxydants

Les molécules contrôlant la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène sont désignées par le terme d'antioxydants et peuvent être défini comme des substances qui sont capables, à concentration faible par rapport à celle du substrat oxydable, de retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. La littérature distingue deux principaux types d'antioxydants (Powers et Lennon, 1999).

IV.4.3.1. Différents types d'antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés de deux façons :

IV.4.3.1.1. Selon leur action

A. Systèmes non enzymatiques

Le premier est constitué par les antioxydants non enzymatiques qui piègent directement les radicaux libres et les désactivent. Ils ont principalement une action anti-lipoperoxydante (vitamines C, E (α-tocophérol), caroténoïdes (β-carotène)). Ils sont localisés dans les membranes cellulaires et la mitochondrie, intégrés dans la bicouche lipidique pour les formes liposolubles (β-carotène et vitamines E) et dans le cytosol intracellulaire ou dans les fluides extracellulaires pour les vitamines hydrosolubles (vitamine C) (Coisne, 2007).

Les antioxydants de cette catégorie sont les composés qui agissent aussi en empêchant ou en diminuant la formation des radicaux libres. Les plus utilisés sont des agents complexant les ions métalliques réduisant l'effet peroxydant des ions, c'est le cas de l'acide phosphorique, citrique et les ascorbates. Ils agissent en stabilisant la forme bivalente du métal dont l'action catalysant est plus faible que celle de la forme trivalente (Pincemail *et al*, 1998).

B-Systemes enzymatiques

Le deuxième est constitué de systèmes enzymatiques regroupant plusieurs familles d'enzymes antioxydantes. Elles sont associées en partie à des oligo-éléments agissant comme cofacteurs et sont situées à proximité des sites de production de EOR (Halliwell, 1999).

Selon leur source, on peut distinguer deux types d'antioxydants :

IV.4.3.1.2. Selon leur source

a) Les antioxydants endogènes :

a.1. ENZYMES

➤ La catalase (CAT)

Elle assure la réduction du peroxyde d'hydrogène en libérant de l'oxygène. C'est une enzyme majeure de détoxification radicalaire qui est présente majoritairement dans les peroxysomes et dans les mitochondries de cœur (Halliwell, 1999).

➤ Le superoxyde dismutase (SOD)

Elle convertit l'anion superoxyde O₂⁻ en H₂O₂ :



Plusieurs iso-formes de la SOD existent et diffèrent par leur séquence protéique et leurs cofacteurs (Fridovich, 1995). Ainsi, la MnSOD comprend 4 sous-unités contenant chacune un atome de manganèse. Elle est localisée dans la mitochondrie. On distingue également la Cu-ZnSOD sous forme

d'un dimère dont chaque unité possède 1 atome de cuivre et 1 atome de zinc. Elle est présente chez la plupart des espèces au niveau du cytoplasme. La formation de la MnSOD est inductible par un stress oxydant, contrairement à celle de la Cu-ZnSOD (Murley *et al*, 2001).

➤ Les glutathions peroxydases (GPX)

La glutathion peroxydase est une enzyme formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine (dans laquelle l'oxygène du groupement hydroxyle de la sérine est remplacé par le sélénium) (Chaudiere et Tappel 1983). Elles se définissent comme des enzymes de structure très proche ayant la propriété de réduire les peroxydes. Il existe une forme de GPX cytosolique, une forme plasmatique, une forme gastro-intestinale ainsi qu'une iso-enzyme réduisant directement les phospholipidesoxydés, la HPGPx (hydroperoxyde-glutathion peroxydase) (Ursini *et al*, 1999). Les GPX nécessitent un cofacteur : le glutathion sous forme réduite (GSH) comme donneur d'électron :



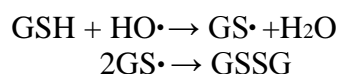
Actuellement toutes les glutathions peroxydases connues sont des enzymes à sélénium.

a.2. MOLECULE

- **Le glutathion** : Le glutathion GSH est une protéine composée de trois acides aminés (cystéine, acide glutamique et glycine). Il sous forme réduite est l'antioxydant le plus important des cellules, les protégeant notamment des radicaux libres (dérivés actifs de l'oxygène). Ces substances hautement réactives, si elles sont non contrôlées, endommageront ou détruiront les composantes clés cellulaires (par exemple les membranes, l'ADN) en l'espace de microsecondes. Le glutathion attaque directement les composés oxygénés à l'intérieur de la cellule et joue un rôle clé dans le recyclage d'autres antioxydants bien connus, telles que les vitamines C et E.

Au cœur des défenses antioxydantes, le glutathion est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants (Ryter *et al*., 2002).

Le GSH est un composé piègeur pouvant réagir avec l'hydroxyle ou un peroxyde pour donner un radical thyl (GS[•]) (Vergely *et al*., 2003).



➤ L'acide urique

L'acide urique est un piègeur de l'O₂, des radicaux peroxydes et hydroxyles (RO₂• et HO•), de l'ozone et de HClO. La réaction de l'acide urique avec ces EOR génère des radicaux moins réactifs que HO•.

b) Les antioxydants exogènes

Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes.

➤ La vitamine E ou α -tocophérol

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celle de la famille des tocophérols. Elle a besoin d'interagir avec d'autres composés pour agir correctement. Elle se trouve dans tous nos tissus, notamment du fait de son caractère lipophile, qui lui permet d'agir au site même de la peroxydation lipidique membranaire. En échangeant un électron libre, le tocophérol se transforme en radical tocophéroxyle, peu réactif de par sa structure cyclique. Le radical tocophéroxyle peut être régénéré par l'ascorbate, qui devient alors radicalaire. Lors d'un stress oxydatif, ces deux vitamines agissent conjointement en formant une chaîne de détoxication des radicaux libres (vergely *et al.*, 2003).

➤ La vitamine C ou acide ascorbique

La vitamine C ou acide ascorbique est généralement considérée comme l'antioxydant hydrosoluble le plus efficace dans le plasma humain. Grâce au faible potentiel redox du couple ascorbate/radical ascorbyl (vergely *et al.*, 2003). Il peut exister sous des états moléculaires distincts et réversibles dont l'interface est le radical ascorbyl. Ces états moléculaires sont dépendants de la présence d'oxygène moléculaire et de fer. Du point de vue métabolique, le rôle antioxydant de l'acide ascorbique est fondamental, mais cette molécule peut être impliquée dans d'autres réactions chimiques du métabolisme cellulaire (Chepda *et al.*, 1999).

➤ Les polyphénols

L'interaction des polyphénols avec les ions de métaux de transition tels que le fer et le cuivre, est un phénomène de grand intérêt biologique. Il pourrait jouer un rôle important dans le pouvoir antioxydant des polyphénols. En effet, les ions du fer et du cuivre sont susceptibles d'entrer dans des cycles redox, qui dans des conditions aérobies, produisent des espèces oxygénées réactives ou EOR (superoxyde, peroxyde d'hydrogène, radical hydroxyle, espèces FeIV etc...) (Halliwell, 1994).

Les polyphénols sont susceptibles d'inhiber ce stress oxydant, non seulement en piégeant les EOR par réduction, mais aussi en formant avec les ions du fer et du cuivre des complexes inertes. Ainsi, les polyphénols sont capables de protéger les lipides polyinsaturés contre les phénomènes

d'oxydation générateurs de radicaux et aldéhydes lipidiques responsables du développement des maladies évoquées plus haut (Halliwell, 1994).

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante (Jovanovic *et al.*, 1994). Grâce à leur faible potentiel redox, les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes (Fl-OH), sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO·), alkoxydes (RO·) et hydroxyle par transfert d'hydrogène selon la réaction suivante :

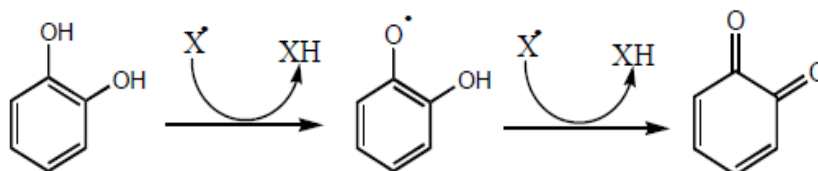


Figure 34 : Piégeage des EOR par les flavonoïdes (Jovanovic *et al.*, 1994).

D'une manière générale, les flavonoïdes les plus actifs (impliqués dans la peroxydation lipidique comme des piègeurs efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes), sont ceux qui combinent les trois critères suivants : figure 35 (Bors *et al.*, 1990)

- 1- La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol).
- 2- La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.
- 3- La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.

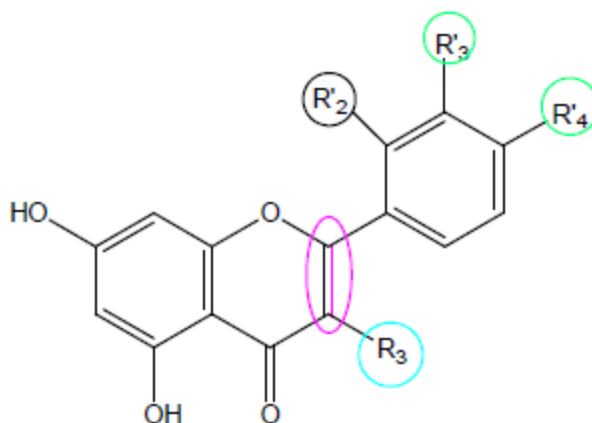


Figure 35 : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.

IV.4.4. Sources des antioxydants exogènes:

L'être humain est incapable de synthétiser certains antioxydants : vitamines, polyphénols et oligo-éléments, donc il est nécessaires qu'ils sont présents dans nos aliments (Tableau en annexe) pour qu'ils contribuent à la prévention nutritionnelle de nombreuses pathologies où le stress oxydatif est impliqué (figure 36) Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (synthétiques) (Tanguy *et al.*, 2009).

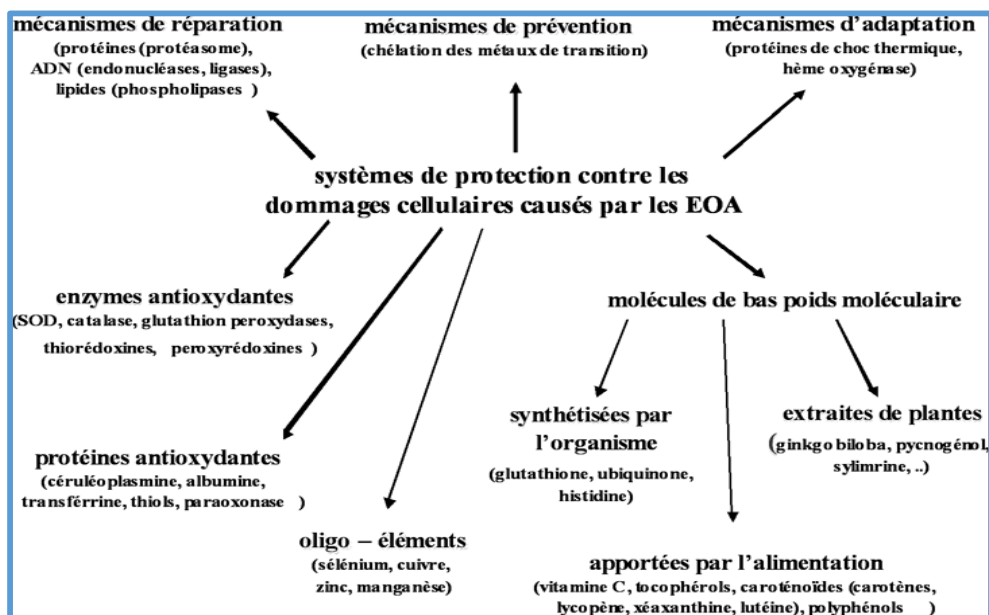


Figure 36: Réseau des antioxydants (Defraigne et Pincemail ,2007)

IV.4.4.1. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques (Pelli et Lyly, 2003).

Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique (gallate de propyle, gallate d'octyle et gallate de dodécyle) sont des antioxydants synthétiques lipophiles les plus fréquemment utilisés.

IV.4.4.2. Les antioxydants naturels

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux (Tanguy *et al.*, 2009).

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel

Les manipulations sont effectuées au laboratoire de Biochimie du Département de Biologie et au laboratoire de Recherche des Sciences Fondamentales (L.R.S.F., U.A.T-L).

I.1.1. Matériel et équipement

Les équipements et conditions expérimentales de nos expériences sont indiqués dans l'annexe.

I.1.2 Matériel végétal

I.1.2.1. Récolte des échantillons

L'huile testée a été extraite à partir des fruits de 3 arbres *Pistacia atlantica*. Les arbres C et G ont servi pour avoir des échantillons triés: matures, de maturité intermédiaire et immature ainsi qu'à des échantillons mélanges (matures, intermédiaires et immatures non séparés). L'arbre E n'a servi que pour ces derniers. Trois récoltes ont été effectuées durant les mois Aout et septembre 2013 dans la wilaya de Laghouat sur trois régions différentes: PK 22 (RW230), route d'Elhouita (arbre G, 12 échantillons) ; Nili (PK450Km, RN1), arbre C, 6 échantillons ; PK422 (RN1), arbre E, 3 échantillons.

Les données géographiques des trois régions sont indiquées dans le tableau 6

Tableau 6 : Données géographiques des trois régions









	PK 22 (RW230) Route d'Elhouita	Nili (PK450Km, RN1)	PK422 (RN1)
Longitude	33°41'25.20"N	33°23'07.40"N	33°38'42.79"N
Latitude	2°39'43.50"E	3°02'57.26"E	2°55'42.70"E
Altitude	835m	829m	812m









I.1.2.2. Tri et extraction






Les graines ont été laissées sécher dans un endroit aéré à l'ombre à une température ambiante. Après quoi, elles ont été stockées dans des sac en papier jusqu'à utilisation.

Avant l'extraction de l'huile, les fruits secs ont été triés afin de séparer les graines selon leur degré de maturité. Les caractéristiques des fruits étudiés sont mentionnées dans le tableau 7 :

Tableau 7: Caractéristiques des fruits du pistachier de l'Atlas étudiés

Code	Arbre	Couleur des fruits		Lieu de récolte	Date de récolte
C _{1 imm}	C	Rouge foncée		Nili 50 Km	16/08/2013
C _{1 mat}		Noir		Nili 50 Km	
C _{1 mél}		Rouge et Noir		Nili 50 Km	
C _{2 imm}		Rouge, jaune et noir		Nili 50 Km	30/08/2013
C _{2 mat}		Noir		Nili 50 Km	
C _{2 mél}		Rouge et Noir		Nili 50 Km	
E _{1 mél}	E	Rouge et jaune		20 Km de Laghouat	16/08/2013
E _{2 mél}		Vert et rouge		20 Km de Laghouat	02/09/2013

E ₃ mél		Vert et rouge		20 Km de Laghouat	16/09/2013
G ₁ imm	G	Jaune et rouge		PK22 Vers Elhouita	16/08/2013
G ₁ inter		Vert et rouge		PK22 Vers Elhouita	
G ₁ mat		Rouge et vert		PK22 Vers Elhouita	
G ₁ mél		Vert, rouge et jaune		PK22 Vers Elhouita	
G ₂ imm		Jaune		PK22 Vers Elhouita	02/09/2013
G ₂ inter		Vert malachite		PK22 Vers Elhouita	
G ₂ mat		Vert Véronèse		PK22 Vers Elhouita	

G_2 mél		Vert et jaune		PK22 Vers Elhouita	
G_3 imm		Jaune moutard		PK22 Vers Elhouita	16/09/2013
G_3 inter		Vert et rouge		PK22 Vers Elhouita	
G_3 mat		Vert et rouge		PK22 Vers Elhouita	
G_3 mél		Vert et Jaune		PK22 Vers Elhouita	

I.2. Méthodes

I.2.1. Méthodes d'extraction des lipides

L'extraction de l'huile de pistachier de l'Atlas est réalisée par une double macération avec l'Hexane, sur les fruits finement broyée à l'aide d'un mortier traditionnel, pendant 48 heures à température ambiante avec renouvellement du solvant. Après séchage par le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et filtration, l'hexane a été évaporé sous pression réduite à 40 °C.

Les 21 échantillons huileux obtenus sont conservés dans un réfrigérateur à une température de (+4°C), dans des flacons en verre, jusqu'à utilisation.

Notre démarche expérimentale est résumée à travers l'organigramme suivant :

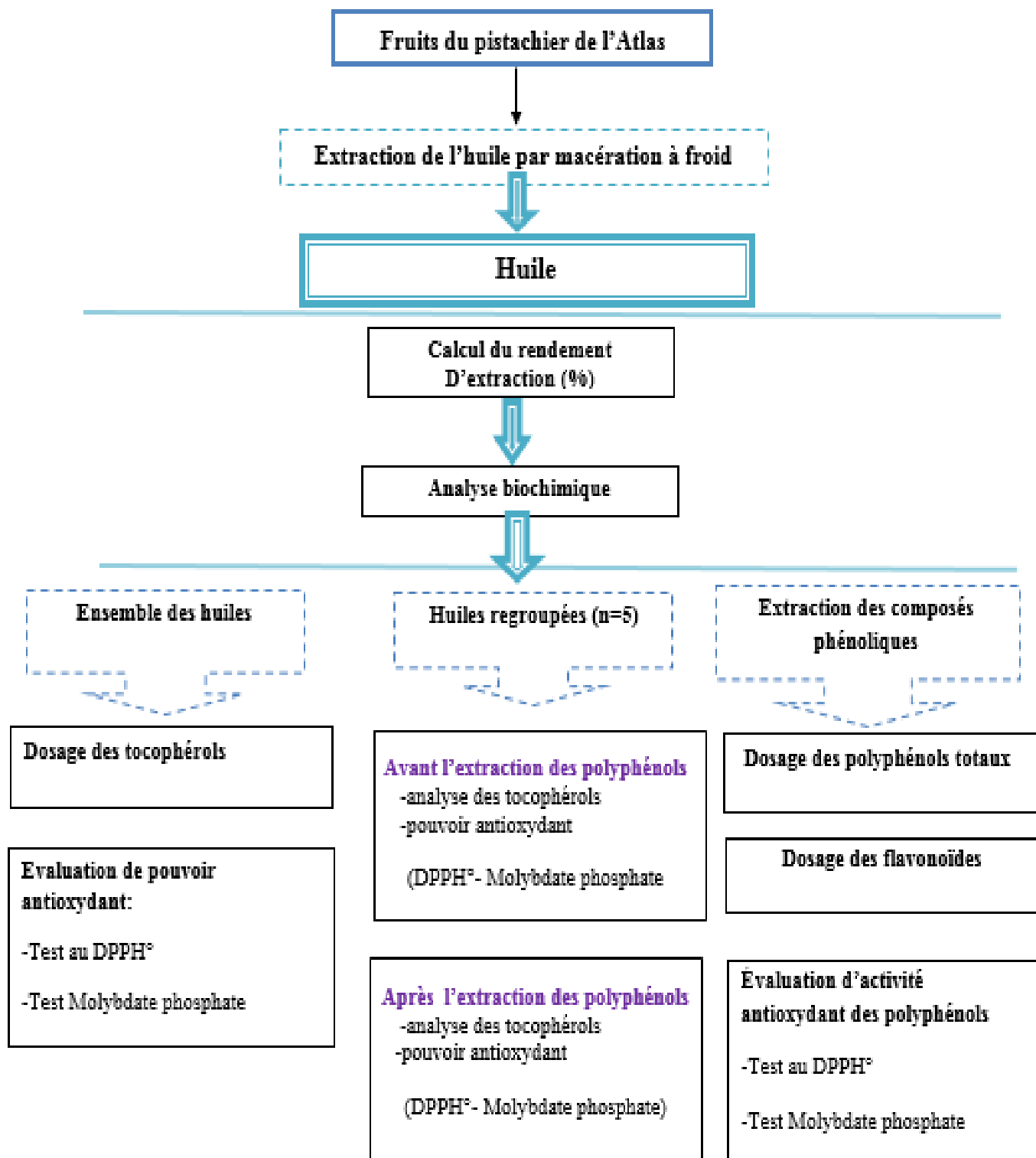


Figure 37: Organigramme de la méthodologie d'étude

I.2.2. Analyses biochimiques

I.2.2.1. Calcul du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile défini comme étant le rapport entre la masse d'extraits obtenu après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE}(\%) = \frac{M_1}{M_2} \times 100$$

Où :
R_{HE} : rendement en huile.
M₁ : masse de l'huile obtenue en g.
M₂ : masse de la prise d'essai en g.

I.3. Etudes expérimentales

Première partie (Pour l'ensemble des échantillons huileux)

I.3.1. Analyses quantitative des lipides

I.3.1.1. Dosage des tocophérols pour l'ensemble des échantillons lipidiques

Le dosage des tocophérols totaux a été effectué selon la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel

✓ Principe

Par la méthode de dosage colorimétrique, et en présence de réactif de phénantroline, les tocophérols et le fer-ferrique (Fe³⁺) qui est réduit en fer ferreux par une réaction oxydoréduction forme un complexe de couleur rouge-orangé.

✓ Protocole

On trace à partir de l' -tocophérol commercial (vitamine E la courbe d'étalonnage qui exprime la densité optique en fonction de la concentration du tocophérol en g/l.

Nous avons préparé des solutions filles ayant des concentrations bien déterminées à partir d'une solution mère de vitamine E commerciale préparée dans le butanol. On prélève 1ml de chaque solution fille plus 1ml de réactif phénantroline à 0.4%, et 0.5 ml FeCl₃ à 0.12 % dans l'éthanol. La mesure de la densité optique se fait après 5 minutes à une longueur d'onde de 510 nm.

Nous avons réalisé le dosage sur l'huile brute. Les échantillons d'huiles sont traités de la même façon.

La concentration des tocophérols dans chaque extrait a été calculée à partir des courbes d'étalonnage établies avec la vitamine E et exprimée en milligramme équivalents de vitamine E par 100 gramme d'huile (mg/Vit E/100g d'H).

I.3.2. Evaluation du pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante de l'huile extraite a été évaluée *in vitro* par deux méthodes:

- ❖ La mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH°
- ❖ Le Test Molybdate phosphate (permettant d'évaluer le pouvoir réducteur).

I.3.2.1. Test de piégeage du radical DPPH°

✓ Principe

L'activité antioxydante de nos extraits exprime leur capacité à réduire les radicaux libres. Elle est étudiée par la méthode au DPPH, ce radical libre présente une coloration violette foncée.

Lorsqu'il est piégé par les antioxydants, il apparaît sous sa forme réduite de couleur jaune pâle (Figure 38) (Molyneux, 2004).

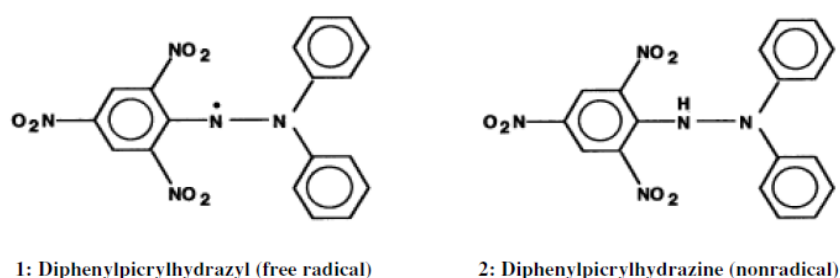


Figure 38 : Deux formes, un antioxydant et un radical libre (Molyneux, 2003).

✓ Protocole

Nous avons préparé la solution de DPPH de 250 μM dans le méthanol, 1 ml d'extrait lipidique préparé dans le butanol est ajouté à 1ml de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Expression des résultats

Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH°, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Les valeurs de l'EC50 « Efficient concentration » ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

I.3.2.2. Test Molybdate phosphate

✓ Principe

Pour la détermination quantitative de la capacité réductrice d'un antioxydant, nous avons utilisé ce test spectrophotométrique, qu'il est basé sur la réduction de Mo (VI) au Mo (V) par l'échantillon développant ainsi un complexe phosphomolybdique vert à pH acide donnant une absorbance une à 695 nm (prieto *et al.*, 1999)

✓ Protocole

Une droite d'étalonnage est tracée à partir d' -tocophérols commercial (Vitamine E), permet de relier la densité optique et la concentration en tocophérols. A partir d'une solution commerciale de la vitamine E, nous avons préparés le mélange du réactif molybdique, qui se compose d'une solution d'acide sulfurique avec une concentration de (0.6M), de phosphate sodique de concentration (0.028M) et d'une solution de molybdate d'ammonium de (0.04M).

L'analyse de molybdate phosphate est réalisée en suivant le protocole décrit comme suit :

A partir d'une solution mère de chaque huile à tester, nous avons préparé des solutions filles dans l'éthanol ayant des concentrations bien déterminées. 2 ml du réactif sont ajoutés à 200 μl de chaque solution filles, l'incubation étant réalisée à 95C° ; dans un bain-marie pendant 90 minute.

La lecture est faite à une longueur d'onde de 695 nm, après refroidissement. L'absorbance est exprimé en fonction de la concentration en huiles. Le pouvoir antioxydant de nos échantillons est exprimé en équivalent de vitamine E.

Deuxième partie (Pour les huiles regroupées au nombre de 5 avant et après extraction de polyphénols)

Avant de procéder à l'extraction des composés phénoliques, et étant donné leur nature hydrosoluble (faible rendement dans l'huile), nous avons jugé utile de regrouper les échantillons d'huile selon leur degré de maturité (Tableau8).

Tableau 8 : composition des échantillons regroupés.

Nomination	Composant en huile	Masse d'huiles regroupées (g)
I (Immature)	$C_{1\text{ imm}} + C_{2\text{ imm}} + C_{1\text{ mélange}}$	31,13
II (Mature)	$C_{1\text{ mat}} + C_{2\text{ mat}} + C_{2\text{ mélange}}$	25,27
III (Immature)	$G_{1\text{ imm}} + G_{2\text{ imm}} + G_{3\text{ imm}} + G_{1\text{ int}}$	22,74
IV (Mature)	$G_{1\text{ mat}} + G_{2\text{ mat}} + G_{3\text{ mat}} + G_{3\text{ int}}$	26,392
V (mélange)	$E_{1\text{ mélange}} + E_{2\text{ mélange}} + E_{3\text{ mélange}} + G_{2\text{ int}}$	38,88

Dans un souci de clarifier le rôle de chacun des éléments doués d'activité antioxydante, nous avons traité les 5 échantillons d'huiles regroupées de la même manière que l'ensemble des huiles décrit précédemment à savoir teneur en tocophérols totaux et activité antioxydante (DPPH et Molybdate phosphate) et ce avant et après l'extraction des composés phénoliques.

Troisième partie (extraction, dosage et activité des composés phénoliques dans l'huile)

I.3.3. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

L'extraction des polyphénols à partir des huiles a été effectuée comme suit :

L'huile dissoute dans l'hexane + mélange méthanol (80 ml) + eau distillé (20ml) v/v



Agitation magnétique / 8 h



Séparation des deux phases par décantation



Phase méthanolique



Evaporation sous pression réduite



Lavage de Phase aqueuse
par Ether de pétrole (3 fois)



Phase aqueuse récupérée + Triple extraction par l'Acétate D'éthyle



Récupérer la phase Acétate + Sulfate de Sodium Anhydre



Filtration et évaporation



Extrait phénolique obtenu + 5 ml de méthanol

Schéma d'extraction des polyphénols

I.3.4. Analyses quantitative des composés phénoliques

Le rendement en composés phénoliques défini comme étant le rapport entre la masse d'extraits obtenu après extraction et la masse des huiles regroupées de chaque échantillon.

La détermination des teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits phénoliques brutes a été faite en utilisant séparément les méthodes colorimétriques, respectivement méthode de Singleton et Ross et de Zhishen *et al.*, . La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Singleton et Ross pour chaque extrait a été rapportée en mg équivalent d'acide gallique/g du matériel végétal sec .La teneur en flavonoïdes déterminée par la méthode de Zhishen *et al.*, pour chaque extrait a été rapportée en mg équivalent de Rutine /g du matériel végétal sec (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

I.3.4.1. Dosage des phénols totaux

✓ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross (en 1965) avec le réactif de folin –Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm.

✓ Protocole

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Singleton et Ros. Une quantité de (100µl) de l'extrait est mélangée avec (0.5ml) du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué dans l'eau distillée). Après 5 minutes, 2 ml de carbonate de sodium ($Na_2 CO_3$) ont été ajoutés. L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par g d'huile. Une gamme étalon d'acide gallique à différentes concentrations a également été préparée.

I.3.4.2. Dosage des flavonoïdes

✓ Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Zhishen *et al* basée sur la complexation des flavonoïdes par l'Aluminium en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif dans cette méthode.

✓ Protocole

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium. Dans le méthanol, une quantité de 1ml de l'extrait a été mélangée avec 1ml d'une solution d' AlCl_3 à 2%. Après 20 min de repos. L'ensemble est mesuré à 409 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de rutine par g d'huile.

Une gamme étalon de la rutine (dans le méthanol) à différentes concentrations a également été préparée.

I.3.5. Évaluation de pouvoir antioxydant des polyphénols

Pour les cinq extraits phénoliques bruts obtenus, nous avons suivis les mêmes protocoles des tests cités précédemment pour les huiles à savoir le test DPPH et le test Molybdate Phosphate avec quelques modifications où le butanol et l' α -tocophérol (vitamine E) sont remplacés respectivement par l'eau distillée et l'acide ascorbique (vitamine C)

I.4. Analyse statistique des données

Nous avons utilisé le test de Student (échantillons inférieurs à 30) pour la comparaison des moyennes. Nous avons également recherché d'éventuelles corrélations entre les paramètres testés.

Première partie

II.1. Etude de l'ensemble des échantillons lipidiques

Notre série d'étude comprend 21 échantillons répartis en deux groupes. 13 échantillons de maturité différente (obtenus après tri) et 8 autres échantillons où chacun est constitué d'un mélange de graines de différents degrés de maturité.

Il est primordial de justifier le choix de ces derniers échantillons dont la composition est donnée dans le tableau 9 (excepté le E). Ils ont été obtenus par la prise, au hasard, de 50 à 100g de fruits (par arbre et par cueillette) avant l'opération de tri. Le pourcentage des graines mures, immatures ou intermédiaires est estimé approximativement sur la base des fruits triés.

Ces mélanges ont été inclus dans l'étude par souci de suivre la variation des paramètres étudiés selon la date de la récolte quelque soit la couleur de la graine. Ceci pourrait fournir des informations utiles sur ces mélanges d'autant plus que la cueillette, par la population, est, en général, aléatoire. En outre, le fastidieux travail de tri selon la couleur, graine par graine, ne serait pas pratique dans le cas de grandes quantités de fruits.

Tableau 9 : Pourcentage des graines mures, immatures et intermédiaires estimé approximativement sur la base des fruits triés.

Echantillon	C ₁	C ₂	G ₁	G ₂	G ₃
Graines immatures	≈25%	≈47%	≈24%	≈23%	≈21%
Graines intermédiaires	-	-	≈48%	≈54%	≈60%
Graines mures	≈75%	≈53%	≈28%	≈23%	≈19%










Pour l'arbre E, et puisque nous avons travaillé d'emblée sur des mélanges cueillis directement, nous ne disposons pas de la composition en fruits mures, immatures et intermédiaires.












II.1.1. Caractéristiques des huiles extraites et rendement

Les huiles acquises ont une couleur jaune claire pour les fruits matures, et une couleur verte foncée pour les fruits immatures. Ces dernières huiles ont une odeur fortement agréable et piquante et se gélifient partiellement à température ambiante.

Le Tableau 10 récapitule les caractéristiques de nos échantillons d'huile. Il en ressort une variation du rendement selon, notamment, le stade de maturation. C'est ainsi que les teneurs d'huile varient de 03,07% (échantillon immature) à 56,16% (échantillon mature).

Tableau 10 : Couleur et la teneur d'huile des fruits de pistachier de l'Atlas.

Échantillons	C1 mat	C1 imm	C1 mél	C2 mat	C2 mél	C2 imm	G1 int	G1 imm	G1 mat	G1 mél
Huile										
Couleur	Jaune blé	Vert olive	Jaune canari	Jaune blé	Jaune canari	Vert caca d'oe	Jaune bouton d'or	Vert olive	Jaune blé	Jaune auréolin
Poids de l'Echantillon (g)	50.01	52.76	49.19	50.02	48.12	81.68	100.06	101.86	50.31	97.83
Poids de L'huile (g)	27.0446	16.4885	26.1875	28.0927	23.2583	22.6149	18.9612	08.5251	14.7493	18.509
Teneur(%)	54.07	31.25	53.23	56.16	28.47	27.68	18.94	08.36	29.31	18.91

Échantillons	E 1 mél	E2 mél	G2 int	G2 mat	G2 imm	G2 mél	E3 mél	G3 int	G3 mél	G3 mat	G3 imm
Huile											
Couleur	Jaune canari	Jaune canari	Jaune bouton d'or	Jaune impérial	Vert pistache	Jaune bouton d'or	Jaune canari	Jaune bouton d'or	Jaune canari	Jaune blé	Vert kiwi
Poids de l'Echantillon (g)	49.84	48.85	100.14	50.51	72.21	50	48.93	100.63	94.12	50.13	69.87
Poids de L'huile (g)	10.9583	12.2752	13.6596	7.0808	2.2195	14.3428	9.1665	14.4684	26.5322	10.7380	3.0814
Teneur(%)	21.98	25.12	13.64	14.01	03.07	28.68	18.73	14.37	28.18	21.42	04.41

Selon des études antérieures effectuées par l'équipe du Pr Yousfi (Yousfi *et al.*, 2003), le rendement, par la technique d'extraction au soxhlet, est de 52 % pour des fruits matures. L'extraction par macération à froid a en général un rendement inférieur par rapport à l'extracteur soxhlet (Bellakhdar et Bentireche, 2013).

La variation du rendement d'extraction des huiles à partir des fruits du Pistachier de l'Atlas pour les deux groupes est sur les figures 39 et 40.

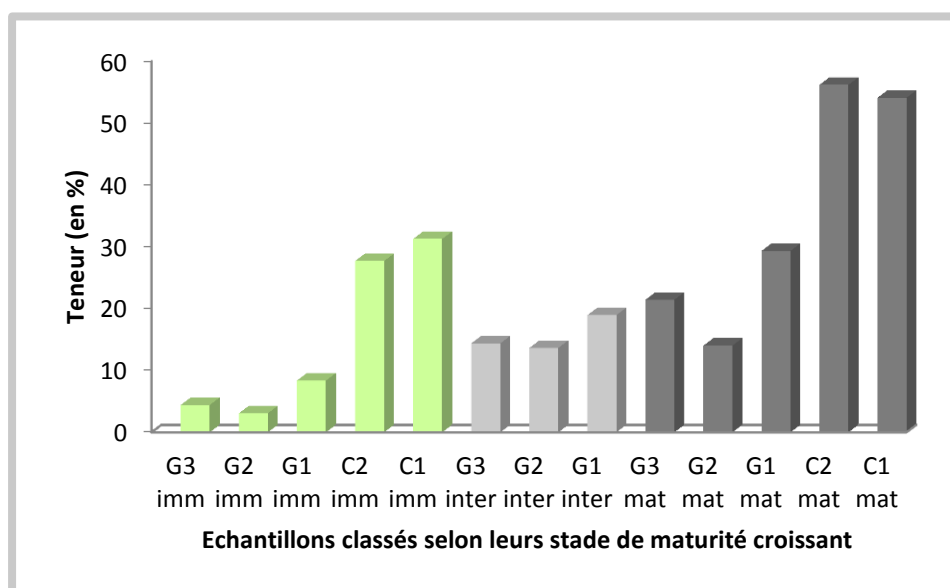


Figure 39 : Variation du rendement d'extraction des huiles à partir des fruits du Pistachier de l'Atlas selon un degré de maturité croissant.

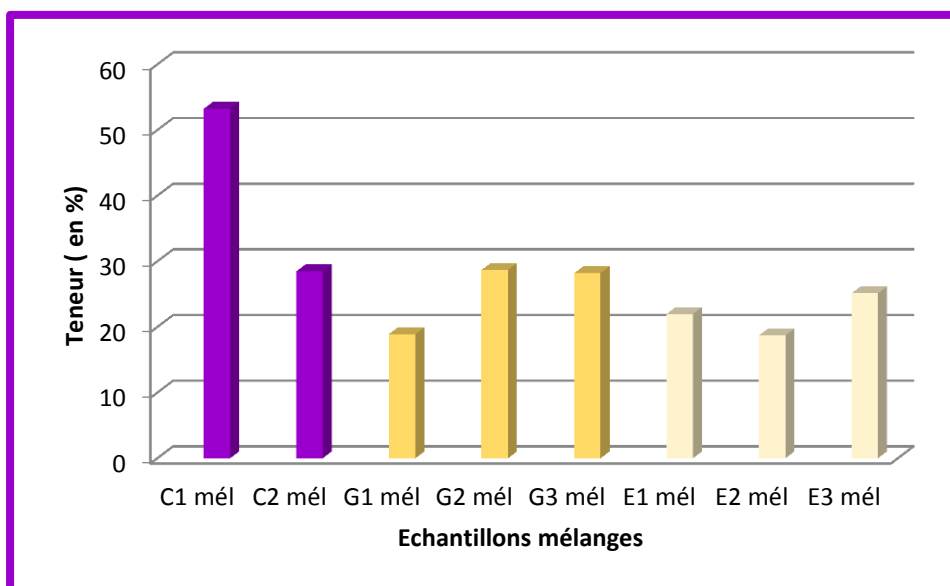


Figure 40 : Variation du rendement d'extraction pour les 8 échantillons mélanges issues des différents arbres C,G et E. Classés selon l'ordre chronologique des cueillettes.

Dans la figure 39, les fruits sont classés selon le stade de maturation déduit à partir de la couleur des graines. Par contre, ceux de la figure 40 l'ont été selon l'ordre chronologique de la cueillette.

Nous y distinguons un rendement assez appréciable pour les échantillons immatures C1 et C2. Ceci pourrait être expliqué par l'endroit géographique ou par un processus de maturation accéléré. Nous nous demandons s'il s'agissait de graines de maturité intermédiaire ? Ce constat pourrait être étayé par le rendement élevé du mélange C1 cueillis à la mi août dominé par des graines matures (Figure 40 et Tableau 10).

La différence entre les mélanges C1 et C2 serait due aux conditions aléatoires de la cueillette.

II.1.2. Taux des tocophérols totaux :

La teneur en tocophérols totaux de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure 41), et exprimée en milligrammes par 100 gramme d'huile en équivalent de vitamine E. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 11.

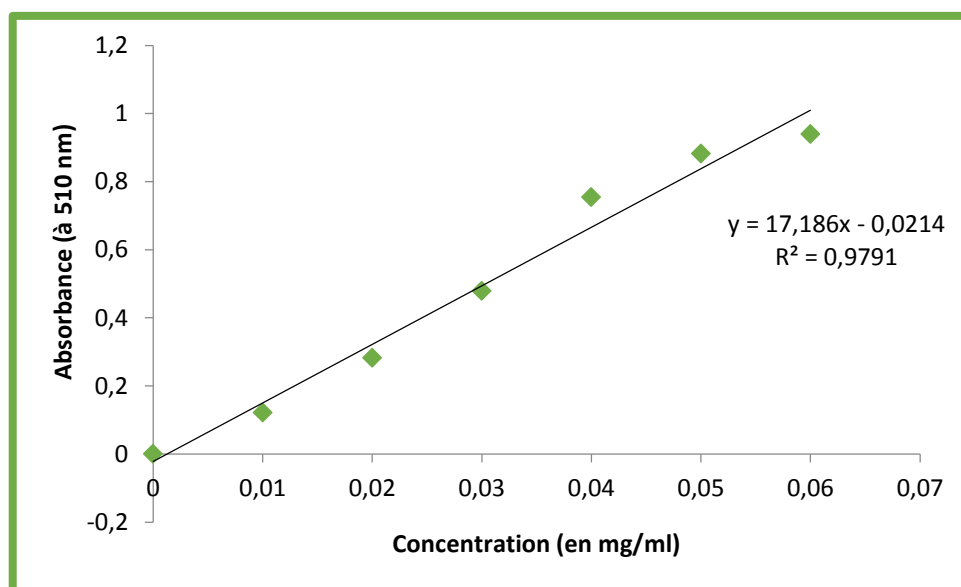


Figure 41 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E.

Tableau 11 : Teneurs en tocophérols totaux pour les extraits lipidiques des fruits de maturité différente.

Echantillons immatures	C _{1 imm}	C _{2 imm}	G _{1 imm}	G _{2imm}	G _{3imm}	Moyenne	Ecart type
Teneur (mg/100g)	101,76	84,78	93,85	133,82	119,39	106,72	19,78
Echantillons intermédiaires			G _{1 inter}	G _{2 inter}	G _{3 inter}		
Teneur (mg/100g)			104,03	105,35	99,34	102,91	
Echantillons mures	C _{1 mat}	C _{2mat}	G _{1mat}	G _{2mat}	G _{3mat}		
Teneur (mg/100g)	70,64	79,72	117,48	89,75	94,24	90,37	17,69

Tableau 12 : Teneurs en tocophérols totaux pour les échantillons mélanges.

Echantillons mélanges	C _{1mél}	C _{2mél}	G _{1mél}	G _{2mél}	G _{3mél}	E _{1mél}	E _{2mél}	E _{3mél}
Teneur (mg/100g)	76,46	82,40	199,05	105,93	83,98	148,13	107,22	114,33

D'une manière globale, nous remarquons que la teneur en tocophérols totaux dans les extraits des fruits immatures est plus importante par rapport à celle dans les extraits des fruits matures.

Pour les fruits immatures, les teneurs en tocophérols totaux sont entre 84,78 et 133,82mg/100g, et pour les fruits matures, elles sont entre 70,64 et 117,48 mg/100g. Les teneurs de fruits intermédiaires sont comprises entre celles des échantillons immatures et celles des échantillons matures.

Bien qu'il y ait une différence entre les fruits matures et immatures, le test de Student indique qu'elle n'est pas significative. Ceci pourrait être expliqué par l'hétérogénéité des échantillons testés (arbres différents et d'emplacements géographiques différents). Cette situation a augmenté l'étendu de la série, notamment pour les fruits immatures (étendu de 49,04mg/g). Il est important de noter que les huiles des fruits de l'arbre G sont plus riches en tocophérols par rapport à l'arbre C et ce pour les graines matures et immatures. G se distingue de C par l'emplacement géographique et surtout par la couleur des graines matures, respectivement vert et noir. Ainsi, les fruits verts semblent contenir plus de tocophérols par rapport aux fruits noirs et ce pour les différents stades de maturation. Ce constat mérite de plus amples recherches.

La diminution de la teneur en tocophérols selon l'ordre chronologique des cueillettes est très évidente pour les échantillons mélanges de l'arbre G et, à moindre degré, l'arbre E (tableau 12). Ainsi, les fruits seraient d'autant plus riches en tocophérols que leur cueillette est précoce.

En comparant les résultats de la présente étude avec ceux de la littérature, nous constatons que les graines du Pistachier de l'Atlas sont relativement riches en matières grasses, et sont bien classées parmi les graines oléagineuses, plus riche en tocophérols par rapport aux autres huiles végétales alimentaires telles que l'huile de tournesol (67 mg/100g) et l'huile d'olive (20 mg/100g) (Karleskind, 1992).

La figure 42 souligne que les teneurs en lipides et en tocophérols totaux représenteraient un caractère spécifique selon le degré de maturation. Ainsi, plus la teneur en huile augmente moins elle est riche en tocophérols.

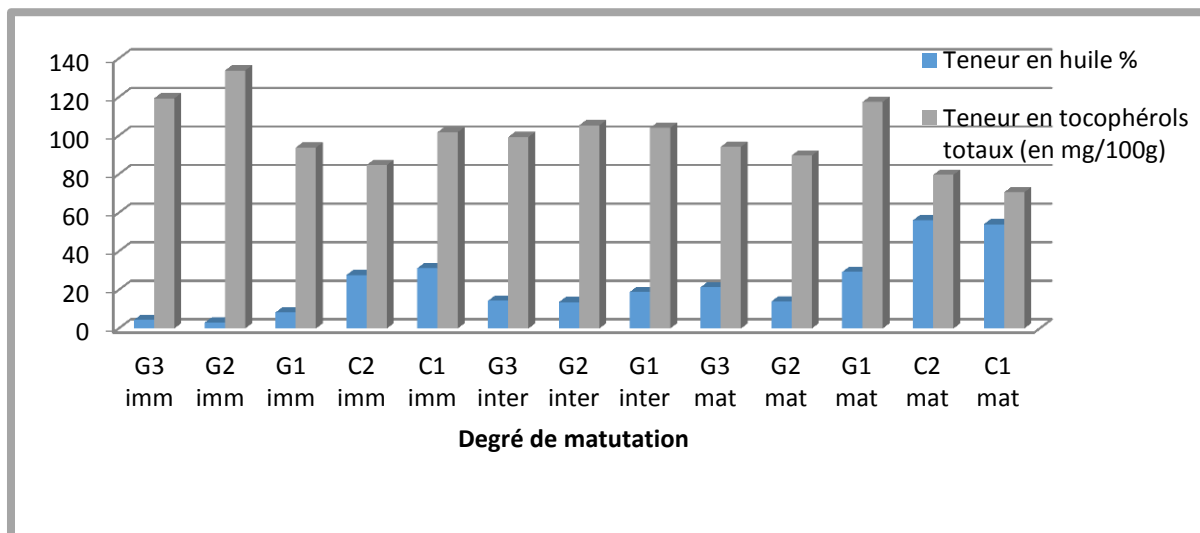


Figure 42: Comparaison entre les teneurs en lipide et en tocophérols totaux selon différents degré de maturation.

II.1.3. Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles des fruits du Pistachier de l'Atlas

II.1.3.1. Test de piégeage d'un radical libre le DPPH

Le graphe ci-dessous représente le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en antioxydant. Dans ce cas, nous avons utilisé la vitamine E commerciale comme antioxydant de référence (Packer *et al.*, 2001).

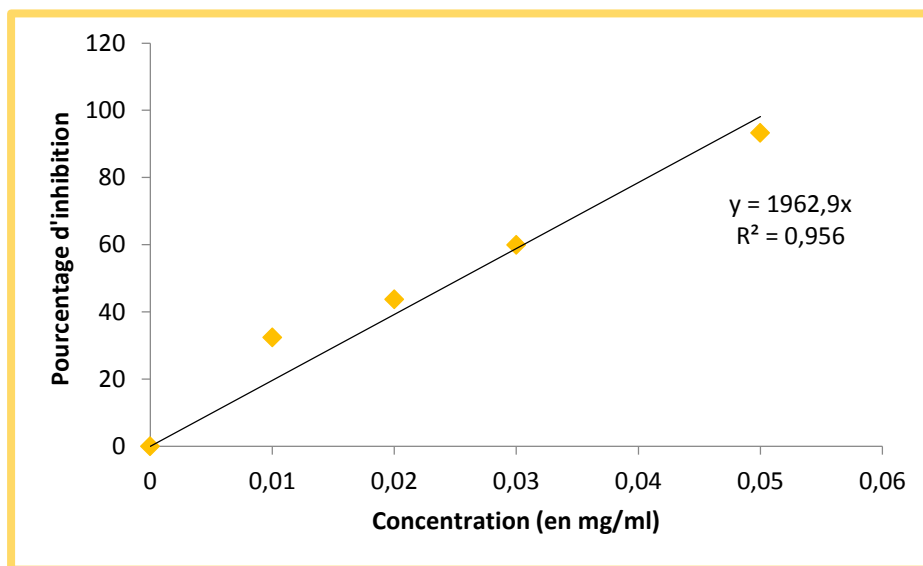


Figure 43 : Graphe représentant l'activité antioxydant de la vitamine E par le test du DPPH.

La valeur d'EC₅₀ représente la concentration d'inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour neutraliser 50% du taux des radicaux libres. Afin de déterminer cette valeur pour chaque extrait, les courbes de la variation du pouvoir d'inhibition I% en fonction de la concentration en lipides sont établies dans les figures 44,45,46.

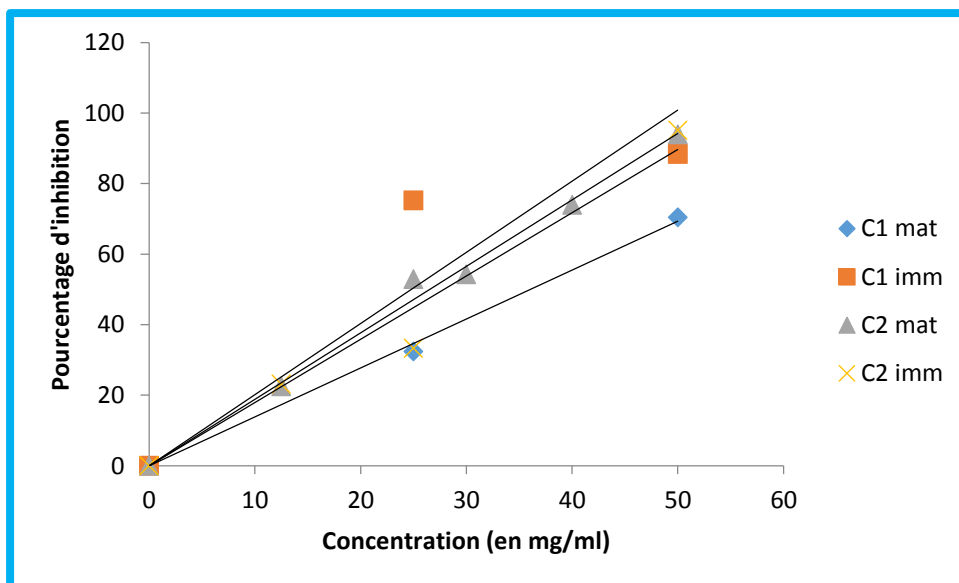


Figure 44 : Graphe représentant l'activité anti oxydante des extraits lipidique des fruits, de maturité différente, cueillies du même arbre C, par le test du DPPH.

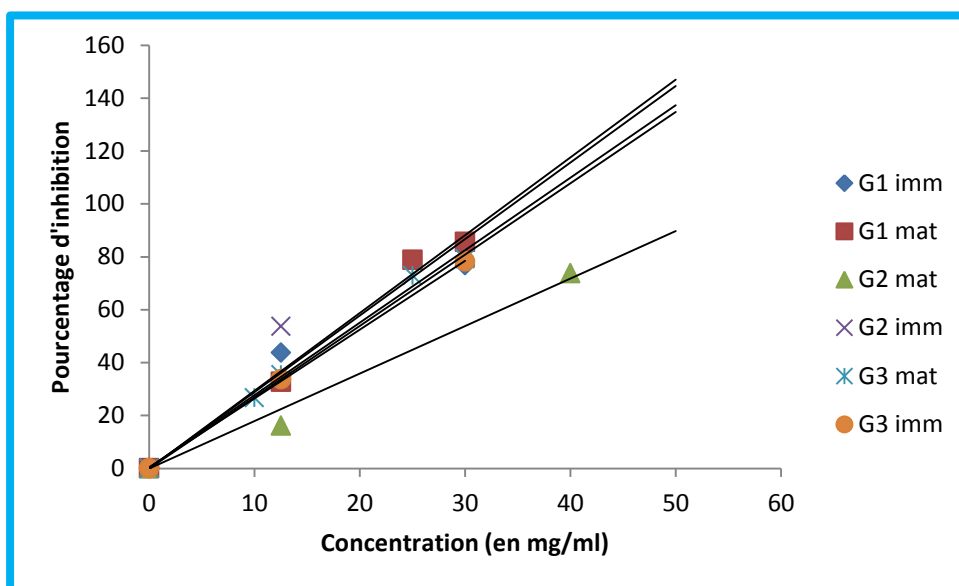


Figure 45 : Graphe représentant l'activité anti oxydante des extraits lipidique des fruits, de maturité différente, cueillies du même arbre G, par le test du DPPH.

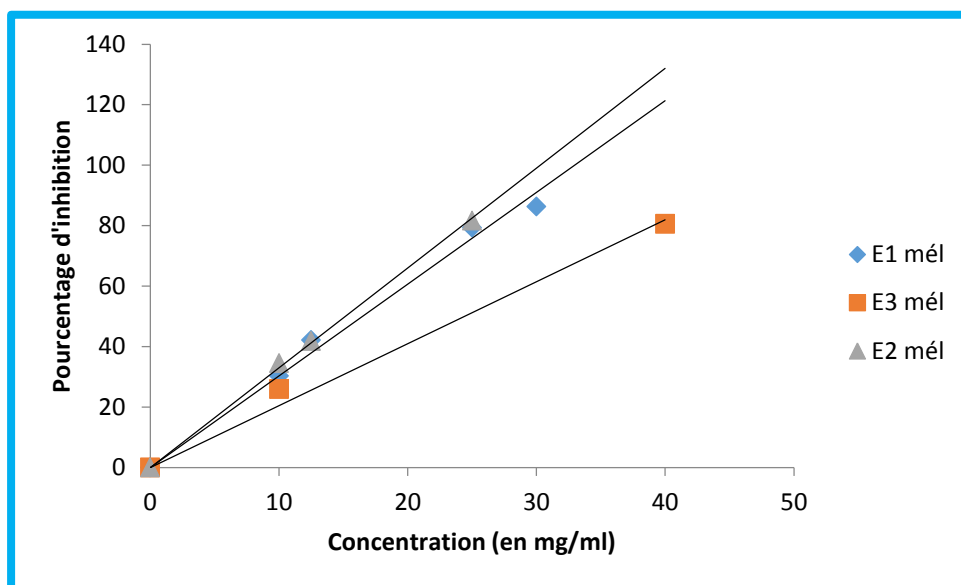


Figure 46 : Graphe représentant l'activité anti oxydante des extraits lipidiques des fruits, des mélanges, cueillis du même arbre E, par le test du DPPH.

Les trois graphes détaillent la variation de l'activité anti oxydante des extraits lipidiques des fruits, de maturité différente, cueillies des différents arbres, par le test du DPPH. Nous relevons, globalement, que les huiles des fruits immatures recèlent le pouvoir antioxydant le plus marqué, traduit par un EC_{50} réduit. Le tableau 13 regroupe les valeurs d' EC_{50} de nos extraits, calculées à partir des courbes tracées dans les figures 44 et 45,46.

Tableau 13 : Valeurs de l' EC_{50} calculé pour les différents extraits lipidiques des fruits de maturité différente lors du test DPPH.

Echantillons immatures	$C_{1\text{ imm}}$	$C_{2\text{ imm}}$	$G_{1\text{ imm}}$	$G_{2\text{ imm}}$	$G_{3\text{ imm}}$	Moyenne	Ecart type
EC_{50} (mg/ml)	24,799	25,493	18,543	17,299	19,086	21,044	3,808
Echantillons intermédiaires			$G_{1\text{ inter}}$	$G_{2\text{ inter}}$	$G_{3\text{ inter}}$		
EC_{50} (mg/ml)			28,498	20,671	17,371	22,18	
Echantillons matures	$C_{1\text{ mat}}$	$C_{2\text{ mat}}$	$G_{1\text{ mat}}$	$G_{2\text{ mat}}$	$G_{3\text{ mat}}$		
EC_{50} (mg/ml)	36,07	26,53	17,002	27,872	18,158	25,126	7,807

Tableau 14 : Valeurs de l'EC50 calculé pour les échantillons mélanges lors du test DPPH.

Echantillons mélanges	C _{1mél}	C _{2mél}	G _{1mél}	G _{2mél}	G _{3mél}	E _{1mél}	E _{2mél}	E _{3mél}
EC ₅₀ (mg/ml)	25,938	24,864	20,352	13,387	17,247	16,486	15,151	24,4

Le test de Student indique que la différence de l'activité anti oxydante entre les deux groupes matures et immatures mentionnée dans le tableau 13 n'est pas significative. Ceci serait dû aux mêmes raisons que pour les tocophérols. Ainsi, ici aussi, les huiles des graines vertes sont plus actives que celles des graines noires.

Pour les échantillons mélanges, la diminution de l'activité anti radicalaire en fonction de l'ordre chronologique de la cueillette est beaucoup plus marquée pour les fruits de l'arbre E. Ainsi les fruits seraient doués d'autant plus actifs qu'ils sont cueillis précocement.

II.1.3.1.1. Relation entre teneur en tocophérols et pouvoir anti radicalaire

Nous avons essayé de trouver une éventuelle corrélation entre les valeurs d'EC50 et les teneurs en tocophérols totaux. Cette approche relative étant donnée la nature brute de l'huile, mais elle nous permettrait quand même de déceler une éventuelle association entre ces deux paramètres. Le résultat est mentionné sur la figure 47.

En considérant que nous avons affaire à une régression linéaire simple, notre coefficient de corrélation (r) serait la racine carrée du coefficient de détermination (R^2) et de ce fait il égale à - 0,70 (corrélation négative). C'est une valeur assez importante indiquant l'existence d'une relation entre la teneur en tocophérols et le pouvoir anti radicalaire. Ainsi, plus l'extrait lipidique est riche en ces derniers plus l'EC 50 diminue et plus l'extrait est antioxydant (Podda *et al.*, 1996). Cette relation est moins évidente pour les mélanges ($r = 0,45$), (figure 47).

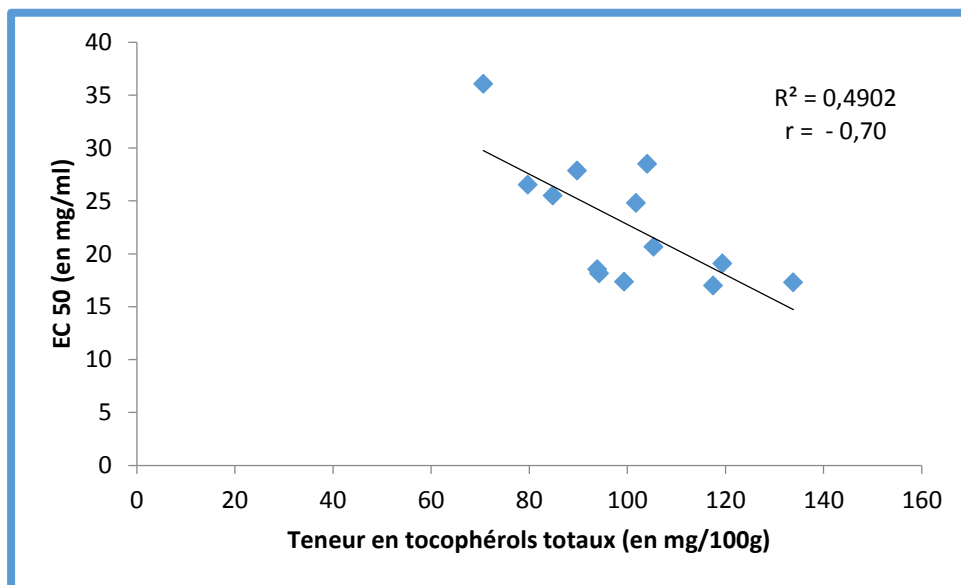


Figure 47 : Corrélation entre les valeurs du pouvoir d'inhibition (exprimé en EC50) et les teneurs en tocophérols totaux d'extraits lipidiques exceptés des mélanges.

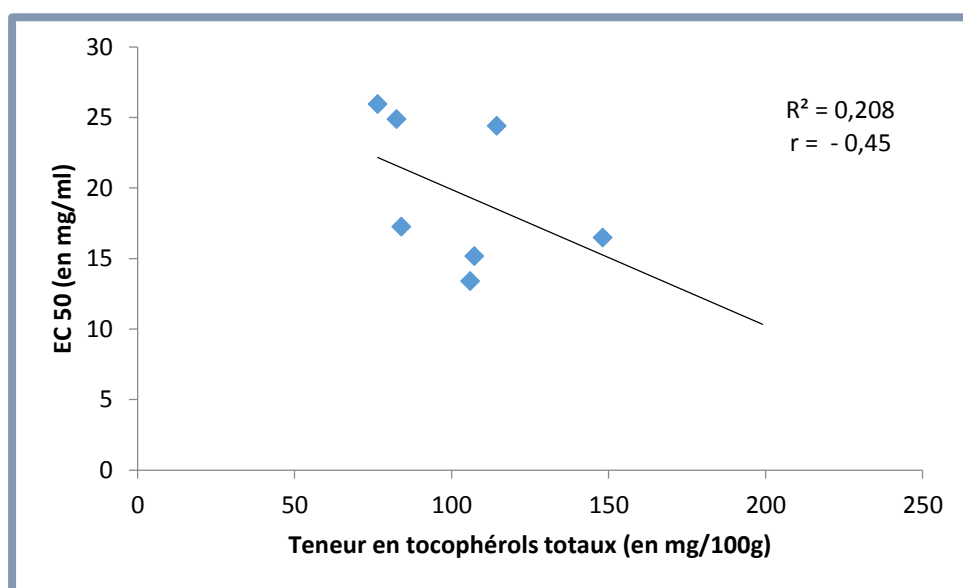


Figure 48 : Corrélation entre les valeurs du pouvoir d'inhibition (exprimé en EC50) et les teneurs en tocophérols totaux d'extraits mélanges.

II.1.3.2. Test Molybdate Phosphate

Ce test nous permet d'évaluer le pouvoir réducteur de nos extraits. Pour cela, nous avons utilisé la vitamine E comme référence (figure 49). Il est à noter que, pour des contraintes de temps, nous nous sommes limités à quelques échantillons représentatifs. L'activité antioxydante de nos extraits est déterminée en capacité équivalente à la Vitamine E. Les résultats sont présentés dans les tableaux 15 et 16.

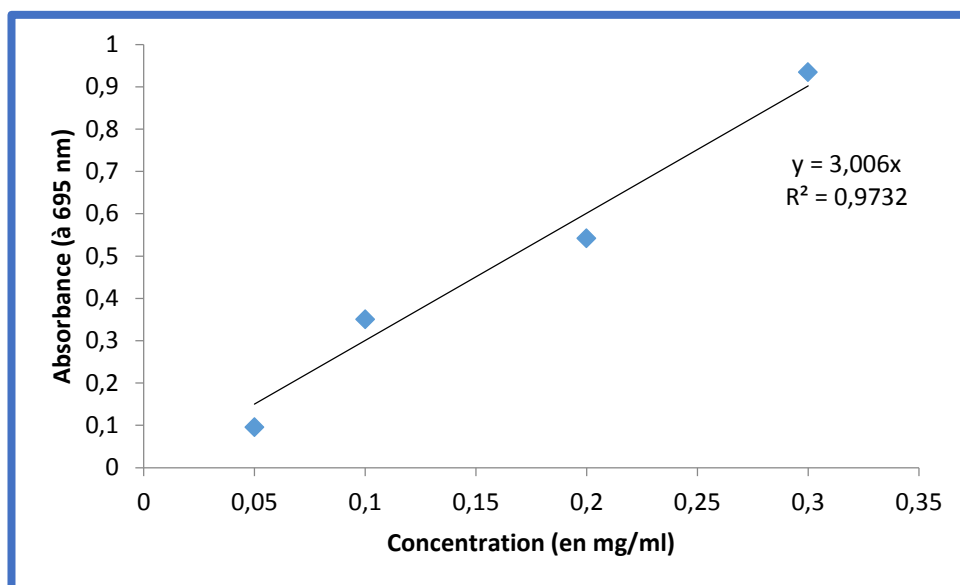


Figure 49 : Graphe représentant l'activité antioxydant de la vitamine E par le test du molybdate phosphate.

Tableau 15 : Résultats du test Molybdate Phosphate pour quelques échantillons représentatifs.

Echantillons immatures	C _{1 imm}	C _{2 imm}	G _{1 imm}	G _{2 imm}	G _{3 imm}	Moyenne	Ecart type
Capacité équivalente (mg/g)	-	9,795	-	-	12,242	11,018	1,730
Echantillons intermédiaires			G _{1 inter}	G _{2 inter}	G _{3 inter}		
Capacité équivalente (mg/g)			-	9,421	8,0372	8,729	
Echantillons matures	C _{1 mat}	C _{2 mat}	G _{1 mat}	G _{2 mat}	G _{3 mat}		
Capacité équivalente (mg/g)	5,908	4,391	8,027	-	9,115	6,860	2,117

Tableau 16 : Résultats du test Molybdate Phosphate pour les échantillons mélanges.

Echantillons mélanges	C _{1mél}	C _{2mél}	G _{1mél}	G _{2mél}	G _{3mél}	E _{1mél}	E _{2mél}	E _{3mél}
Capacité équivalente (mg/g)	4,590	8,675	-	-	4,963	-	10,432	8,223

Nous remarquons d'après ces résultats que la capacité équivalente dans les extraits des fruits immatures est plus importante par rapport à celle dans les extraits des fruits matures.

Pour les fruits immatures : les capacités équivalentes varient entre 9,795 et 12,242mg/g, et pour les fruits matures : sont entre 4,391 et 9,115 mg/g. Les capacités équivalentes des fruits intermédiaires sont comprises entre celles des échantillons immatures et celles des échantillons matures.

En se basant sur les résultats obtenus, nous remarquons que les huiles des fruits immatures possèdent une activité anti oxydante significativement plus élevée par rapport à celles des fruits matures ($p < 0,05$).

Nous avons tenté de rechercher une corrélation entre le pouvoir réducteur des extraits lipidiques et la teneur en tocophérols totaux. La variation des valeurs de la capacité équivalente pour chaque extrait en fonction du contenu en tocophérols totaux est représentée dans la figure 50.

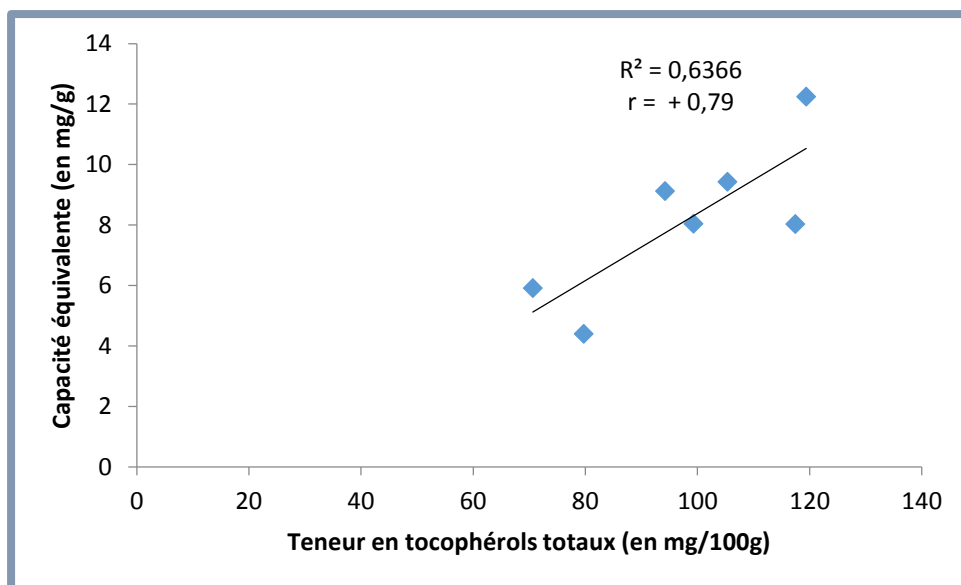


Figure 50 : Corrélation entre teneur en tocophérols totaux et le pouvoir réducteur, exprimé en capacité équivalente en Vitamine E (mg/g), d'extraits lipidiques exceptés des mélanges.

D'après ce résultat, nous remarquons une association assez importante entre les valeurs de capacité équivalente et les teneurs en tocophérols totaux avec un coefficient de corrélation estimé de 0,79. Cette association est moins évidente pour les échantillons mélanges ($r = 0,70$) (Figure 51)

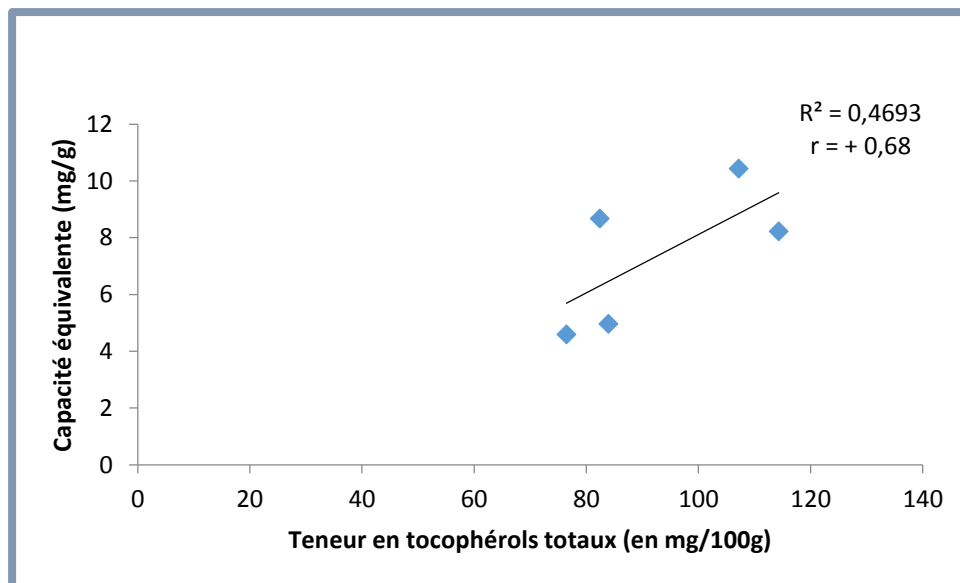


Figure 51 : Corrélation entre teneur en tocophérols totaux et le pouvoir réducteur, exprimé en capacité équivalente en Vitamine E (mg/g), d'extraits des mélanges.

Deuxième partie

II.2. Analyse biochimique de la fraction lipidique avant et après extraction des composés phénoliques

Nous avons procédé au dosage des tocophérols totaux, à l'évaluation du pouvoir antioxydant, par les deux tests sus cités, pour les 5 échantillons d'huiles regroupées et ce avant et après l'extraction des composés phénoliques. Les résultats sont récapitulés dans le tableau 17.

Nous remarquons avec intérêt des différences notables notamment en ce qui concerne l'activité antioxydante. En effet, cette dernière se voit diminuer après l'extraction des polyphénols indiquant qu'elle serait due à la fois à la présence de tocophérols et de composés phénoliques et, peut être d'autres composés. Nous relevons également que la variation des paramètres étudiés selon le degré de maturité reste inchangée avant et après extractions des polyphénols (Tableau 17 et les figures 52 et 53).

Tableau 17 : Comparaison entre les teneurs en tocophérols, les pouvoirs d'inhibitions et les pouvoirs réducteurs, avant et après extraction des polyphénols.

Echantillon	Lipides avant extraction phénolique			Lipides après extraction phénolique		
	Teneur en tocophérols (mg/100g)	EC ₅₀ (mg/ml)	Capacité équivalente (mg/g)	Teneur en tocophérols (mg/100g)	EC ₅₀ (mg/ml)	Capacité équivalente (mg/g)
I (immature)	101,123	20,330	13,013	130,172	22,665	8,835
II (mature)	84,044	21,733	1,633	104,104	26,536	1,383
III (immature)	119,532	19,697	15,302	133,497	22,240	10,179
IV (mature)	103,495	21,228	3,140	103,506	25,455	2,262
V (mélange)	102,830	19,755	5,455	133,730	22,972	3,779
Moyenne	102,205	20,548	7,709	121,002	23,974	5,288
Ecart type	12,582	0,903	6,096	15,762	1,902	3,974

Les résultats obtenus avec cette série d'expériences confirment en partie ce qui a été obtenu pour la première série (21 échantillons) notamment en ce qui concerne les graines de couleur noire (I et II) et celles de couleur verte (III et IV).

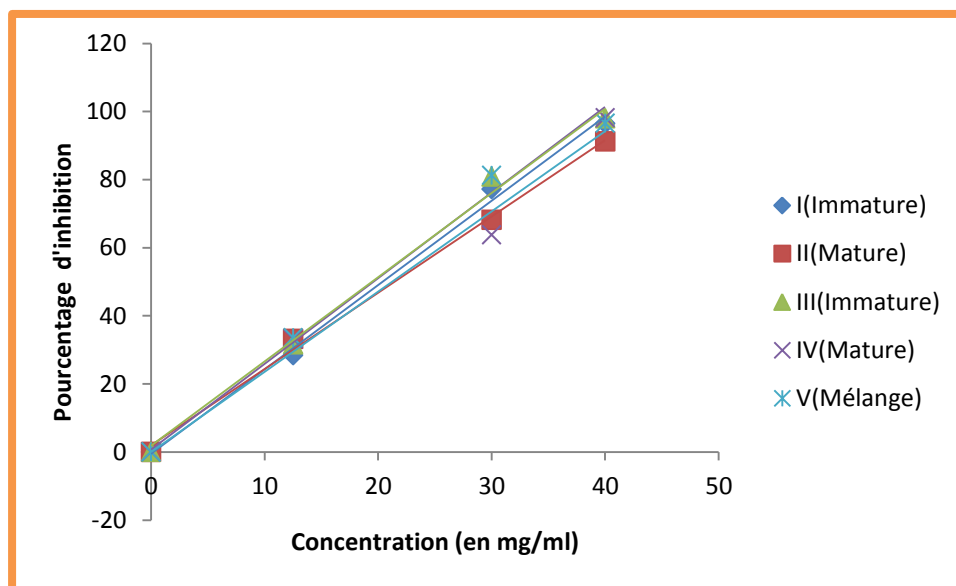


Figure 52 : Graphe représentant l'activité anti oxydante des 5 échantillons d'huiles regroupées, par le test du DPPH, avant l'extraction des polyphénols.

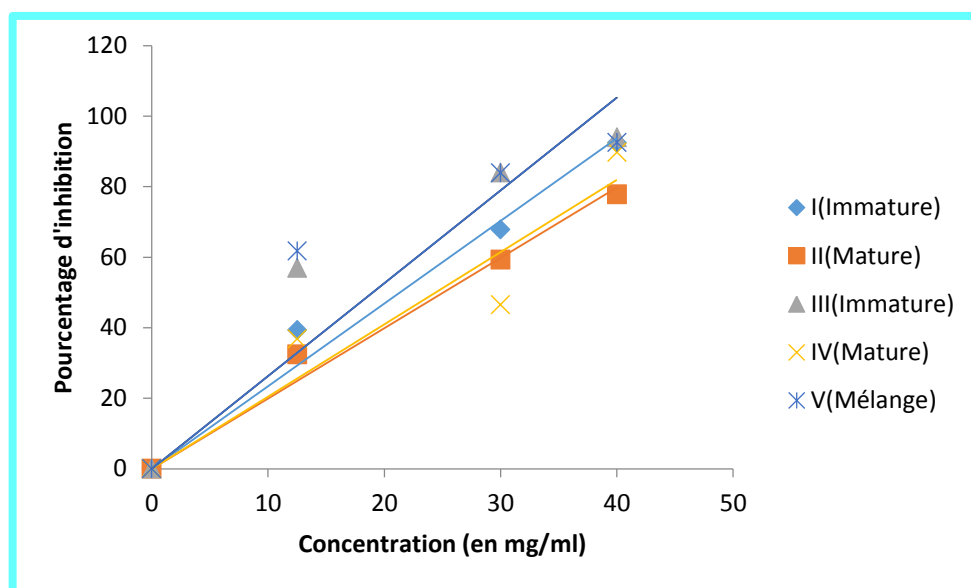


Figure 53 : Graphe représentant l'activité anti oxydante des 5 échantillons d'huiles regroupées, par le test du DPPH, après l'extraction des polyphénols.

II.2.1. Relation entre teneur en tocophérols et pouvoir antioxydant

Les graphes 54, 55, 56 et 57 montrent une variation de l'intensité de liaisons entre teneurs en tocophérols et pouvoir antioxydant notamment le pouvoir anti radicalaire estimé par le test de DPPH. Ainsi le coefficient de corrélation déduit passe de 0,78 à 0,96. Un tel résultat indique que les tocophérols présents sont maintenant les plus impliqués dans l'activité antioxydante après enlèvement des polyphénols, ce qui en parfait accord avec les résultats du tableau 17.

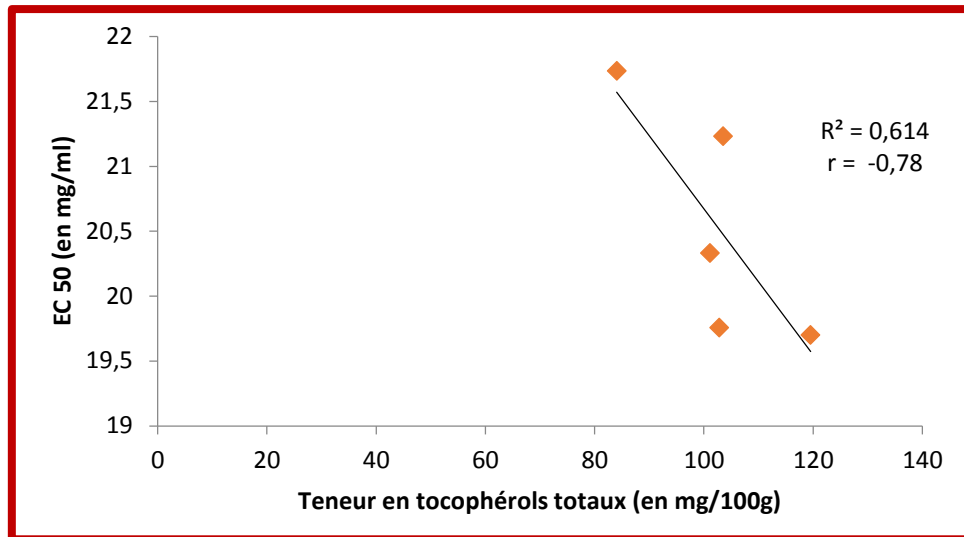


Figure 54 : Corrélation entre le pouvoir d'inhibition (EC_{50}) des lipides et la teneur en tocophérols totaux, avant l'extraction des polyphénols.

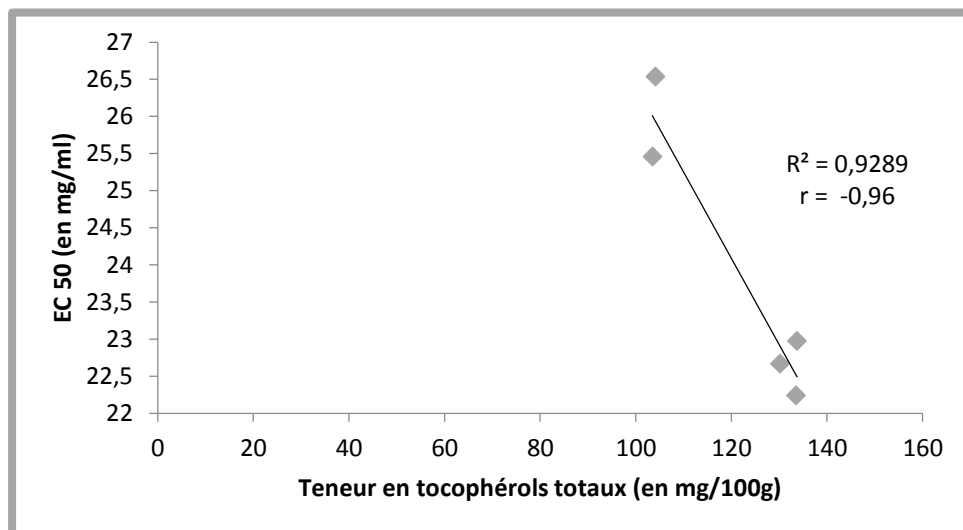


Figure 55 : Corrélation entre le pouvoir d'inhibition (EC_{50}) des lipides et la teneur en tocophérols totaux, après l'extraction des polyphénols.

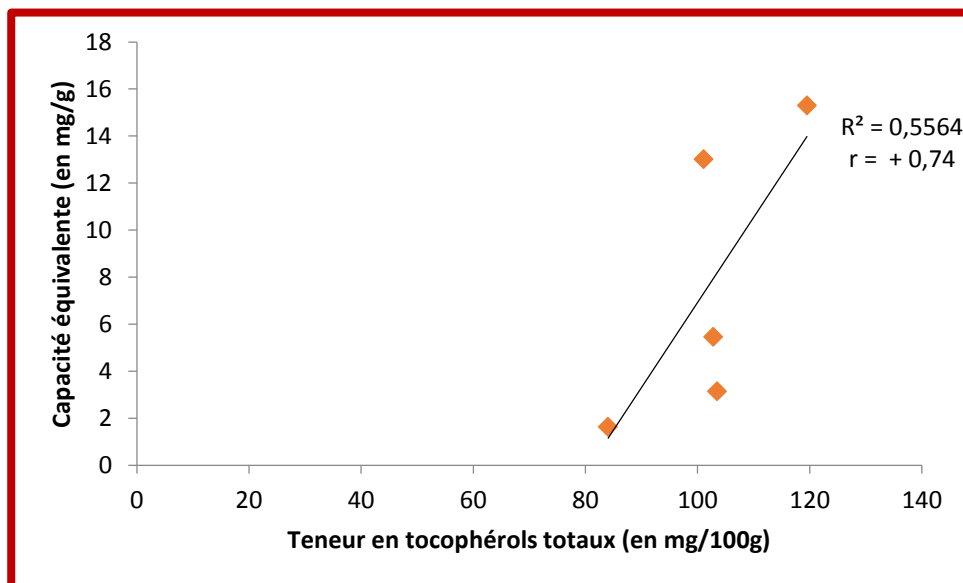


Figure 56 : Corrélation entre la capacité équivalente des lipides et la teneur en tocophérols totaux, avant l'extraction des polyphénols.

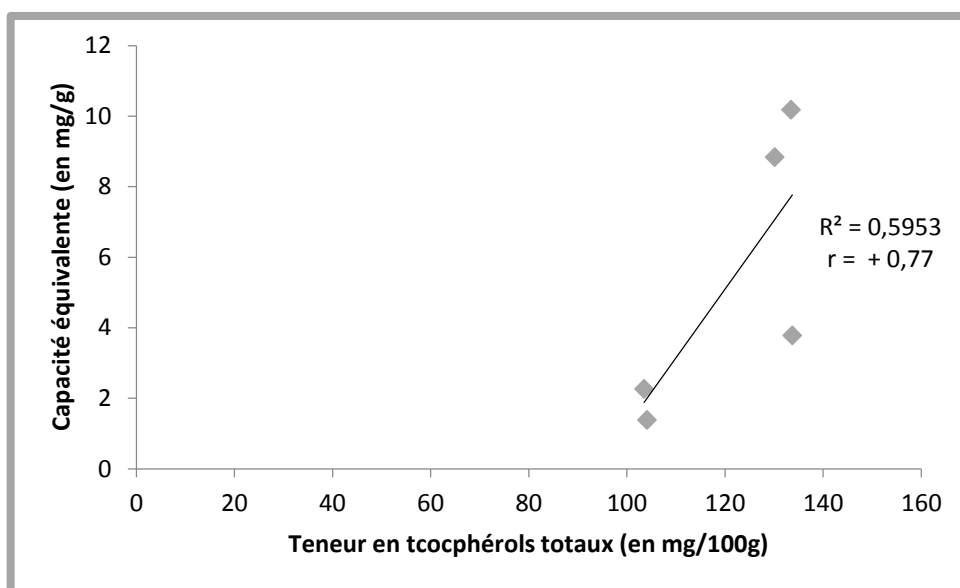






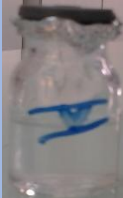
Figure 57: Corrélation entre la capacité équivalente des lipides et la teneur en tocophérols totaux, après l'extraction des polyphénols.

II.3. Extraction des composés phénoliques

II.3.1. Rendement de l'extrait phénolique brut

La masse de l'extrait phénolique obtenu est assez appréciable vu sa nature hydrosoluble. Elle varie, selon notamment, le degré de maturation. En effet, les rendements les plus élevés sont obtenus avec les extraits immatures mélangés. Tableau 18 et figure 58.

Tableau 18: Masses, rendement, concentrations des extraits phénoliques bruts des huiles des fruits de pistachier de l'Atlas.

Echantillon	Extrait	Poids de l'échantillon huileux (g)	Masse de l'extrait phénolique brut (g)	Rendement %	Concentration de l'extrait brut g/ml
I (immature)		31,13	0,3132	1,006	0.062
II (mature)		25,27	0,1819	0,719	0.036
III (immature)		22,74	0,2612	1,148	0.052
IV (mature)		26,392	0,0856	0,324	0.017
V (mélange)		38,88	0,1405	0,361	0.028

La figure ci-dessous montre la variation de la teneur en extrait phénoliques selon le degré de maturité.

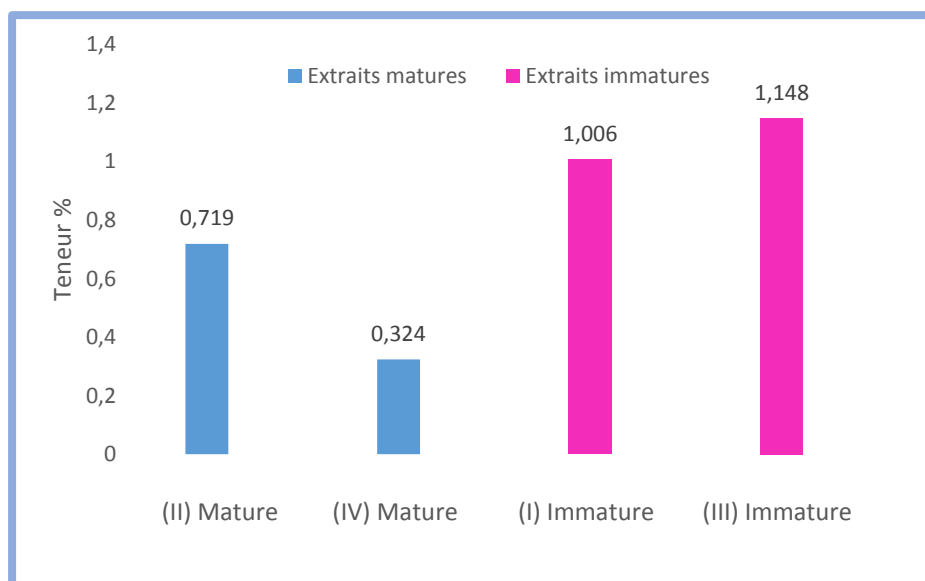


Figure 58: Variation du teneur en extrait phénoliques brut à partir des huiles des fruits du Pistachier de l'Atlas.

II.3.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les composés phénoliques avaient déjà fait l'objet d'études au niveau des tourteaux des fruits du Pistachier de l'Atlas (Yousfi *et al.*, 2006). Dans la littérature, il n'y a que Saber-Tehrani qui a rapporté la présence de composés phénoliques dans les huiles (Saber-Tehrani *et al.*, 2013). A notre connaissance, c'est la première fois qu'on s'intéresse à leur variation, dans les huiles, selon le degré de maturation des fruits.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau 18 et figure 58.

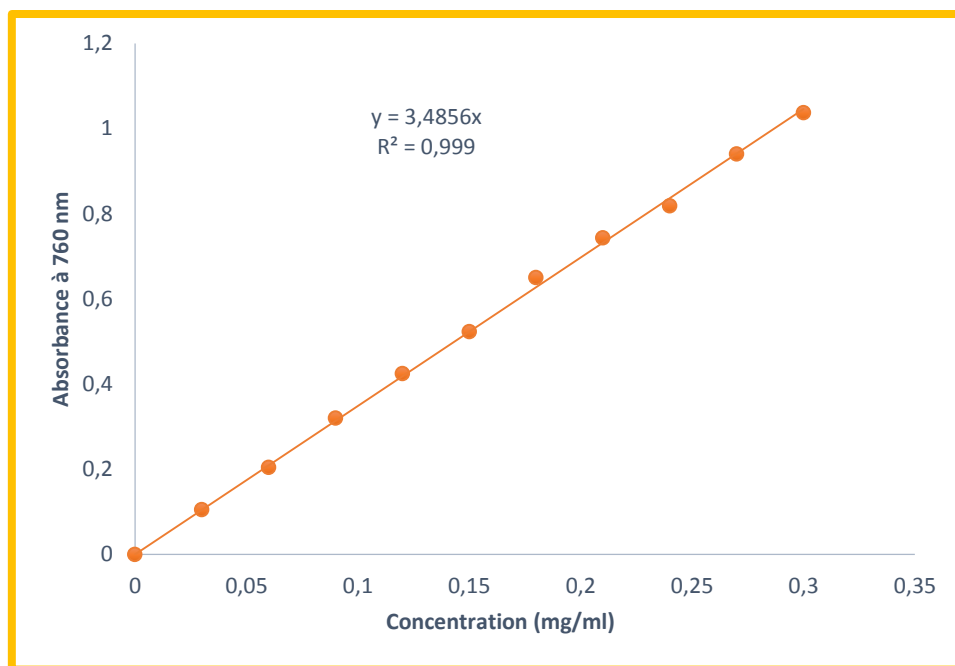


Figure 59: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

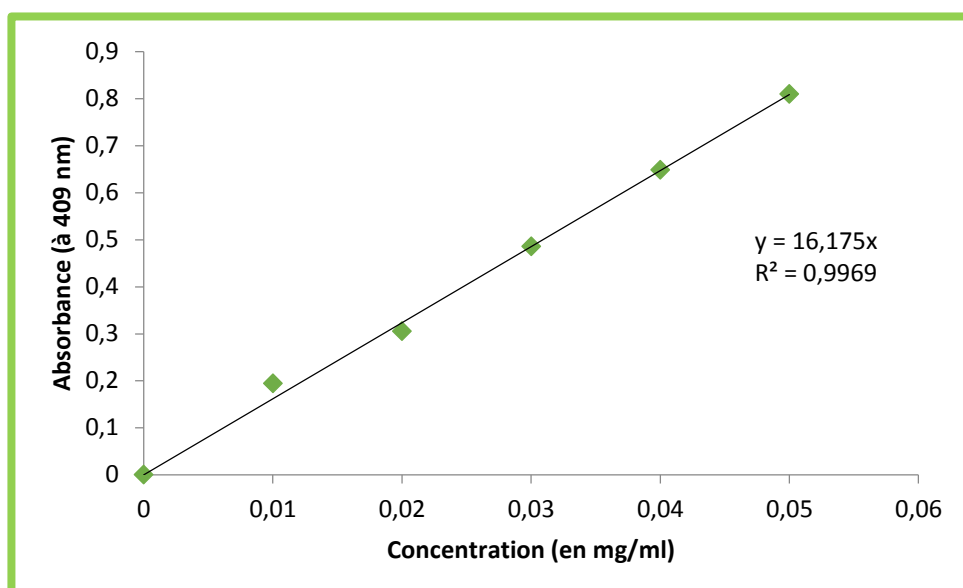


Figure 60 : Courbe d'étalonnage de la rutine.

Tableau 19: Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes contenues dans les extraits phénoliques bruts.

Extraits phénoliques	Masse d'extraits phénoliques (g)	Teneur en phénols totaux mg/kg d'huile	Teneur en flavonoïdes mg /kg d'huile	Pourcentage % des flavonoïdes dans les phénols totaux
I (immature)	0.3132	73	16	21.9
II (mature)	0.1819	65	15	23.07
III (immature)	0.2612	178	35	19.66
IV (mature)	0.0856	45	11	24.44
V (mélange)	0.1405	19	6	31.57

Il est capital de relever que la variation en teneurs de phénols totaux est fortement liée au degré de maturation. En effet, les deux échantillons immatures contiennent plus de polyphénols par rapport aux échantillons matures. Cette variation n'est pas évidente pour les flavonoïdes. De plus, les échantillons immatures pourraient contenir d'autres composés phénoliques autres que les flavonoïdes.

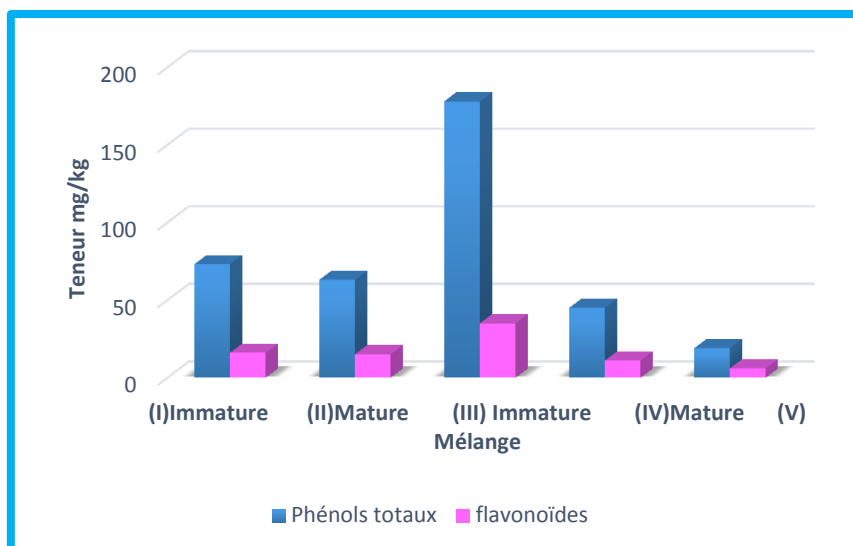


Figure 61: Comparaison de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des fruits du Pistachier de l'Atlas.

Les données sur les polyphénols dans l'huile rapportées par la littérature concernent surtout l'huile d'olive. En effet, leur teneur serait environs 400 mg/Kg d'huile (Nakbi *et al.*, 2010).

II.3.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques

Nos résultats montrent une activité antioxydante (par DPPH et Molybdate phosphate) assez prononcée, notamment, pour les graines immatures (Tableau 20 et figure 62), ce qui est en parfait accord avec les résultats obtenus pour les huiles. Ce résultat est rapporté pour la première fois.

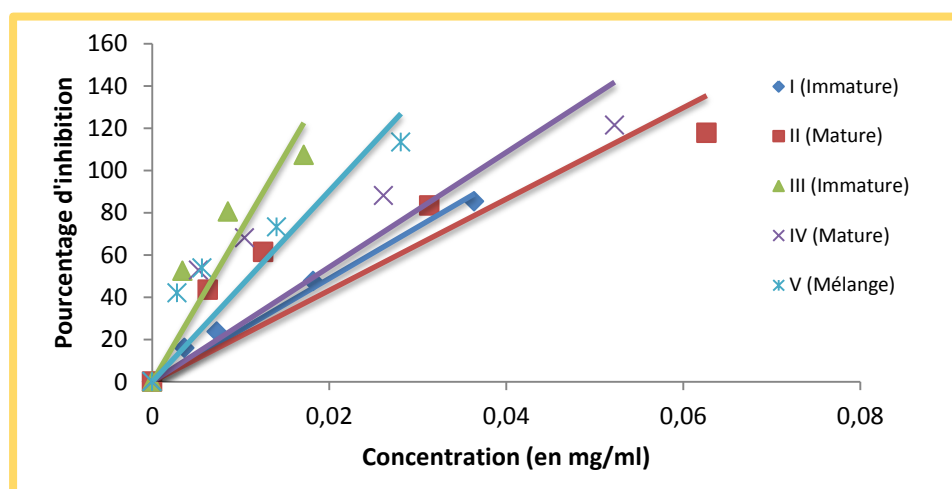


Figure 62: Graphe représentant le pourcentage d'inhibition % des cinq extraits phénoliques bruts en fonction de la concentration par le Test DPPH.

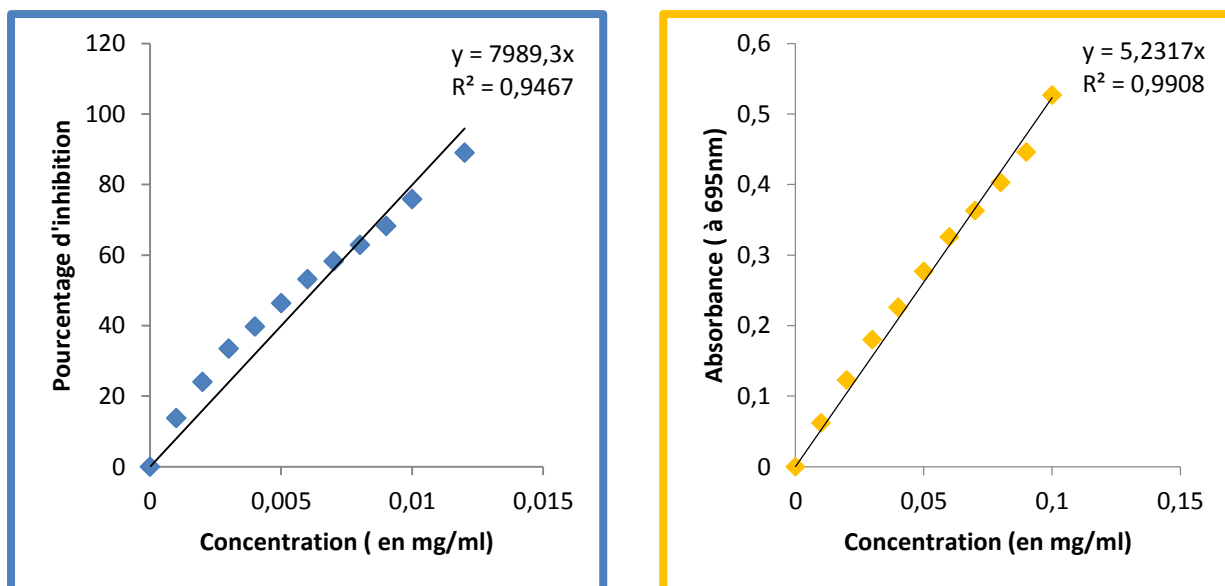


Figure 63: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vitamine C) faite par les deux tests DPPH (à gauche) et Molybdate (à droite).

Tableau 20 : Pouvoir antioxydant d'extrait phénolique brut évalué par les deux tests (DPPH et Molybdate).

Echantillon	EC50 mg/ml	Capacité équivalente (C_{eq}) en mg de vitamine C/g d'extrait phénolique brut
I (immature)	0.022	13,570
II (mature)	0.03	4,307
III (immature)	0.008	21,991
IV (mature)	0.026	10,991
V (mélange)	0.0144	12,276

Les graphes de corrélation indiquent une forte liaison entre, d'une part, les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes et, de l'autre part, l'activité antioxydante. (Figures 64 et 65), ce qui rend compte de la probable implication des polyphénols dans l'activité antioxydante des huiles.

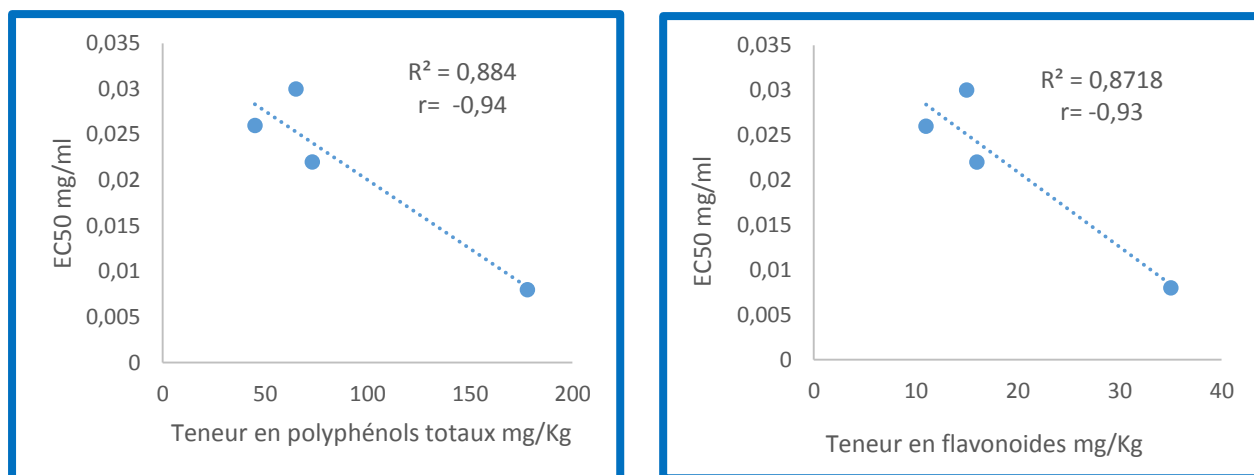


Figure 64 : Régressions entre le pouvoir d'inhibition (EC50) d'extraits phénoliques bruts (Immatures, Matures) en mg/ml et la teneur en phénols totaux, et flavonoïdes.

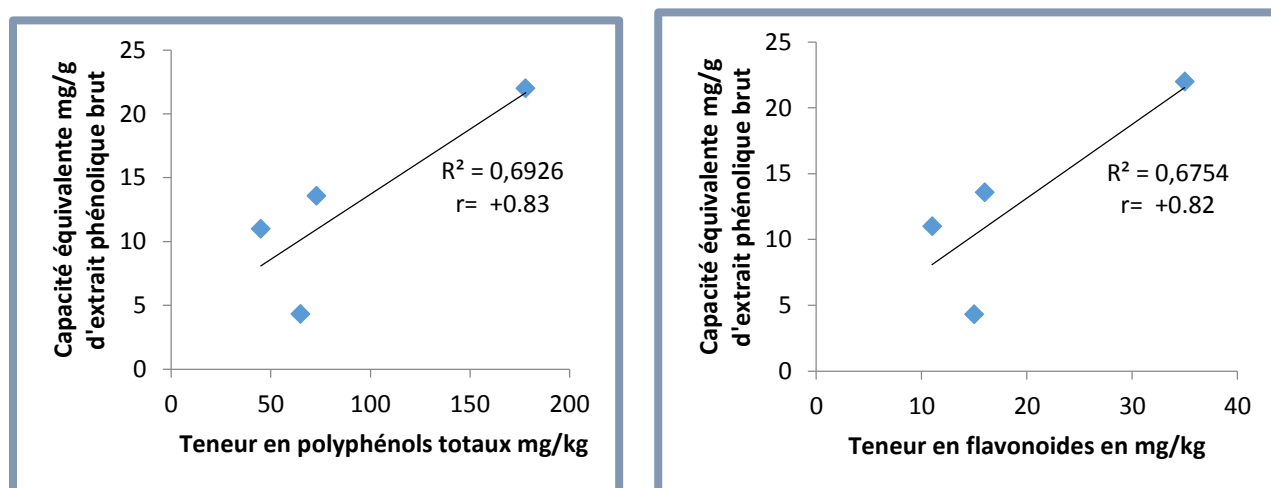


Figure 65 : Régressions entre capacité équivalente d'extraits phénoliques bruts (Immatures, Matures) en mg de la vitamine C/g d'extrait phénolique brut et la teneur en phénols totaux, et flavonoïdes.

Conclusion et perspectives

Au terme de notre travail, nous tirons les conclusions suivantes:

- ✓ La teneur en tocophérols est plus marquée au niveau des graines immatures par rapport aux graines matures et elle augmente au fur et à mesure de la maturation.
- ✓ L'activité antioxydante des huiles serait fortement associée au stade de maturation et à la nature de la graine caractérisée par sa couleur finale à maturité. Ainsi, les huiles des graines vertes seraient plus actives que celles des graines noires et ce pour les différents stades de maturation. Les graines immatures, donnant à maturité une couleur verte, recèlent le pouvoir antioxydant le plus élevé.
- ✓ Pour l'ensemble des fruits (matures, immatures, intermédiaires), la teneur en tocophérols et l'activité antioxydante sont influencés par la date de la cueillette. En effet plus les fruits sont cueillis précocement plus ils sont actifs.
- ✓ Les huiles des fruits du Pistachier de l'Atlas contiennent une proportion assez appréciable en composés phénoliques, doués d'un pouvoir antioxydant assez marqué, qui est d'autant plus élevée que les huiles sont extraites de graines immatures. Quant aux flavonoïdes, ils ne varient que légèrement entre les échantillons testés. Ces résultats sont rapportés pour la première fois et méritent des études complémentaires.
- ✓ L'activité antioxydante des huiles serait due à plusieurs composés dont les tocophérols et les polyphénols.

Nous pouvons dire, enfin, que notre étude a apporté des résultats préliminaires très intéressants et originaux. Il a, en outre, apporté des informations complémentaires aux travaux initiés par Belakdhar et Bentaïreche en 2013. Il n'en demeure pas moins que des études plus approfondies, sur un échantillon plus large et visant notamment la caractérisation des molécules responsables du pouvoir antioxydant soient nécessaires pour appuyer nos constatations.

A

Alarcon Flores M.I ., Romero-Gonzalez R ., Garrido Frenich A ., Martinez Vidal J.L.,2012. Analysis of phenolic compounds in olive oil by solid-phase extraction and ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Food Chemistry. 134, 2465–2472.

B

Baba Aissa F., 2000. Encyclopedie des plantes utiles. Ed. Librairie moderne, Rouiba, 368 p.

Bata J., Vallier P., Colobert L., 1978. Mise en évidence d'une activité α -amylasique dans les lysosomes d'*Aspergillus oryzae*, *Experientia*.

Belhadj S., 2001. Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation . In : Ak B.E. (ed.). XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM, 2 001 . p. 1 07 -1 09 (Cahiers Options Méditerranéennes; n . 56).

Belhadj S., 2003. Les pistachiers algériens: état actuel et dégradation. Centre Univ. De Djelfa, 107-109.

Benabderrahmane M., Benali M., Aouissat H., Jordan Buesso M-J., 2009. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica Desf.* De l'Algérie *Phytothérapie* 7 :304-308.

Benabid A., Fennane M., 1994. Connaissances sur la végétation du Maroc : phytogéographie, phytosociologie et séries de végétation. *Lazaroa* 14.

Benhssaini H., Belkhodja M., 2004. Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille* 54: 1-2.

Bennetau-Pelissero C., 2014. Polyphenols and cellular pathways, recent data . *Cahiers de Nutrition et de Diététique*.P1.

Bloor S. J., 2001. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Method Enzymol.* 335, 3-14.

Bors W., Heller W., Michel C., Saran M., 1990. Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Method. Enzymol.* 186, 343-355.

Boyd T., Carlucci A.F., 1993. Degradation rates of substituted phenols by natural populations of marine bacteria. *Aquatic Toxicol.* 25, 71-82.

Bartosz G., 2003. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology.* 9: 5-21.

Berset C., Cervelier M.E., 1996. Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Science des Aliments.* 16, 219-245.

Bougandoura N., Bendimerad N., 2012. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie.* P 14-19.

Bradley P., Calvert J., 2009. Mini Manuel de biologie humaine, Dunod.

Bruneton J., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.).

Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud LL., Simonetti RG., Gluud C., 2012. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases.

Brigelius-Flohe R., Traber M., 1999. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.* 13, 1145-1155.

Brown W.D., Tappel A.L., 1959. Fatty acid oxidation by carp liver mitochondria. Arch. Biochem. Biophys., 85: 149-158.

Bellakhdar A., Bentireche F., 2013. Etude des huiles des fruits du *Pistacia atlantica*: composition en acides gras et activité anti oxydante.

C

Castellano G ., Tena J ., Torrens F., 2012. Classification of Phenolic Compounds by Chemical Structural Indicators and Its Relation to Antioxidant Properties of *Posidonia Oceanica* (L.) Delile. Communications in Mathematical and in Computer Chemistry. 67 , 231-250.

Coisne T ., 2007 . Contribution à l'étude des effets de l'activité physique sur le fonctionnement mitochondrial et la production de radicaux libres - Etude sur mitochondries musculaires et hépatiques- . 16-29.

Chaudiere J., 1983 . Purification and characterization of selenium-glutathione peroxidase from hamster liver. Arch Biochem; Biophys . 226, 448-457.

Chepda T ., Perier C ., Chamson A ., Frey J ., 1999. Effets pro- et antioxydants de l'ascorbate Antioxidant and prooxidant effects of ascorbate. Nutrition clinique et métabolisme. 13, n°2, pp. 115-120.

Cuvelier C., Cabaraux J.-F., Dufrasne I., Hornick J.-L., Istasse L., 2004. Acides gras : nomenclature et sources alimentaires - Nutrition, Département des Productions Animales, Faculté de Médecine Vétérinaire -

Coutouly G., Klein E., Barbieri E., 2006. Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique.

D

Dröge W ., Schipper H.M ., 2007. Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. Journal compilation © Blackwell Publishing Ltd/Anatomical Society of Great Britain and Ireland : 10 , 1474-9726.

Defraigne J.O ., Pincemail J ., 2007 . Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités . Rev Med Liege . 62 - 4 .

Densiov ET., Afanas'ev IB., 2005. Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A), p: 703-861.

Demay F., 2011. Université Victor Segalen (Bordeaux II).

Drigues P., Lafforgue D., Asselineau J., 1981. Etude des phospholipides de *Pseudomonas solanacearum* présence d'acides gras α -hydroxylés monoéthyléniques.

DellaPenna D., 2005. Progress in the dissection and manipulation of vitamin E synthesis. Trends Plant Sci. 10, 574–579.

E

Eichenberger W., 1993. Plant physiology and biochemistry.

F

Favier A., 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, page 108-115.

Fridovich I., 1995 . Superoxide radical and superoxide dismutases. Annu Rev Biochem 64: 97-112.

Favier A., 1997. Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Annales de biologie clinique. Numéro 1, 9-16.

G

Gausсен H., Leroy J.F., Ozenda P. 1982. Précis de botanique. Les végétaux supérieurs. Ed. Masson. 579p.

Ghaffari S.M., Shabazaz M., Behboodi B.S. 2003. Chromosome variation in Pistacia genus. XIIIème réunion de GREMPA sur l'Amandier et le Pistachier. Portugal. Options méditerranéennes, Série A, Séminaires méditerranéens 63.

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

Ghalem BR., Benhassaini H., 2007. Etude des phyto-stérols et des acides gras de *pistachia atlantica*.

Guichardant M., Bacot S., Molière P ., Lagarde M ., 2006 . Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 13, Numéro 1, 31-4.

Guilloton M., Quintard B., Gallet P-F., 2013. Mini Manuel de biochimie, Dunod .

Goudable J., Favier A., 1996. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol* . 11:115-20.

Gauche G ., Hausswirth C ., 2006 . Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice . Pages 43 – 66.

Guichardant M ., Bacot S ., Molière P ., Lagarde M ., 2006 . les biomarqueurs de la peroxydation lipidique . OCL , 13 n° 1 , 31-34.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D., 2003. Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? .L'actualité chimique.91-96.

Ballistreri G., Arena E., Fallico B.,2009. Influence of Ripeness and Drying Process on the Polyphenols and Tocopherols of *Pistacia vera* L. *Molecules* , 14, 4358-4369.

H

Hoffmann L ., 2003. Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT).

Harborne J.B ., 1980. Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology. New series 8. 329 - 402.

Harfouche A., Chebouti-meziou N., Chebouti Y., 2005. Comportement comparé de quelques provenances algériennes de Pistachier de l'Atlas introduites en réserve naturelle de Mergueb (Algérie). Forêt méditerranéenne, n° 2.

Havesteen B.H ., 2002. The biochemistry and medicinal significance of the flavonoids. *J. Pharmacol. Therap.* **96**, 67-202.

Hider R.C ., Liu Z. D ., Khoder H.H ., 2001. Metal chelation of polyphenols. *Method. Enzymol.* **335**, 190-203.

Halliwell A., 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?. *Free radicals and antioxidants.* **10** , 344(8924):721- 4.

Halliwell B., Whiteman M ., 2004 . Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology.* **142**: 31-2.

Harrison D., Griendling K.K ., Landmesser U ., Hornig B ., Drexler H ., 2003. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology.* **91**: 7-11.

Halliwell B .,1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*: Oxford University Press.

Halliwell A., Gutteridge JMC., 1990. The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics.* **280**: 1-8.

Hajimehdipoor H., Shekarchi M., Aghighi A., Hamzeloo-Moghadam M.,2014. Evaluating the acetylcholinesterase inhibitory activity of *Ferulago angulata* and *Ferulago subvelutina*. *Research Journal of Pharmacognosy (RJP).* **1(2)**, 39-43.

Hatamnia AA., Abbaspour N., Darvishzadeh R.,2014. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemistry* .145,306–311.

Hunter JE., 1986. Food fats and oils. *Prog Clin Biol Res* ;222: 153–84.

Hussain N., Irshad F., Jabeen Z., Haider Shamsi I., Li Z., Jiang L., 2013 .Biosynthesis, Structural, and Functional Attributes of Tocopherols in Planta; Past, Present, and Future Perspectives.

J

Jovanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M.G.,1994. Flavonoids as antioxydants. *J. Am. Chem.Soc* . 116, 4846-485.

K

Kafkass S., Perl-Treves R., Gucluturk H., Karaca S., Cetinerm S. 2001. Monoecious *P. atlantica* trees in the Yunt Montains of Manisa province of Turkey. 11ème colloque du GREMPA sur le pistachier et l’amandier Zaragoza. Cahiers options Méditerranéennes 56 : 416p.

Kaska N., Caglar, S., Kafkas S., 1996. Genetic diversity and germplasm conservation of *Pistacia* species in Turkey. Dans : Workshop “Taxonomy, Distribution, Conservation and Uses of *Pistacia* Genetic Resources”, Palermo, Italie, 1995, Padulosi, S., Caruso, T. et Barone, E. (éds). IPGRI, Roma, pp. 46-50.

Koechlin-Ramonatxo C., 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* . 20 , 165–177.

Kohen R ., Nyska A., 2002. Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxydants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*. 30: 620-650.

Koolman J., Rohm K-H., 2006. Atlas de poche biochimie 3e édition « Médecine-sciences Flammarion »

L

Laudat P., 1972. Intolérance au phytol: Maladie de Refsum –*Biochimie* Volume 54, Issues 5–6. Pages 735–738.

Lehucher-Michel M.P ., Lesgards J.F ., Delubac O ., Stocker P ., Durand P., Prost M., 2001. Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*. 30: 1076-1081.

Léophonte P., Guérin J.C ., Lebas F.X ., Liard F ., Boulanger P ., 2006 . Stress oxydatif et BPCO. Rôle des infections. Prévention. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Pages 245–252.

Lagarde M., 2003. *Pathologie Biologie*, Volume 51, Issue 5, Pages 241-243.

M

Martin J.P., Haider K.,1971. Les phénols peuvent avoir une origine anthropique .The chemical nature of humic acid, *Soil Sci*. 111 (1) , 54–63.

Murley J.S ., Kataoka Y., Hallahan D.E ., Roberts J.C ., Grdina D.J .,2001. Activation of NFkappaB and MnSOD gene expression by free radical scavengers in human microvascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 30: 1426-1439.

Menvielle-Bourg J.F ., 2005 . Superoxide Dismutase (SOD), a Powerful Antioxidant, is now Available Orally . *Phytotherapie .* Numero 3: 118-121.

Molyneux P.,2003. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Received,* 8,P 212-219.

Monjauze A., 1980. Connaissance du Bétoum *Pistacia atlantica Desf.* Biologie et foret. *Revue Forestière Française,* 4 : 357-363.

Morin O., 2005. Communication Scientifique et Technique Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA). Risques et bénéfices pour la santé des acides gras trans apportés par les aliments.

Moulay Y.,2011. Investigation Phytochimique de l'*Acacia arabica* Aux propriétés antioxydantes et inhibitrices. Mémoire de Magister :Chimie . Université KASDI MERBAH OUARGLA, P 107-122.

Mortain-Bernard A., Falkowski P-G., 1989. Mise en évidence d'une relation entre fluorescence et caroténoïdes: une possibilité d'améliorer les modèles de production primaire.

Millet P., Zwier H., 2003. Conservateurs et antioxydants.

N

Nakbi A., Issaoui M., Dabbou S., Koubaa N., Echbili A., Hammami M., Attia N.,2010. Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oils. *Journal of Food Composition and Analysis.* 23 , 711–715.

P

Pincemail J ., Bonjean K ., Cayeux K, Defraigne J.O .,2002. Nutrition et stress oxydant Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme* . 16 , 233–239.

Pascaud M., 2005. Cours biochimie, Université de Paris-VI-Pierre-et-Marie-Curie.

Pal Yu B ., 1994. Cellular defences against damage from reactive oxygen species . *Physiopathological Reviews*. 74: 139-155.

Powers S.K ., Lennon S.L.,1999. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* .58: 1025-1033.

Pincemail j ., Meurisse m ., Limet r ., defraigne J.O ., 1998. Mesure et utilisation des antioxydants. *Journal of Medecine Sphère* .73, 233-239.

Pons-Rejraji H ., Sion B ., Saez F ., Brugnon F ., Janny L ., Grizard G . 2009 . Rôles des dérivés actifs de l’oxygène (DAO) sur les spermatozoïdes humains et infertilité masculine . *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* . 37 , 529–535.

Pelli K ., Lyly M ., 2003 . Les antioxydants dans l’alimentation . *VTT Biotechnology* . N° ISBN : 2-7380-1069-5.

Pasquier C ., 1995. Stress oxydatif et inflammation. *Revue Française des Laboratoires*. N° 276 pages 87-92.

Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999.Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a photomolybdenum complex : Specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*.269-337.

Petit V., Niot I., Poirier H., Besnard P., 2007. Absorption intestinale des acides gras : faits et incertitudes .Nutrition clinique et métabolisme, Elsevier.

Petterson A., Jonsson L., 1990. Journal of micronutrient analysis.

Pacheco Y., Bensoussan P., Gré-Wolf F., 1983. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique, Volume 23, Issue 4, Pages 215-221.

Peksel A., Arisan I., Yanardag R., 2013. Radical scavenging and anti-acetylcholinesterase activities of aqueous extract of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) leaves.

Podda M., Weber C., Traber M., Packer L., 1996. Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinol, and ubiquinone.

Packer L., Weber S., Rimbach G., 2001. Molecular aspects of α -tocotrienol antioxidant action and cell signaling. *J Nutr.* 2001;131:S369–S373.

R

Ryter S.W ., Otterbein L.E ., Morse D ., Choi A.M ., 2002. Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: regulation and functional significance. *Mol Cell Biochem.* 234-235(1-2) :249-63.

S

Serve L ., 1983. Dosage des acides et aldéhydes phénoliques par chromatographie liquide haute-performance: analyse comparative des sols de haute montagne et de leur végétation. *Journal of Chromatography A*. Pages 319–328.

Sohal R.S ., Mockett R.J ., Orr W.C., 2002. Mechanisms of aging : an appraisal of the oxidative stress hypothesis . *Free radical biology & medicine*. 33: 575-586.

Sorg O., 2004 . Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies* . 327: 649-662.

Servais S ., 2004 . Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone. Université de Claude Bernard-Lyon 1.

Szekeres M., Németh., K., Koncz-Kálmán Z., Mathur J., Kauschmann A., Altmann T., Rédei G., Nagy F., Schell J., Koncz C., 1995. « Brassinosteroids Rescue the Deficiency of CYP90 », in *Cell*, 85, pp. 171-182.

Siguret V., 2006. Vitamine K : métabolisme, éléments de physiopathologie, implication dans la variabilité inter- et intra-individuelle de la réponse au traitement par les antivitamines K.

Saber-Tehrani M., Givianrad M.H., Aberoomand-Azar P., Waqif-Husain S., Jafari Mohammadi S.A., 2013. Chemical Composition of Iran's Pistacia atlantica Cold-Pressed Oil. 10.1155/2013/126106

T

Tanguy M ., Marie A ., Simon B ., 2009 . Antioxydants Première partie : les antioxydants dans l'alimentation . *Nutrition Clinique et Métabolisme*. Pages 115–120.

Traber M-G., Arai H., 1999. Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Annu. Rev. Nutr*, 19, 343–355.

U

Urquiaga I ., Leighton F., 2000. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *versión impresa* ISSN. 0716-9760.

Ursini F., Heim S., Kiess M ., Maiorino M ., Roveri A ., Wissing J ., Flohe L ., 1999. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science* 285: 1393-1396.

V

Van Meer G., 1998. Lipids of the Golgi membrane. *Trends Cell Biol* 8, 29-33.

Vergely C ., Rochette L ., 2003 . Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique Cardiologie. Stress oxydant* .131-9 .

Voet D., Voet J.G., 1998. *Biochimie*, P 56 69, 2ème Eddition.

W

Wertz J.L ., 2010 . **La lignine** . *Document ValBiom – Gembloux AgroBio Tech* - . P 2-23.

Weinman S., Mehul P., 2013. *Toute la biochimie « DUNOD »*.

Weil J-H., 2009. *Biochimie générale* 11e édition « DUNOD ».

X

Y

Yousfi M., Nedjemi B., Belal R., Ben Bertal D., 2003. Étude des acides gras de l'huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien OCL. *Oleag. Corp. Gras, Lip.*, 10, pp. 425–427.

Yousfi M., A. Djeridane, B. Nadjemi, S. Maamri, F. Djireb et P. Stocker., 2006. Phenolic Extracts from various Algerian plants as Strong inhibitors of porcine liver Carboxylesterase. *Journal of Inhibitor Enzyme and Medicinal Chemistry*, 21(6):719-726.

Annexe 1

-LES REACTIFS ET LES PRODUITS CHIMIQUES-

1	Acide sulfurique pure (H ₂ SO ₄)
2	Acide ascorbique (vitamine C)
3	Acétate d'éthyle
4	Acide gallique
5	Alpha-tocophérol (Vitamine E)
6	Butanol
7	Carbonate de sodium
8	Ethanol
9	Ether de pétrole
10	Hexane
11	Méthanol
12	Molybdate D'Ammonium
13	Ortho-Phénantroline
14	Phosphate sodique
15	Réactif Folin
16	Rutine
17	Sulfate de sodium, anhydre (Na ₂ SO ₄)
18	Trichlorure de fer (FeCl ₃)
19	Trichlorure d'aluminium AlCl ₃
20	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH°)

-MATÉRIELS-

1	Ampoule à décanter
2	Ballon à fond rond et plat ,250 ml
3	Becher, 80 ml, 100ml
4	Cuvette de spectrophotomètre (en plastique)
5	Entonnoir
6	Éprouvette graduée de 10 ml, 100 ml
7	Erlenmeyer de 250 ml
8	Fiole jaugée de 50 ml, 250 ml
9	Papier filtre
10	Réfrigérant
11	Spatules
12	Tubes à essais

-ÉQUIPEMENTS-

1	Agitateur magnétique
2	Bain Marie
3	Balance de précision
4	Hotte chimique
5	Pinces
6	Plaque chauffante (thermo Scientific, Fichier Scientific)
7	Rotavapeur (BUCHI R-200)
8	Spectrophotomètre UV-visible (Shimadzu)

Annexe 2



Figure : Caractéristique du timbre postale N°1448 (Kerbouche, 2006).

Caractéristique du timbre-poste N°1448 de l'année 2006

Code :PO061701

Numéro Yvert& Tellier : 1484

Catégorie(s) : Agriculture > Flore > Arbre

Thème : Journée Nationale de l'Arbre

Date d'Emission : 25 Octobre 2006

Prix facial : 20 DA

Imprimeur : Imprimerie de la Banque d'Algérie

Dessin : Ali Kerbouche

L'édition de ce timbre montre l'intérêt accordé par l'état algérien à cette espèce endémique qui n'a pas encore livré tous ses secrets.

Annexe 3

Tableau : Principaux acides gras saturés et insaturés retrouvés à l'état naturel (Cuvelier *et al.*, 2004)

Symbole (nomenclature normalisée)	Structure chimique	Nom systématique de l'acide	Nom commun de l'acide
C1 : 0	Acides gras saturés CH ₃ OH	Méthanotique	formique
C2 : 0	CH ₃ COOH	Ethanotique	acétique
C3 : 0	CH ₃ CH ₂ COOH	Propanotique	propionique
C4 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	Butanotique	butyrique
C5 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	Pentanotique	valérique
C5 : 0 iso	CH ₃ CHCH ₂ COOH	Méthyl-3 butanotique	isovalérique
C6 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	Hexanotique	caproïque
C7 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₅ COOH	Heptanotique	éthantrique
C8 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	Octanotique	caprylique
C9 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₇ COOH	Nonanotique	pelargonique
C10 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	Décánotique	caprique
C12 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	Dodécánotique	laurique
C14 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	Tétradécánotique	myristique
C16 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	Hexadécánotique	palmitique
C18 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	Octadécánotique	stéarique
C20 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	icosanotique ¹	arachidique
C22 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	Docosánotique	béhénique
C24 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	Tétracosánotique	lignocérique
C26 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₄ COOH	Hexacosánotique	cérolrique
C28 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₆ COOH	Octacosánotique	montanique
C30 : 0	CH ₃ (CH ₂) ₂₈ COOH	Triacontanotique	mélistique
Acides gras insaturés			
monosaturés			
C12 : 1 (9)	CH ₃ CH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-9-dodécénoïque	lauroléique
C14 : 1 (9)	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH=CH(CH ₂) ₅ COOH	cis-9-tétradécénoïque	myristoléique
C16 : 1 (9)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	cis-9-hexadécénoïque	palmitoléique
C18 : 1 (trans 6)	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ CH=CH(CH ₂) ₂ COOH	trans-6-octadécénoïque	oléique
C18 : 1 (9)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-9-octadécénoïque	oléique
C18 : 1 (trans 9)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	trans-9-octadécénoïque	oléique
C18 : 1 (11)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH	cis-11-octadécénoïque	oléique
C18 : 1 (trans 11)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH	trans-11-octadécénoïque	oléique
C20 : 1 (9)	CH ₃ (CH ₂) ₉ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis-9-icosénoïque ¹⁾	vacéénique
C22 : 1 (11)	CH ₃ (CH ₂) ₉ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH	cis-11-docosénoïque	gadoléique
C22 : 1 (13)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₁ COOH	cis-13-docosénoïque	oléoléique
C24 : 1 (15)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₅ COOH	cis-15-tétracosénoïque	étrucique
polyinsaturés			
C18 : 2 (9,12)	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis,cis-9,12-octadécadiénoïque	linoléique
C18 : 2 (9, trans 11)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CHCH=CH(CH ₂) ₇ COOH	cis,trans-9,11-octadécadiénoïque	linoléique conjugué cis-9, trans-11 ou numérique
C18 : 2 (trans 10,12)	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH=CH(CH ₂) ₈ COOH	trans,cis-10,12-octadécadiénoïque	linoléique conjugué trans-10, cis-12
C18 : 3 (6,9,12)	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CHCH=CH(CH ₂) ₆ COOH	cis,cis,cis-6,9,12-octadécatriénoïque	γ-linoléique
C18 : 3 (9,12,15)	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ (CH ₂) ₂ COOH	cis,cis,cis-9,12,15-octadécatriénoïque	α-linoléique
C18 : 3 (9, trans 11, trans 13)	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CHCH ₂ (CH ₂) ₂ COOH	cis,trans,trans-9,11,13-octadécatriénoïque	α-éicosaténoïque
C20 : 4 (5,8,11,14)	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₂ CH=CH(CH ₂) ₅ COOH	cis,cis,cis,cis-5,8,11,14-tétraénoïque ¹⁾	arachidonique
C20 : 5 (5,8,11,14,17)	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₂ COOH	cis,cis,cis,cis,cis-5,8,11,14,17-icosapentaénoïque ¹	
C22 : 5 (4,8,12,15,19)	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₂ COOH	cis,cis,cis,cis,cis-4,8,12,15,19-docosapentaénoïque ¹	
C22 : 6 (4,7,10,13,16,19)	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₂ COOH	cis,cis,cis,cis,cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaénoïque	cuplanononique

Annexe 4

Tableau : Les polyphénols (Tanguy *et al.*, 2009)

	Propriétés	Principales sources	AJR
<p>8 000 molécules à structures chimiques variées, ayant en commun des fonctions phénoliques, appartenant à plusieurs familles (flavonoïdes : 2/3 ; tanins, acides phénoliques, lignanes).</p>	<p>Puissants piègeurs de radicaux libres</p>	<p>– Fruits et légumes : oignons, pommes, pommes de terre, laitue, cerise, raisin, prunes, agrumes, cacao, épices (cannelle, vanille...), aromates, huile d'olive, soja...</p> <p>– Boissons (thé*, vin*, bière...</p>	<p>Environ 1 gramme par jour</p>

Annexe 5

Tableau : Exemples de quelques pathologies humaines associées à des modifications de la concentration en antioxydants (Pincemallet *al.*, 1998)

Evolution de l'antioxydant	Situations pathologiques
Diminution de la vitamine C	Maladies respiratoires (emphysème, bronchopneumopathies chroniques obstructives (BPCO), fumeur) Pancréatite aiguë Hémochromatose
Diminution de la vitamine E	Syndrome de détresse respiratoire Transplantation d'organes Pontage coronarien Choc septique Traumatisme crânien Hémochromatose
Diminution du glutathion, protéines-SH	Syndrome immunodéficient acquis Syndrome de détresse respiratoire
Diminution de l'ubiquinone	Hyperlipidémie
Augmentation de l'acide urique	Phénomènes d'ischémie – reperfusion
Diminution pouvoir antioxydant total	Maladies respiratoires (asthme, BPCO, fumeur) Maladies du foie Naissance de prématurés
Diminution de la GPX, carence en sélénium	Cancer Alcoolisme Mucoviscidose Maladie de Keshan Maladies cardiovasculaires Stérilité Maladie de Crohn Arthrite rhumatoïde Cataracte (cristallin)
Augmentation de la SOD	Leucémie Hépatite Diabète Dystrophie musculaire de Duchenne Syndrome de détresse respiratoire Syndrome de Down
Diminution de la SOD	Arthrite rhumatoïde Anémie de Fanconi Hypocuprose Syndromes immunologiquement déficients

Annexe 6

Tableau : Les apports exogènes de vitamines nécessaires à l'homme (Tanguy *et al.*, 2009)

//	Propriétés	Principales sources	Apports journaliers recommandés (AJR)
Vitamine C (acide ascorbique)	<ul style="list-style-type: none"> – Hydrosoluble, co-substrat de plusieurs oxygénases et oxydases. – <i>In vitro</i>, maintient la vitamine E sous sa forme réduite, active lors de l'inhibition de la peroxydation lipidique membranaire (mécanisme impliqué dans la protection des LDL contre l'oxydation). À confirmer <i>in vivo</i>. 	Fruits, légumes, feuilles (forte concentration dans le cassis, les agrumes, les kiwis, les poivrons, les brocolis, le chou et le persil). Souvent utilisée comme additif dans agroalimentaire.	Une orange, un kiwi sont suffisants (les effets de carence sont bien connus ; à fortes doses, un effet pro-oxydant a été décrit).
Vitamine E (8 composés proches dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols)	<ul style="list-style-type: none"> – Hautement lipophiles, se concentrent dans les membranes biologiques et les lipoprotéines. – Agissent <i>via</i> la peroxydation lipidique des acides gras insaturés. – Propriétés immunostimulantes sur l'immunité humorale et cellulaire et la phagocytose. 	Huiles végétales et produits dérivés (pépins, germe et grain de blé, noix et certaines légumes à feuilles verts (peu dans les fruits, baies et légumes).	Une cuiller à soupe d'huile de tournesol, ou 2 d'huile de colza, ou une petite tasse de noix
Caroténoïdes (composés pigmentés colorant de jaune à rouge de nombreux fruits et légumes. Le β-carotène est un précurseur de la vitamine A.	<ul style="list-style-type: none"> – Lipophiles comme la vit E, donc présents dans les compartiments lipidiques des tissus. – Puissants neutralisateurs des dérivés activés de l'oxygène, comme l'oxygène singulet et les radicaux peroxydes. – Contribuent également à la protection contre la peroxydation donc la réduction du risque cardiovasculaire. 	Carotte (α - β carotène) Tomate et melon (lycopène) Agrumes (β -crypto xanthine) Épinards et endives (β -carotène et lutéine) Maïs (zeaxanthine).	Pas d'AJR pour les caroténoïdes seuls mais un mélange de fruits et de légumes (5/jour) est fortement conseillé (cf. PNNS) (à fortes doses, la vitamine A peut être responsable d'hypertension intracrânienne).

Annexe 7

Tableau : Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes (Urquaga, 2000).

Number of carbonatoms	Basic skeleton	Class	Examples
6	C6	Simple phenols Benzoquinones	Catechol, hydroquinone 2,6-Dimethoxybenzoquinone
7	C6-C1	Phenolicacids	Gallic, salicylic
8	C6-C2	Acetophenones Tyrosine derivatives Phenylacetic acids	3-Acetyl-6-methoxybenzaldehyde Tyrosol p-Hydroxyphenylacetic
9	C6-C3	Hydroxycinnamicacids Phenylpropenes Coumarins Isocoumarins Chromones	Caffeic, ferulic Myristicin, eugenol Umbelliferone, aesculetin Bergenon Eugenin
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone, plumbagin
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferin
14	C6-C2-C6	Stilbenes Anthraquinones	Resveratrol Emodin
15	C6-C3-C6	Flavonoids Isoflavonoids	Quercetin, cyanidin Genistein
18	(C6-C3) ₂	Lignans Neolignans	Pinoresinol Eusiderin
30	(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoids	Amentoflavone
n	(C6-C3) _n (C6) _n (C6-C3-C6) _n	Lignins Catecholmelanins Flavolans	

Annexe 9

Test de signification (Loi de Student)

$$s^2 = \frac{(N_1 \times \sigma_1^2) + (N_2 \times \sigma_2^2)}{(N_1 + N_2) - 2}$$

$$t = \frac{\text{moyenne}_1 - \text{moyenne}_2}{s \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

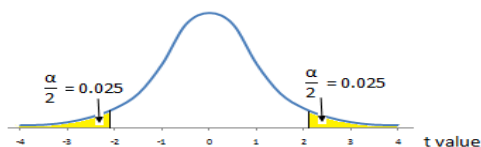
Cas du petit échantillon : $n_1, n_2 < 30$.

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

- ❖ Si la valeur calculée $< t$ (valeur lue sur la table), la différence entre les deux échantillons n'est pas significative.
- ❖ Si la valeur calculée $> t$ (valeur lue sur la table), la différence entre les deux échantillons est significative.

Student's t Distribution Table

For example, the t value for
18 degrees of freedom
is 2.101 for 95% confidence
interval (2-Tail $\alpha = 0.05$).



	90%	95%	97.5%	99%	99.5%	99.95%	1-Tail Confidence Level
	80%	90%	95%	98%	99%	99.9%	2-Tail Confidence Level
	0.100	0.050	0.025	0.010	0.005	0.0005	1-Tail Alpha
df	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.001	2-Tail Alpha
1	3.0777	6.3138	12.7062	31.8205	63.6567	636.6192	
2	1.8856	2.9200	4.3027	6.9646	9.9248	31.5991	
3	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8409	12.9240	
4	1.5332	2.1318	2.7764	3.7469	4.6041	8.6103	
5	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321	6.8688	
6	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074	5.9588	
7	1.4149	1.8946	2.3646	2.9980	3.4995	5.4079	
8	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554	5.0413	
9	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498	4.7809	
10	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693	4.5869	
11	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058	4.4370	
12	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545	4.3178	
13	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123	4.2208	
14	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768	4.1405	
15	1.3406	1.7531	2.1314	2.6025	2.9467	4.0728	
16	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208	4.0150	
17	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982	3.9651	
18	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784	3.9216	
19	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609	3.8834	
20	1.3253	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453	3.8495	
21	1.3232	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314	3.8193	
22	1.3212	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188	3.7921	
23	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073	3.7676	
24	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7969	3.7454	
25	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874	3.7251	
26	1.3150	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787	3.7066	
27	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707	3.6896	
28	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633	3.6739	
29	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564	3.6594	
30	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500	3.6460	

Sommaire

Introduction

Conclusion et perspectives

*Références
Bibliographiques*

Première partie :

*Synthèse
Bibliographique*

Chapitre I :
Généralités sur le
Pistachier de l'Atlas

Chapitre II :
Généralités sur les
lipides

Chapitre III :
Généralités sur les
polyphénols

Chapitre IV :
Radicaux libres ;
stress oxydatif et
pouvoir
antioxydant

Deuxieme partie :

Etude

Expérimentale

*Chapitre I:
Matériels et
Méthodes*

Chapitre II :
Résultats et
discussion

Annexes