

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار تليجي - الأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT SCIENCES DE LA MATIERE



Mémoire de Master

Domaine: Sciences de la Matière

Filière: Chimie

Option: Chimie Organique Appliquée

Travail réalisé par:

M^{elle}. DJILALI Thouraya

THÈME

**Etude de l'effet des mélanges de fruits et feuilles de
Pistacia atlantica sur le contenu en composés bioactifs et
l'activité antiradicalaire**

Benalia Mohamed

MCA

Président

Koriba Bakhti

MCB

Examineur

YOUSFI Mohamed

Pr

Encadrant

Kaifes Chaima

Doctorante

Invitée

Année Universitaire 2024/2025

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu, le Tout-Puissant, qui a enseigné par la plume, et a appris à l'homme ce qu'il ne savait pas. C'est par Sa grâce que j'ai pu mener à bien ce travail, avec patience, santé et détermination.

Ce modeste travail n'aurait pu voir le jour sans l'aide précieuse de plusieurs personnes que je tiens à remercier chaleureusement.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma plus profonde reconnaissance à mon directeur de mémoire, le professeur **Mohamed YOUSFI**, pour son accompagnement rigoureux, la richesse de ses conseils, sa disponibilité constante et la confiance qu'il m'a accordée tout au long de ce travail.

Travailler sous sa direction a été un réel privilège.

J'adresse également mes plus sincères remerciements à Mademoiselle **Kaïfes Chaima**, pour son soutien constant, son assistance bienveillante et sa présence tout au long de ce parcours. Son aide a grandement facilité l'avancement de cette recherche.

Je tiens également à remercier tout particulièrement Monsieur Harath Mohamed et Monsieur Gourine Nadir pour leurs conseils avisés, leur disponibilité et leur dévouement à mon travail. Leur soutien m'a été d'une extrême utilité et a permis d'enrichir cette étude.

Mes remerciements s'adressent aussi à Monsieur **BENALIA Mohamed** et Monsieur **KORIBA Bakhti**, membres du jury, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer ce travail, et pour leurs remarques pertinentes et enrichissantes qui ont contribué à l'amélioration de ce mémoire.

DÉDICACES

Le voyage n'a pas été court, ni la route semée d'embûches, mais je l'ai fait, grâce à Dieu qui a facilité les débuts et atteint la fin avec Sa grâce et Sa générosité.

J'ai l'honneur de dédier cet humble ouvrage

À la mémoire de mon père, mon modèle, mon pilier, mon étendard. Il m'est difficile de trouver les mots justes pour exprimer à quel point tu es important pour moi. Depuis ton départ, chaque jour est un défi. Tu es vivant dans mon cœur, dans mes efforts, dans mes succès. J'espère que tu es fier de moi aujourd'hui.

« Repose en paix, papa, tu me manques tous les jours. »

Je dédie mon diplôme et ma joie au paradis terrestre de Dieu.

À celui qui m'a appris la morale avant les lettres, au pont qui m'a fait monter au ciel, au premier supporter de ma vie et à la main invisible qui a enlevé les épines et les difficultés de mon chemin, à mon paradis, à la prunelle de mes yeux. « Ma mère, mon amie et ma compagne de route »

Je dédie mon diplôme à mon autre âme.

Si j'ai quelqu'un au monde que je chéris, tu es la plus chère et la plus précieuse, et si j'ai un soutien, un dos et une côte qui ne basculent pas, c'est toi. Mon troisième parent, ô Dieu, je te confie son âme et son cœur, sauve-le pour moi. « Mon frère (Abdul Jalil), l'ami de mon cœur après mon père. »

Je dédie mon diplôme à mes petites filles.

À ceux avec qui je grandis et compte sur eux, à ceux avec qui j'ai gagné de la force et un amour sans limite, et à ceux avec qui j'ai connu le sens de la vie, mes deux amis de mon chemin et mes belles fleurs, mon livre secret.

« Mes sœurs (Qatar Al-Nada et DuaaNour Al-Yaqeen). »

Et je termine la dédicace à ma deuxième mère, ma tante, ma chère amie, mon cher cœur et la joie de l'attendre, la joie de la famille (Ayham).

Enfin, celui qui a dit que je suis pour elle (l'a eue) et, si je suis venu contre sa volonté, je suis venu avec elle.

Elhamdoulah

Liste des abréviations

A : absorbance

DPPH: Le 1,1-diphényl-1,2-picrylhydrazyle

EAG : équivalent en acide gallique

EC : équivalent en catéchine

EQ : équivalent en quercétine

EVE : équivalent en vitamine E

E β C : équivalent en β -carotène

E β S : équivalent en β -sitostérol

f1r : Feuilles 1 rouges

f2r : Feuilles 2 rouges

FICI : Fractional Inhibitor Concentration Index (indice de concentration d'inhibiteurs fractionnaires)

FR : Fruits rouges

fv : Feuilles vertes

FV : Fruits verts

P (%) : pouvoir d'inhibition

UV/Vis: Spectrophotomètre UV/Vis

UV: Ultraviolet

VCEAC : Capacité antioxydante équivalente en Vitamine C

VEEAC : Capacité antioxydante équivalente en Vitamine E

Liste des figures

Figure 1 : <i>pistacia atlantica</i> . www. Ecologie.ma « Pistachier de l'atlas ».....	1
Figure 2 : Fruits rouges (FR) de <i>pistacia atlantica</i> Photos prises par Djilali Thouraya en 25/02/2025	7
Figure 3 : Fruits verts (FV) de <i>Pistacia atlantica</i> Photos prises par Djilali Thouraya en 25/02/2025	7
Figure 4 : : feuilles femelles rouges (fr) de <i>pistacia atlantica</i> Photos prises par Djilali Thouraya en 25/02/2025	7
Figure 5 : feuilles femelles vertes (fv) de <i>pistacia atlantica</i> Photos prises par Djilali Thouraya en 25/02/2025	7
Figure 6 : Le principe de formation des complexes entre les flavonoïdes et $AlCl_3$	17
Figure 7 : Le principe du dosage des tanins condensés par la vanilline.....	17
Figure 8 : Mécanisme de piégeage du radical DPPH (Konan et al., 2017).	18
Figure 9 : courbe d'étalonnage de l' α -tocophérol(VE) pour le test DPPH.....	17
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de de β -sitostérol pour le test DPPH.....	17
Figure 11 : : Courbe d'étalonnage de β -carotène pour le test DPPH.....	20
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E pour le test DPPH.....	17
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le test DPPH.....	30
Figure 14 : La courbe d'étalonnage de la quercétine pour le test DPPH.....	30
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le test DPPH.....	30
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la vitamine C pour le test DPPH.....	33
Figure 17 : La courbe de mélange (fv+FV) et (fv+FR).....	38
Figure 18 : La courbe de mélange (FR+FV).....	38
Figure 19 : La courbe de mélange (fv+FV).....	42
Figure 20 : La courbe de mélange (flr+fv).....	42

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Le rendement des extraits lipidiques.....	17
Tableau 2 :	Teneurs en tocophérols, stérols, caroténoïdes (mg/g lipide).....	24
Tableau 3 :	Les longueurs d'onde maximales d'absorption (λ max.).....	26
Tableau 4 :	Le rendement d'extraction des composés phénoliques.....	27
Tableau 5 :	Teneurs de phénols totaux, flavonoïdes et tanins (mg/g).....	34
Tableau 6 :	Les activités antioxydants VCEAC des extraits phénoliques.....	36
Tableau 7 :	FICI des mélanges lipidiques.....	38
Tableau 8 :	FICI des mélanges phénoliques.....	39

Sommaire

<i>REMERCIEMENT</i>	I
<i>Dédicaces</i>	II
Liste des abréviations	II
Liste des figures	III
Liste des tableaux	IV
Introduction	1
1. Matériel et produits utilisés:	7
2 .Matériel végétal:	7
3. Extraction des composés lipidiques :	7
3.1-Extraction des lipides	7
3.2. Dosage des tocophérols totaux.....	9
3.3. Dosage des stérols totaux	9
3.4. Dosage des caroténoïdes totaux	8
4. Extraction des composés phénoliques:.....	8
4.1. Enregistrement des spectres UV des extraits phénoliques.	9
4.2. Dosage des composés phénoliques totaux.....	9
4.3.Dosage des flavonoïdes	17
4.4. Dosage des tanins	17
5. Evaluation de l'activité antioxydante :.....	17
6. Préparation des mélanges	18
7. Les extraits lipidiques.....	17
7.1. Teneur en lipides	17
7.2.Dosage des tocophérols	17
7.3.Dosage des stérols totaux :.....	17
7.4. Dosage des caroténoïdes totaux	20
7.5. Evaluation de l'activité antiradicalaire	17
8. Les extraits phénoliques	17
8.1. Rendement de l'extraction	17

8.3. Dosage des flavonoïdes	30
8.4. Dosage des tanins condensés	30
8.5. Evaluation de l'activité antioxydante:	33
8.6. Activité antioxydante dans les combinaisons d'extraits	30
8.7. Les mélangés des lipides	30
8.8. Les mélanges phénoliques	38
Conclusion générale.....	41
Références:	45
Annexe 1 : FICI des mélanges lipidiques et phénoliques des composés bioactifs	51
Annexe 2 : liste des Produits et matériel utilisés	50

Introduction générale

Introduction

Pistacia atlantica (figure 1) est un arbre résineux spontané du bassin méditerranéen, particulièrement répandu en Algérie (**Belhadj et al., 2007**). Il est utilisé traditionnellement pour traiter diverses affections, notamment les troubles digestifs et les inflammations.

Les principales parties utilisées sont les feuilles, les fruits, les gales, les résines et parfois l'écorce. Chacune de ces parties contient des métabolites primaires et métabolites secondaires à potentiel thérapeutique.



Figure 1 : *pistacia atlantica*. [www. Ecologie.ma](http://www.Ecologie.ma) « Pistachier de l'atlas ».

Pistacia atlantica, connu sous le nom de « Betoum » en Algérie, est une espèce d'arbre de la famille des Anacardiaceae. Cet arbre peut atteindre 20 mètres de hauteur à l'âge adulte. Il se caractérise par son tronc massif et sa large couronne arrondie. Les feuilles, caduques, sont formées de 3 à 15 folioles coriaces mesurant de 2,5 cm à 6 cm de long. Elles sont alternes et composées (Ozenda, 1991). Il s'agit d'une espèce monoïque : les fleurs mâles (jaune-vert) apparaissent en grappes terminales, et les fleurs femelles en grappes axillaires. La floraison a lieu généralement de février à mars et les fruits entre mars et mai. Lorsque les fruits arrivent à maturité, ils passent d'une couleur rougeâtre à une couleur vert foncé, brune ou noire à la fin de l'été ou au début de l'automne (**Quézel&Médail,2003**).

Les plantes médicinales sont constituées d'une gamme vaste et diversifiée de composés bioactifs antioxydants qui peuvent être utilisés pour traiter efficacement de nombreuses maladies. La phytothérapie traditionnelle, en particulier, peut constituer une source importante de composés bioactifs et constitue la base du processus de découverte et de développement de médicaments (**Bazzari et al, 2018**). Les associations médicamenteuses sont utilisées pour traiter les maladies et réduire la souffrance depuis les premiers temps de l'humanité (**Chou.T.C, 2006**). La médecine traditionnelle combine fréquemment diverses espèces de plantes dans des mélanges (associations poly-herbes ou associations plante-herbe) afin d'améliorer leurs activités pharmacologiques individuelles ou de réduire leur toxicité. Différents types d'interactions, tels que des effets antagonistes, synergiques ou additifs, peuvent être obtenus grâce à ces associations (**Rodrigues et al, 2019**). L'association de plantes pour optimiser l'efficacité d'un médicament est un concept ancien et très courant dans diverses formes de phytothérapie traditionnelle (**Gertsch, 2011**). La phytothérapie chinoise, une branche de la médecine traditionnelle chinoise, est utilisée en Chine et dans d'autres pays d'Asie depuis plus de 1 000 ans pour améliorer la santé et traiter diverses affections. Dans ce domaine médical, de nombreuses plantes sont combinées afin de tirer parti de leurs effets combinés qui améliorent l'efficacité des composants bioactifs et/ou réduisent les effets indésirables liés au traitement (**Caesar et al, 2019**). Tout comme la phytothérapie chinoise, la phytothérapie européenne et la médecine indienne (Ayurveda) conçoivent généralement la synergie comme un élément essentiel de leur concept ou philosophie de traitement. Les combinaisons de plusieurs plantes ont été observées tout au long de l'histoire, développées grâce à des connaissances empiriques et formulées pour chaque patient (**Biavatti, 2009 et Williamson, 2001**). En phytothérapie, les interactions au sein et entre les extraits présentent des avantages potentiellement significatifs (**Biavatti, 2009**). Grâce à cette synergie, les combinaisons de plusieurs plantes offrent des avantages considérables, en absence des extraits individuels. Il est évident qu'une formulation multi-composante

peut obtenir de meilleurs effets thérapeutiques (**Karoleet al, 2019**). En général, cette stratégie a été fréquemment utilisée en raison de plusieurs considérations importantes, notamment : (i) augmenter suffisamment l'activité en tirant parti des interactions synergiques ou additives potentielles ; (ii) diminuer les doses requises, ce qui peut

réduire à la fois les coûts et les effets secondaires indésirables ; (iii) refléter un large spectre d'activité ; et (iv) prévenir la résistance aux médicaments grâce à la multiplicité et à la diversité structurale des composés actifs présents dans le mélange (**Bag et al, 2015, Sonam et al 2017**). Compte tenu de ces avantages thérapeutiques, cette stratégie a été largement utilisée et constitue une alternative de premier plan pour la prise en charge de maladies multi cibles, telles que le cancer, le diabète, la maladie d'Alzheimer et les maladies infectieuses, dont le sida (**Chou, 2006**). Les espèces réactives de l'oxygène, appelées radicaux libres, sont générées lors du métabolisme cellulaire aérobie ou sous l'effet de certains facteurs environnementaux (**Olszowy, 2020**). Un excès de radicaux libres dans le corps humain peut avoir de graves effets nocifs sur les systèmes de l'organisme. Il existe des preuves scientifiques solides que les radicaux libres sont capables d'endommager des biomolécules essentielles, notamment les acides nucléiques, les lipides, les protéines et les glucides (**Yakoubi et al, 2021**). Ils jouent donc un rôle clé dans le développement de nombreuses maladies : l'athérosclérose, le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives liées à l'âge comme la maladie d'Alzheimer et plusieurs maladies infectieuses (**Bhuyan et al ,2020**). Pendant leur durée de conservation, de nombreux produits alimentaires doivent être protégés contre les micro-organismes d'altération et la contamination, ainsi que contre la détérioration oxydative. Pour protéger les produits alimentaires contre les micro-organismes d'altération et la contamination, ainsi que contre la détérioration oxydative, l'industrie alimentaire utilise généralement deux types de conservateurs synthétiques : (1) les antimicrobiens et (2) les antioxydants (**Pukait et al ,2020**).

Les antioxydants sont largement utilisés comme additifs alimentaires afin de prévoir ou retarder la dégradation oxydative des aliments. Leur origine les distingue des antioxydants synthétiques et naturels. Des études de toxicité suggèrent que certains antioxydants phénoliques synthétiques sont responsables d'embryon toxiques, de perturbation endocrine et même de cancer. (**Shahidi, F., & Zhong, Y 2010**)

Les diverses fractions de *pistacia atlantica*, par exemple les fruits, les feuilles, les galls, les bourgeons, les tiges, les racines, et les écorces internes et externes du tronc, ont été soumises aux extractions hydroalcooliques, lipidiques, ou encore aux fractions insaponifiables et d'huiles essentielles. Ces extraits sont très riches en composés bioactifs tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les flavonols, les tocophérols et les terpénoïdes. Ces recherches ont révélé une activité antioxydante

très claire de ces extraits (**Toul *et al.*, 2016 ; Ben Ahmed *et al.*, 2020 ; Guenane *et al.*, 2017 ; Bentireche *et al.*, 2019 ; Gourine *et al.*, 2010 ; Sifi *et al.*, 2015a**).

Les feuilles ont été soumis à des extractions hydroalcooliques qui démontrèrent la présence de composés phénoliques actifs, causant des effets antidiabétique et antihypertenseur en raison de l'inhibition des enzymes alpha-amylase, alpha-glucosidase, et l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (**BenAhmed *et al.*, 2018**).

Les fruits immatures, à leur tour, distincts les uns des autres par diverses fractions organiques (Méthanol, n-hexane, CH₂Cl₂, n-Butanol, Acétate d'éthyle, extraits aqueux, et huiles essentielles), sont des réservoirs de composés phénoliques, flavonoïdes et terpénoïdes considérés comme possédant des activités anti-mélanogènes et anti-tyrosinase (**Eghbali-Feriz *et al.*, 2018**).

Des analyses de feuilles et de tiges à l'aide d'extraction en solvant organique telles que acétate d'éthyl, butanol, CHCl₃, n-hexane, et d'extrait aqueux ont permis l'identification de différents acides phénoliques (acide gallique, salicylique, cinnamique, 4-hydroxybenzoïque, p-coumarique, vanillique, caféique, férulique), ainsi que quelques flavonoïdes (hespéridine, rutine, quercétine, catéchine, naringinine). Lesdits composés ont présenté une activité anticholinestérasique, bénéfique en maladies neurodégénératives (**Benamar *et al.*, 2018 ; Achilli *et al.*, 2020**).

En conséquence, des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles ont présenté des activités antimicrobiennes significatives (**Roozegar *et al.*, 2016 ; Rigane *et al.*, 2017**).

Après une recherche bibliographique sur l'étude phytochimique du *pistacia atlantica*, aucune étude n'a été publiée sur l'effet des mélanges des extraits des métabolites primaires et secondaires des différents organes de cette plante sur les activités biologiques.

L'objectif de ce travail était d'étudier l'existence d'interactions synergétiques entre des extraits lipidiques et phénoliques des feuilles et fruits de *pistacia atlantica* sur l'activité antioxydante. Les extraits impliquaient deux différentes classes de

métabolites : primaires comme les lipides et les extraits phénoliques qui sont des métabolites secondaires. La méthodologie générale visait à fournir des formules d'extraits combinatoires susceptibles de présenter des effets synergétiques, en utilisant le *pistacia atlantica* comme source abondante et peu coûteuse d'extraits naturels. Beaucoup d'études sont intéressées par les combinaisons de deux plantes ou plus, l'étude entreprise ici s'intéresse de la combinaison de deux organes d'une plante à savoir : les feuilles très riches en composés phénoliques et les fruits moins riches que les feuilles. A notre connaissance c'est pour la première fois que cette méthodologie est abordée.

Matériel et méthodes

1. Matériel et produits utilisés:

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche « sciences fondamentales », université Amar Telidji, Laghouat.

Tous les produits et le matériel utilisés pour réaliser notre étude expérimentale sont regroupés dans un tableau en annexe.

2 .Matériel végétal:

Étant donné que cette étude repose sur les feuilles et les fruits de *Pistacia atlantica*, les échantillons ont été collectés dans la ville de Laghouat on 2022. Ils ont été classés selon leur couleur (rouge ou verte).



Figure 2 : Fruits rouges (FR) de *pistacia atlantica* Photos prises par *Djilali Thouraya* en 25/02/2025



Figure 3 : Fruits verts (FV) de Pistacia atlantica Photos prises par *Djilali Thouraya en 25/02/2025*



Figure 4 : feuilles femelles rouges (fr) de pistacia atlantica Photos prises par *Djilali Thouraya en 25/02/2025*



Figure 5 : feuilles femelles vertes (fv) de pistacia atlantica *Photos prises par Djilali Thouraya en 25/02/2025*

Les parties utilisées pour cette étude incluent les feuilles et les fruits. Dans un souci de simplicité, nous avons attribué des codes pour les échantillons étudiés selon la couleur des feuilles et des fruits :

- f1r : Feuilles rouges, échantillon 1
- f2r : Feuilles rouges, échantillons 2
- f v : Feuilles vertes
- FR : Fruits rouges
- FV : Fruits verts

Les échantillons ont été triés, lavés et séchés à l'ombre, puis broyés finement avant leur étude.

3. Extraction des composés lipidiques :

3.1-Extraction des lipides

En utilisant le dispositif de soxhlet de capacité 250 ml, 50 g de poudre de chaque échantillon ont été placés dans une cartouche et soumis à une extraction continue à l'aide d'un solvant apolaire (cyclohexane). Cette méthode permet une extraction des composés lipidiques. Après l'extraction, le solvant a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 45°C. À l'issue de ces étapes, nous obtenons des lipides et des tourteaux. Le rendement en lipides est calculé par le rapport entre la masse de l'extrait brut obtenu après évaporation

du cyclohexane noté **m** et la masse de la prise d'essai **m₀(m/m₀)**. Cette étape est suivie d'un processus d'élimination des cires, réalisé par l'ajout d'un volume connu d'éthanol à l'échantillon lipidique brut et gardé au réfrigérateur pendant 24h. Après séparation et évaporation de l'éthanol, nous obtenons des lipides sans cires. Les lipides sans cires sont ensuite conservés au réfrigérateur à +6 °C.

3.2. Dosage des tocophérols totaux

Nous avons adopté la méthode colorimétrique d'Emmerie-Engel (**Dacosta, Y. 2003**). On utilise les propriétés réductrices des tocophérols qui, en solution alcoolique, réduisent le fer ferrique en fer ferreux, ces derniers sont complexés par l'orthophénantroline, en donnant un complexe rouge-orangé stable dont le coefficient d'extinction molaire à 510 nm est élevé.

À partir d'une solution commerciale de la vitamine E, nous avons préparé dans l'éthanol des solutions ayant des concentrations bien déterminées comprises entre 0,01 et 0,07 g/l. Un volume de 1 ml de chaque solution préparée a été mélangé avec 1 ml de réactif d'orthophénantroline dans l'éthanol (0,4% m/v) et 0,5 ml de FeCl₃ (0,12 %m/v) dans l'éthanol. Le mélange a été incubé dans l'obscurité pendant 5 min. La lecture de l'absorbance est effectuée à 510 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800), contre un blanc. Les extraits lipidiques de chaque échantillon ont été traités selon les étapes du même protocole suivi lors du -tocophérol. Toutes les mesures ont été effectuées trois fois et les lectures moyennes ont été enregistrées.

3.3. Dosage des stérols totaux

Il s'agit d'un dosage spectrophotométrique suivant le test de Liebermann-Burchard (**Barreto, 2005**). Les stérols forment un complexe de couleur verte stable avec l'anhydride acétique en milieu acide qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 650 nm.

Tout d'abord, on prépare le réactif de Liebermann-Burchard en respectant l'ordre suivant (60 ml d'anhydride acétique + 30 ml d'acide acétique + 10 ml d'acide sulfurique).

Nous avons -sitostérol à partir des solutions chloroformiques de β -sitostérol à différentes concentrations dans une gamme de 0,32 à 1,28 g/l. 1 ml de chaque solution diluée réalisée pour une courbe d'étalonnage a été mélangé avec 2 ml du réactif de Liebermann. Le mélange a été incubé dans l'obscurité pendant 25 min à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 650 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800). Les échantillons de lipides ont été traités de la même manière et la teneur totale en stérols totaux de chaque extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de β -sitostérol. Toutes les mesures ont été effectuées trois fois et les lectures moyennes ont été enregistrées.

3.4. Dosage des caroténoïdes totaux

Il s'agit d'un dosage spectrophotométrique suivant la méthode de Thaipong (Thaipong *et al*, 2006) en donnant un complexe jaune-orangé qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 464 nm.

Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de β -carotène dans le chloroforme allant de 0,025 à 0,15 g/l ont été préparées, 2 ml de chaque solution diluée ont été prises et mesurées à 464 nm contre un blanc contenant uniquement le solvant. Pour les échantillons lipidiques, les mêmes étapes ont été suivies, la teneur en caroténoïdes a été déterminée en s'appuyant sur la courbe d'étalonnage réalisée avec le β -carotène. Toutes les mesures ont été effectuées trois fois, et les lectures moyennes ont été enregistrées.

4. Extraction des composés phénoliques:

Les tourteaux ont subi une extraction par macération à température ambiante pendant 24 h en mettant 5 g de poudre et en utilisant un volume de 100 ml de trois solvants de polarité croissante, à savoir l'acétone, le méthanol et l'eau.

Après filtration, les extraits ont été évaporés pour éliminer le solvant sous pression réduite dans un évaporateur rotatif (Rotateur vapeur) à 45 °C, sauf pour l'eau où la température a été montée à 50 °C. Le résidu sec obtenu a été pesé et le rendement

d'extraction a été calculé et enregistré pour chaque échantillon. Ils ont ensuite été dissous dans le même solvant que celui dans lequel ils ont été trempés, et les extraits ainsi obtenus ont été transférés dans des flacons hermétiques, puis conservés au réfrigérateur jusqu'à leurs études.

4.1. Enregistrement des spectres UV des extraits phénoliques.

Afin de confirmer que les extraits des solvants polaires contiennent des composés de structures phénoliques, nous avons réalisé des spectres UV dans la région 200 à 400 nm.

4.2. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Tacott et al, 1999**) constituée d'acide phosphotungstique et phosphomolybdique, qui réagit en milieu alcalin avec les phénols pour donner un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène de couleur bleue. Cette coloration est proportionnelle à la quantité de phénols et absorbe à une longueur d'onde de 760 nm. Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide gallique (mg EAG/g d'extrait). Les valeurs ont été obtenues en mesurant l'absorbance à différentes concentrations selon la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de l'acide gallique allant de 0,03 à 0,3 mg/ml ont été préparées. Par la suite, un volume de 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillée) est mélangé avec 100 µl de chaque solution préparée, et, après 2 min, 2ml de bicarbonate de sodium Na₂CO₃ (2% m/v) ont été ajoutés au mélange. Le tout est laissé réagir pendant 30 mn à l'obscurité. La lecture de l'absorbance est effectuée à 760 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800), contre un blanc, et les résultats ainsi obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les extraits des échantillons ont été traités selon les étapes du protocole suivi lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Toutes les mesures ont été effectuées trois fois, et la lecture moyenne a été enregistrée.

4.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée selon la méthode colorimétrique à l'aluminium trichlorure (AlCl_3) décrite par (**Chang *et al.*, 2002**). Cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable de couleur jaune entre les ions Al^{3+} et les groupements hydroxyles des flavonoïdes. L'intensité de la coloration, mesurée à une longueur d'onde de 409 nm, est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes présents dans l'échantillon. Les résultats sont exprimés en équivalents de quercétine (mg EQ/g de matière végétale), en utilisant une courbe d'étalonnage réalisée à partir de concentrations connues de quercétine.

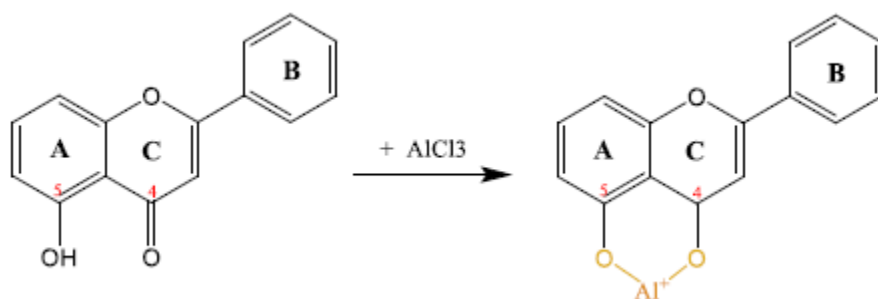


Figure 6 : Le principe de formation des complexes entre les flavonoïdes et AlCl_3

Pour établir la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de quercétine, allant de 0,03 à 0,3 mg/ml, ont été préparées. Ensuite, un volume de 1 ml de chaque solution de quercétine a été mélangé avec 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2 % (m/v) dans des tubes à essai. Après une incubation de 20 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 409 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800) contre un blanc contenant tous les réactifs sauf la quercétine.

Les extraits des échantillons ont été traités selon le même protocole que celui suivi pour les standards. Chaque échantillon a été analysé en triplicata pour garantir la fiabilité des mesures, et la moyenne des lectures a été enregistrée pour le calcul de la teneur en flavonoïdes totaux

4.4. Dosage des tanins

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins en présence d'un acide pour produire un complexe coloré qui absorbe à 500 nm. (Schofield *et al.*, 2001)

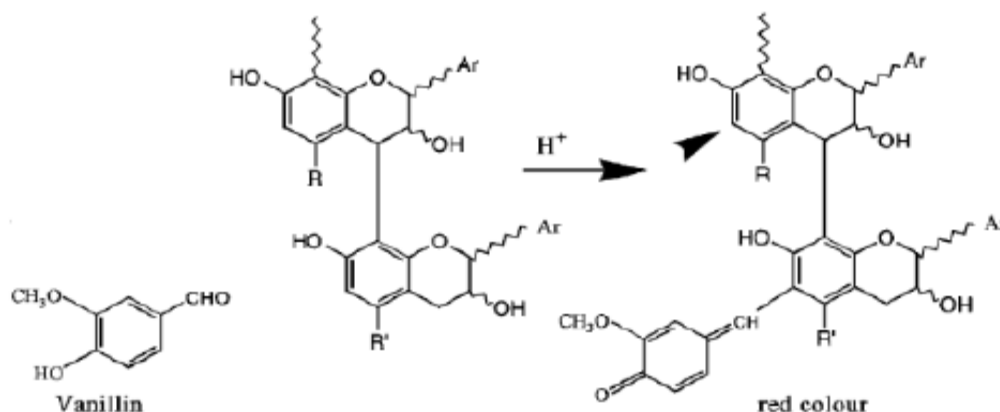


Figure 7 : Le principe du dosage des tanins condensés par la vanilline

La flèche pointe vers un deuxième site potentiellement réactif avec la vanilline.

Premièrement, nous avons préparé le réactif de vanilline (mélange à volume égal de 8 % (v/v) d'HCl à 37 % dans le méthanol et de 1 % (m/v) de vanilline dans du méthanol). Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations allant de 0,23 à 2,3 g/l de catéchine ont été préparées. Un volume de 200 µl de l'extrait et 1 ml du réactif de vanilline ont été ajoutés à l'extrait, avec incubation au bain-marie à 30 °C pendant 20 min. La lecture de l'absorbance est effectuée à 500 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800), contre un blanc. Toutes les mesures ont été effectuées trois fois, et les lectures moyennes ont été enregistrées.

5. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits lipidiques et phénoliques a été réalisée par le test de piégeage du radical DPPH (Popovici *et al.*, 2009 ; Molyneux, 2004)

C'est une méthode. Largement utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante. Elle repose sur l'utilisation de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) qui est un radical libre instable. Il se caractérise par sa capacité à produire des composés stables en acceptant un électron ou un radical hydrogène. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm.

La réduction des radicaux DPPH en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution au jaune pâle. L'évaluation de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, qui est proportionnelle à l'efficacité des antioxydants, par spectrophotométrie UV-visible, à 517 nm.

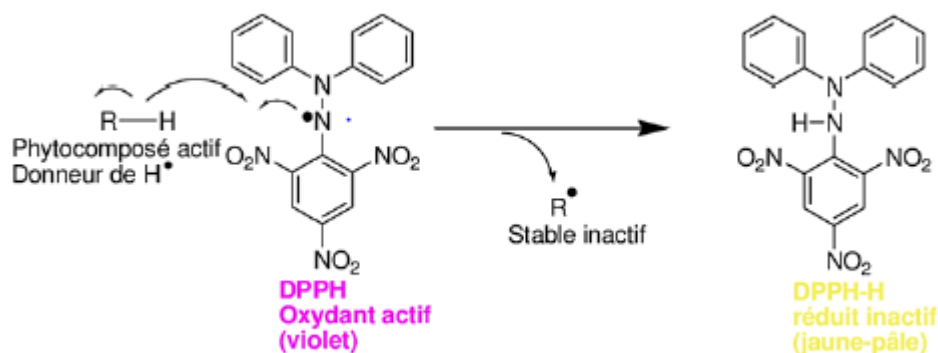


Figure 8 : Mécanisme de piégeage du radical DPPH (Konan et al., 2017).

Le DPPH (250 μ M) est solubilisée dans l'éthanol absolu pour avoir une solution de 100 ml. Les extraits lipidiques ont été dissous dans le dichlorométhane, puis 1 ml de chaque solution préparée a été additionné à 1 ml d'une solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement au vortex puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800). La vitamine E a été utilisée comme standard pour les lipides. Toutes les mesures ont été effectuées en triple. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de vitamine E par g d'huile

Il faut noter que pour les extraits phénoliques, nous avons procédé au même protocole, sauf que l'activité antioxydante a été exprimée en (μg) équivalent de l'acide ascorbique par g des tourteaux.

Les pouvoirs d'inhibition (%) du radical DPPH sont déterminés selon la formule suivante:

Pouvoirs d'inhibition du DPPH en % :

$$\text{PI (\%)} = 1 - \left(\frac{A_e}{A_c} \right) \times 100$$

A_c = Absorbance de contrôle sans antioxydant

A_e = Absorbance en présence de l'extrait.

6. Préparation des mélanges

A partir des extraits lipidiques et phénoliques individuels, nous avons procédé à la préparation de plusieurs mélanges constitués des lipides seuls et les phénols seuls.

Les proportions volumiques choisies sont 30/70, 50/50 et 70/30 ce qui a donné 18 mélanges d'extraits lipidiques et 54 extraits phénoliques. Après la préparation de ces mélanges leurs activités antioxydantes ont été évaluées par le même test que celui utilisé lors des extraits individuels.

Résultats et Discussion

7. Les extraits lipidiques

7.1. Teneur en lipides

Au terme de l'opération d'extraction des lipides, nous avons obtenu des extraits lipidiques à partir des échantillons de feuilles et de fruits collectés du *pistacia atlantica*. Le rendement de l'extraction est défini comme étant le rapport de la quantité de substances lipidiques extraites (**m**) sur la quantité de la prise d'essai de matière végétale utilisée (**m₀**) tableau(1).

À partir des valeurs enregistrées, on remarque que les rendements en lipides dans les fruits sont supérieurs à ceux dans les feuilles. Pour les fruits, la teneur en lipides dans les fruits verts (fruits matures) est plus élevée que celle dans les fruits rouges (fruits immatures). La même remarque est observée dans le cas des feuilles, ou les feuilles vertes ont enregistré une teneur en lipides supérieure que les feuilles rouges. D'une façon générale, les fruits de *Pistacia atlantica* sont plus riches en lipides que les feuilles. La teneur en lipides croît selon l'échelle suivante : FV > FR >fv> f2r > f1r,

Tableau 1 : Le rendement des extraits lipidiques

Echantillon	Masse de l'extrait brut(g)	Masse de la prise d'essai(g)	Rendement (m/m₀) x100
f1r	1,160	50	2,32
f2r	1,476	50	3,00
fv	3,574	50	7,14
FV	17,416	50	34,80
FR	9,022	50	18,04

7.2. Dosage des tocophérols

Avant de doser les principaux constituants des lipides (les tocophérols, les stérols et les caroténoïdes), nous avons éliminé les cires par leur cristallisation à température 6°C dans l'éthanol.

Nous avons calculé la quantité des tocophérols totaux dans les extraits en utilisant la courbe d'étalonnage de l'alpha-tocophérol commercial figure10. Les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalent de vitamine E par gramme de lipides(mg EVE/g de lipides).

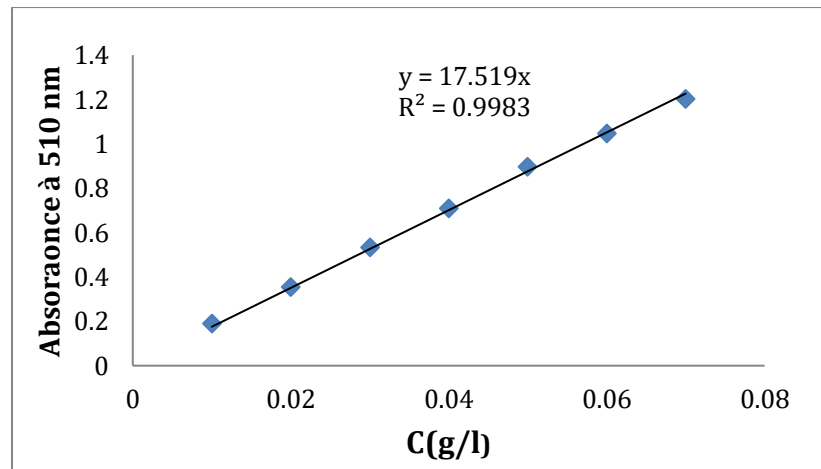


Figure 9 : courbe d'étalonnage de l'alpha-tocophérol(VE) pour le test DPPH

Les résultats de la quantification des tocophérols totaux sont regroupés dans le tableau(2). Les valeurs des quantités des tocophérols s'échelonnent entre 4,82 et 152,52mg/g de lipides. Les lipides des fruits rouges ont enregistré les plus grandes quantités en tocophérols totaux, par contre les quantités les plus faibles sont enregistrées chez les lipides des feuilles rouges.

Les fruits de *pistacia atlantica* sont considérés comme fruits oléagineuses et par conséquent ils contiennent des tocophérols, les résultats obtenus ici montrent que les

lipides des fruits rouges sont plus riches en tocophérols totaux par rapport aux lipides des fruits verts, la quantité des tocophérols dans les fruits rouges est 10 fois plus que dans les fruits verts. Il est établi que la maturation des fruits de *pistacia atlantica* se déroule en deux phases de grande ampleur : une phase immature marquée par la rougeur des fruits, suivie d'une phase de maturité au cours de laquelle les fruits deviennent verts. Les fruits rouges sont principalement riches en tocophérols, des lipophiles antioxydants composés, intervenant un rôle fondamental dans la protection de la plante et des tissus contre les dommages oxydatifs d'origine environnementale externe durant le développement de la maturité (Amari et al., 2011 ; Bekhechi et al., 2014). Cette richesse en tocophérols pouvait donc participer à préserver l'intégrité physiologique du fruit et à favoriser son Développement vers la maturité.

Toutefois, si compare nos résultats par rapport à autres études réalisées par d'autres auteurs sur le pistachier de l'atlas, on remarque que les résultats obtenus dans cette études sont supérieurs à ceux de (Benguechoua *et al* 2021)

Tableau 2 : Teneurs en tocophérols, stérols, caroténoïdes (mg/g lipide)

	Teneur en caroténoïdes (mg/g)	Teneur en tocophérols(mg/g)	Teneur en stérols(mg/g)	Teneur en DPPH (µg/g)
f1r	32,25±0,02	5,94±0,00	160,85±0,02	44,31±0,04
f2r	32,78±0,01	4,82±0,00	146,34±0,06	25,91±0,01
fv	308,21±0,02	40,33±0,01	181,62±0,01	4,94±0,01
FV	4,82±0,02	14,91±0,04	71,55±0,01	38,95±0.10
FR	6,97±0,02	152,52±0,02	75,99±0,01	27,12±0,14

7.3. Dosage des stérols totaux :

La figure (11) représente la courbe d'étalonnage du β -sitostérol. Les quantités des stérols dans les échantillons des feuilles et des fruits de *pistacia atlantica* sont calculées à partir de cette courbe d'étalonnage, elles sont exprimées en mg équivalent de β -sitostérol par gramme de lipides (mg E. β . S / g).

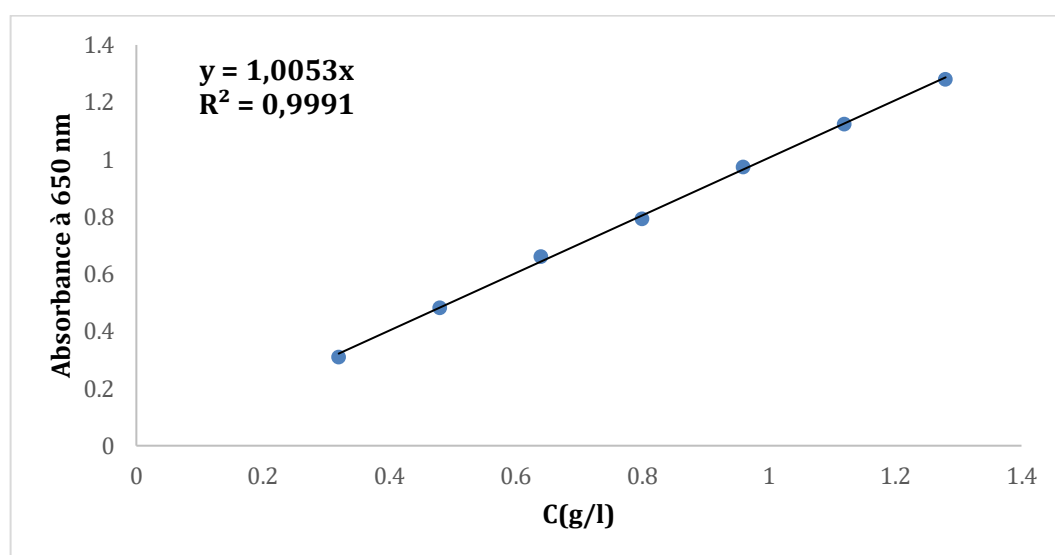


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de de β -sitostérol pour le test DPPH

Les résultats de la quantification des stérols totaux sont regroupés dans le tableau(2). Les valeurs des quantités en stérols totaux varient entre 71,55 et 181,62 mg /g les lipides des feuilles, surtout les vertes, sont les plus riches en stérols par rapport aux lipides des fruits qui ont enregistré des quantités proches de l'ordre 75,99 mg/g.

Les feuilles vertes (fv) présentent la plus forte teneur en stérols totaux (181,62 mg/g), suivies par les feuilles rouges flr (160,85 mg/g), puis f2r (146,34 mg/g). Cette tendance montre clairement une richesse plus marquée en stérols au niveau des feuilles. En ce qui concerne les fruits, les teneurs sont significativement plus faibles : 75,99 mg/g pour les fruits rouges (FR) et 71,55 mg/g pour les fruits verts (FV). Contrairement à ce que l'on observe souvent pour les lipides totaux, ici, les feuilles sont globalement plus

riches en stérols que les fruits. Cette observation pourrait s'expliquer par le rôle structurel plus important des stérols dans les membranes cellulaires des tissus végétatifs actifs des feuilles. La quantité des teneurs en stérols totaux décroît comme suit : fv > flr > f2r > FR > FV.

Les feuilles de *pistacia atlantica*, et en particulier les feuilles vertes, constituent une source majeure de stérols végétaux, alors que les fruits en contiennent beaucoup moins, quel que soit leur stade de maturité. Contrairement aux lipides globaux où les fruits dominent souvent, les stérols semblent plus concentrés dans les structures végétatives. Les fruits, bien qu'ils soient les plus riches en lipides contiennent moins de stérols, notamment les fruits verts (FV).

Toutefois, si compare nos résultats par rapport à autres études réalisées par d'autres auteurs sur le pistachier de l'atlas, on remarque que les résultats obtenus dans cette étude sont comparables avec (Benguechoua *et al* 2021).

7.4. Dosage des caroténoïdes totaux

La figure(12) représente la courbe d'étalonnage du β -carotène. Cette courbe nous a permis de calculer les teneurs des caroténoïdes dans les échantillons de *pistacia atlantica*. Les quantités des caroténoïdes sont exprimées en milligrammes équivalent de la β -carotène par gramme de lipides(mg E. β .C/g de lipides)

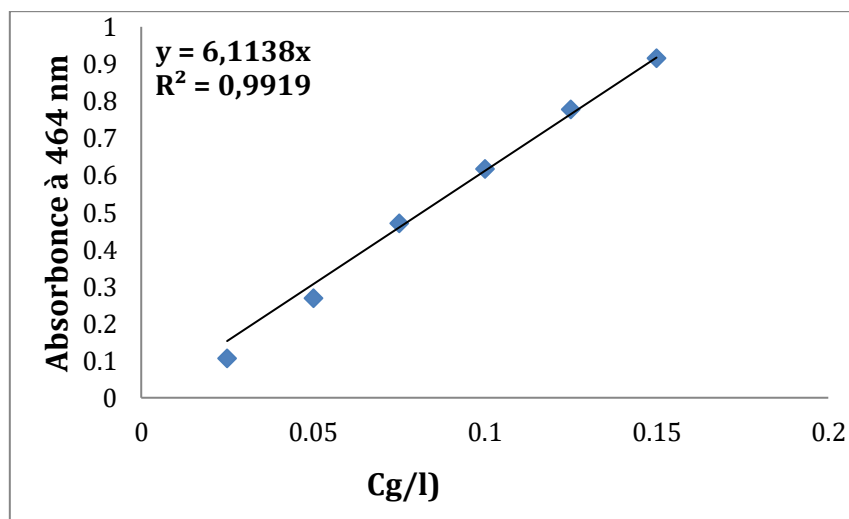


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de β -carotène pour le test DPPH

Les résultats de la quantification des caroténoïdes totaux sont regroupés dans le tableau(2). Les valeurs des quantités des caroténoïdes s'échelonnent entre 4,82et 308,21 mg /g. On remarque que les feuilles, particulièrement vertes, sont les organes les plus riches en caroténoïdes, elles présentent une très forte teneur en caroténoïdes (308,21 mg/g), probablement due à une forte activité photosynthétique. Les feuilles rouges (f1r, f2r) contiennent des quantités moins faibles en caroténoïdes (≈ 32 mg/g) par rapport aux feuilles vertes (environ 10 fois moins). Les fruits (FV, FR) sont nettement plus pauvres en caroténoïdes par rapport aux feuilles et notamment les vertes.

A partir des résultats de dosage des principaux constituants des lipides, on peut conclure que les fruits rouges de *pistacia atlantica* contiennent des quantités importantes en tocophérols par rapport aux feuilles. Par contre pour les stérols et les caroténoïdes, les feuilles ont dévoilés des quantités plus supérieures à celles des fruits.

Toutefois, si compare nos résultats par rapport à autres études réalisées par d'autres auteurs sur le pistachier de l'atlas, on remarque que les résultats obtenus dans cette études sont supérieur a de (Benguechoua *et al* 2021)

Les teneurs en tocophérols, stérols et caroténoïdes calculées par la formule suivante

$$m \text{ (mg/g lipide)} = \frac{A(\text{moy})}{k} \times d \times V(l) \times \frac{1}{m(g)} \times 1000$$

A(moy) : absorbance moyenne

K : la pente de la courbe d'étalonnage

d : facteur de dilution

V(l) : volume de dilution

m (g) : la masse de l'échantillon

7.5. Evaluation de l'activité antiradicalaire

L'évaluation de l'activité antiradicalaire a été déterminée par le test du radical libre DPPH base sur la diminution de la couleur du radical en présence de l'extrait. A l'aide de la courbe de l'étalonnage de l'alpha-tocophérol figure (13), nous avons évalué l'activité antiradicalaire des extraits lipidiques des feuilles et fruits. La capacité anti radicalaire est exprimée par VEEAC ($\mu\text{g/g}$ lipide), qui est définie comme la concentration en g/l d'une solution de la vitamine E ayant la même capacité antioxydante d'une solution de concentration de 1g/l de l'extrait.

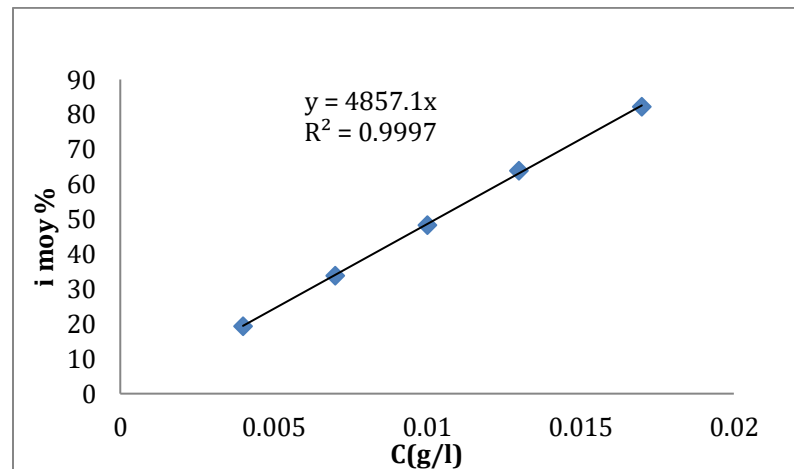


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E pour le test DPPH

Les valeurs de VEEAC $\mu\text{g/g}$ lipides sont données dans le tableau (2) elles s'échelonnent entre 4,94 et 44,31 $\mu\text{g/g}$. Il faut noter ici que plus la valeur de VEEAC est grande plus l'activité anti radicalaire est importante. Basant sur cette définition, on remarque que la plus grande valeur de VEEAC est enregistrée chez l'échantillon f1r, et que la plus petite valeur est enregistrée chez l'échantillon fv. Concernant les fruits, on remarque que l'échantillon FV a enregistré une valeur de 38,95 $\mu\text{g/g}$ qui n'est trop éloignée de celle de l'échantillon f1r, l'échantillon FR a enregistré une valeur de 27,12 $\mu\text{g/g}$ plus petite que celle de l'échantillon FV. A partir des valeurs de VEEAC, on peut classer le pouvoir antiradicalaire des extraits lipidiques des feuilles et des fruits de *pistacia atlatica* par ordre décroissant selon l'échelle suivante: f1r> FV> FR> f2r>fv.

Il est connu que les composés responsables de l'activité antioxydante dans les extraits lipidiques sont les tocophérols. En se basant sur cette hypothèse, on peut dire que plus la quantité des tocophérols est grande, plus l'activité antioxydante est importante. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons essayé de trouver une corrélation entre la teneur en tocophérols totaux et l'activité antioxydante. Malheureusement, une corrélation très faible a été trouvée entre l'activité antioxydante et la quantité en tocophérols totaux.

Si on classe les échantillons lipidiques étudiés selon leur pouvoir antioxydant décroissant, on dresse le classement suivant: FR > fv > FV > f1r > f2r. Ce classement est tout à fait différent de celui obtenu par les valeurs expérimentales, cela montre que l'activité antioxydante ne dépend pas que de la quantité en tocophérols totaux, elle dépend de la structure des composés tocophéroliques individuels α , β , γ , δ –tocophérols (relation structure-activité).

Une analyse chromatographique liquide à haute performance CLHP est nécessaire pour identifier les tocophérols individuels contenus dans les extraits lipidiques étudiés et par conséquent on peut corréler l'activité antioxydante avec les tocophérols individuels.

8. Les extraits phénoliques

Dans le but de confirmer la présence des composés à structures phénoliques dans les extraits des tourteaux des feuilles et des fruits de *pistacia atlantica* obtenus à l'aide des solvants (tels que le méthanol, acétone et eau), une analyse spectroscopique dans l'ultraviolet a été réalisée. Les spectres UV ont été enregistrés dans la gamme de longueurs d'onde de 200 à 400 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Cette région de l'espace spectral est caractéristique de l'absorption des molécules organique insaturés, tels les composés phénoliques.

Le tableau (3) englobe les valeurs des longueurs d'onde maximale λ_{\max} d'absorption de chaque extrait.

Tableau 3 : les longueurs d'onde maximales d'absorption (λ_{\max} .)

	Acétone	Méthanol	Eau
Extrait	λ_{\max} (nm)	λ_{\max} (nm)	λ_{\max} (nm)
f1r	274,5	275,50	271
f2r	275	275,5	268
fv	274,5	276,5	268,5
FV	254	268,5	264,5
	349	349	
FR	268	272	269
	349	351	

Tous les extraits absorbent dans l'UV entre 200 et 400 nm. Les extraits des feuilles que soient méthanolique, acétonique ou aqueux montrent une seule bande d'absorption maximale dans la région 264–276 nm, typique des composés phénoliques (phénols simple ou tanins). Les extraits organiques des fruits montrent deux bandes d'absorption la première dans l'intervalle 254-272nm, la deuxième est entre 349 et 351nm, ces deux bandes sont caractéristiques des composés phénoliques de structures flavonodiques, ce qui indique que les fruits rouges et vert de *pistacia atlantica* contiennent des quantités importantes de flavonoïdes.

8.1. Rendement de l'extraction

Les tourteaux délipidés ont servi à l'extraction des composés phénoliques par les trois systèmes précités. Les rendements des différents extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité de substances végétales extraites (résidu sec extrait) sur la quantité de matière végétale utilisée (5 g) pour tous les échantillons tableau (4)

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{masse de résidu sec extrait (g)}/5) \times 100$$

Tableau 4 : Le rendement d'extraction des composés phénoliques

Echantillon	Acétone		Méthanol		eau	
	Masse de résidu sec extrait (g)	Rendement (%)	Masse de résidu sec extrait (g)	Rendement (%)	Masse de résidu sec extrait (g)	Rendement (%)
f1r	0,39	7,8	2,26	45,2	1,447	28,94
f2r	0,38	7,6	2,48	49,6	1,57	31,4
fv	0,27	5,4	1,64	32,8	1,54	30,8
FV	0,29	5,8	0,88	17,6	1,15	23
FR	0,06	1,2	1,3	26	1,5	30

Après extraction des composés phénoliques à l'aide des trois solvants (acétone, méthanol et eau), les rendements ont été comparés pour les échantillons de feuilles et de fruits de *Pistacia atlantica* tableau(4). Les rendements dépendaient du solvant utilisé ainsi que du type et du stade de maturité du matériel végétal.

En général, le méthanol s'est avéré être le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques, avec des rendements significativement plus élevés que l'acétone et l'eau. La polarité intermédiaire du méthanol signifie qu'une très large gamme de composés phénoliques peut être extraite.

En comparant le rendement avec les échantillons, les feuilles rouges (f1r et f2r) ont donné le meilleur rendement en méthanol, respectivement 45,2 % et 48 %, ce qui indique une forte proportion de composés phénoliques solubles dans le méthanol. Le rendement aqueux de f1r était également relativement élevé (28,94 %), ce qui indique une bonne extraction des composés solubles dans l'eau.

Évidemment, le rendement en méthanol des feuilles vertes (fv) était inférieur à celui des feuilles rouges (32 %), mais supérieur au rendement obtenu avec l'acétone (5,4 %) et l'eau (30,8 %). Par contre, le rendement du méthanol (17,6 %) et de l'acétone (5,8)

%) est inférieur à celui des fruits verts (FV), avec une extraction moyenne à l'eau (23 %). Le rendement en méthanol des fruits rouges (FR) était de 26 %, légèrement supérieur à celui des fruits verts (FV), avec le rendement en eau le plus élevé (30 %) de tous les échantillons. Les rendements en phénols montrent les tendances suivantes : Solvants : Méthanol > Eau > Acétone.

Échantillons de méthanol : f2r>f1r>fv> FR > FV.

Échantillons d'acétone : f1r>f2r> FV >fv> FR.

Échantillons d'eau : f2r >fv> FR > f1r >FV.

8.2. Dosage des phénols totaux

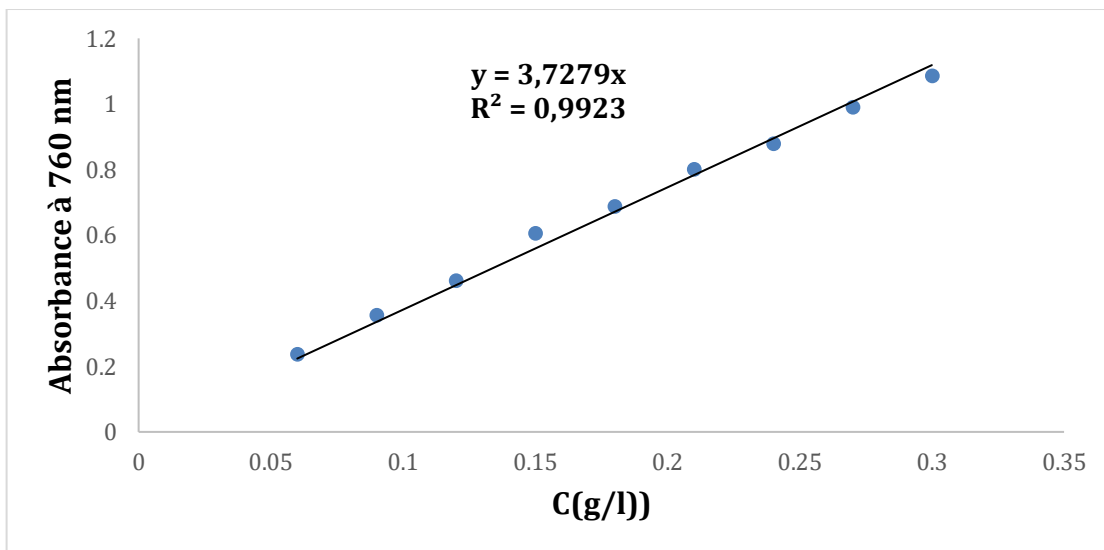


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le test DPPH

Après avoir extrait les composés phénoliques totaux, nous avons obtenu des extraits de feuilles et de fruits de *Pistacia atlantica* en utilisant trois solvants différents: l'acétone, le méthanol et l'eau. À partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique figure (15), nous avons calculé les quantités des phénols totaux en milligramme en équivalent de l'acide gallique par gramme des tourteaux (EAG mg/g). Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau (5). La quantité en phénols totaux dans tous les échantillons varie de 0,14 à 5,32 milligrammes par gramme de matière sèche.

Les résultats montrent que le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des phénols totaux, avec des concentrations nettement supérieures à celles obtenues avec l'acétone et l'eau pour la majorité des échantillons. Parmi tous les extraits, les feuilles rouges (f2r) dans l'extrait du méthanol contiennent le niveau le plus élevé de phénols totaux (5,32 mg/g), suivies par les feuilles rouges (f1r) (4,1 mg/g). Les fruits verts avaient la teneur la plus basse en phénols totaux ne dépassant pas la valeur 0,68 mg/g.

Pour les extraits de l'eau, nous remarquons que les teneurs en phénols totaux dans les feuilles et les fruits rouges sont pratiquement voisines de 2,39 jusqu'à 3,16 mg/g. Les extraits des fruits verts ont montré un contenu en phénols totaux plus bas 0,97mg/g. Au contraire et d'une façon générale, les extraits de tous les échantillons de l'acétone avaient le niveau le plus bas (0,14 mg/g) enregistré dans les extraits des fruits rouges, indiquant l'extraction limitée des composés phénoliques avec ce solvant dans ce type de tissu végétal.

Il est connu que les feuilles (rouges et vertes) ont tendance à être plus riches en composés phénoliques que les fruits. Cette tendance est particulièrement évidente avec l'utilisation de solvants organiques. En effet, bien que les fruits rouges atteignent une concentration de 2,39 mg/g en utilisant de l'eau, celle-ci est inférieure à ce qui a été observé avec les feuilles dans les mêmes conditions (jusqu'à 3,16 mg/g pour les feuilles rouges et 2,97 mg/g pour les feuilles vertes).

En ce qui concerne les feuilles, nous avons observé que les feuilles rouges (surtout f2r) avaient tendance à contenir plus de phénols que les feuilles vertes, surtout dans les extraits de méthanol. Ceci suggère une variation du métabolisme phénolique entre les stades de maturité des feuilles ou entre les individus. Cependant, dans les extraits aqueux, cette différence est moins prononcée, et les feuilles vertes (fv) ont une teneur similaire aux feuilles rouges (f1r et f2r), ce qui peut s'expliquer par la plus grande solubilité de certains composés communs dans l'eau

Tableau 5 : Teneurs de phénols totaux, flavonoïdes et tanins (mg/g)

		Teneurs de phénols totaux, flavonoïdes et tanins (mg/g)				
	Solvant	f1r	f2r	fv	FV	FR
Phénols totaux	Acétone	1,53±0,07	0,93±0,05	1,41±0,03	0,9±0,04	0,14±0,03
	Méthanol	4,1±0,01	5,32±0,02	3±0,02	0,68±0,02	1,72±0,02
	Eau	3,16±0,01	2,57±0,07	2,97±0,05	0,97±0,03	2,39±0,02
Flavonoïdes	Acétone	1,67±0,02	2,29±0,03	1,870±0,01	1,49±0,02	1,7±0,02
	Méthanol	3,77±0,12	5,29±0,04	3,41±0,01	0,71±0,01	0,54±0,01
	Eau	2,36±0,01	1,34±0,02	1,62±0,01	1,01±0,02	1,59±0,01
Tanins	Acétone	0,43±0,03	0,43±0,04	0,25±0,02	0,56±0,02	0,19±0,02
	Méthanol	1,97±0,03	1,74±0,01	1,29±0,05	0,3±0,08	0,22±0,02
	Eau	0,29±0,03	0,25±0,06	0,24±0,02	2,04±0,07	2,29±0,10

Les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins par la formule suivante :

$$m \text{ (mg/g lipide)} = \frac{A(\text{moy})}{k} \times d \times V(l) \times \frac{1}{m(g)} \times 1000$$

A (moy) : absorbance moyenne

d : facteur de dilution

K : la pente de la courbe d'étalonnage

m (g) : la masse de l'échantillon

V(l) : volume de dilution

8.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine figure(16).

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche tableau(5)

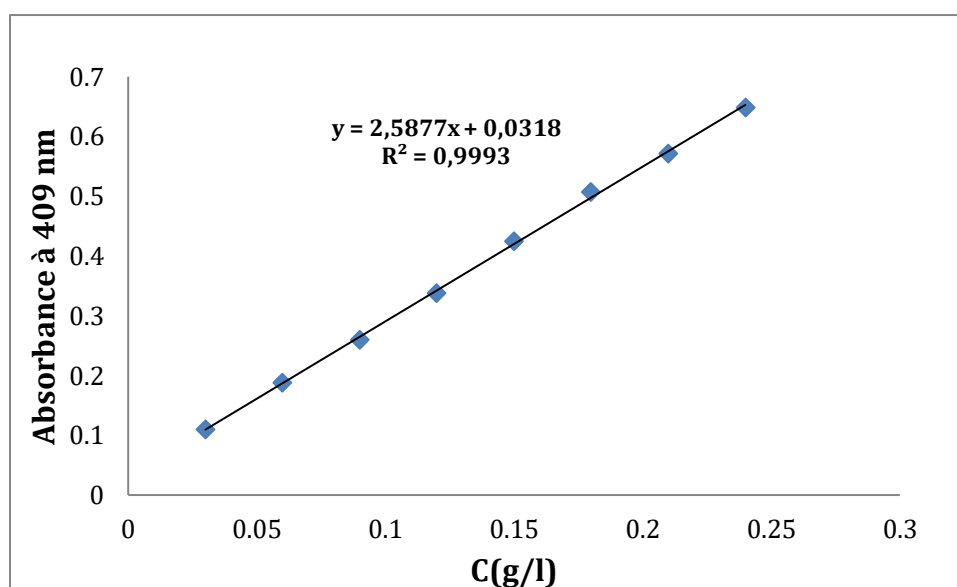


Figure 14 : La courbe d'étalonnage de la quercétine pour le test DPPH

A l'aide de trois solvants de polarité décroissante : acétone, méthanol et eau. Les teneurs en flavonoïdes (exprimées en mg/g de matière sèche) varient avec l'échantillon végétal (feuilles rouges, feuilles vertes, fruits rouges et verts) et le solvant utilisé tableau (5), de 0,54 à 5,29 mg/g. Le méthanol a permis le rendement le plus optimal de flavonoïdes dans presque tous les échantillons, suivi par l'eau et l'acétone.

Les feuilles rouges, en particulier f2r, ont démontré un taux presque du maximum de flavonoïdes avec le méthanol (5,29 mg/g), soit une très forte concentration de ces molécules bien qu'elles soient au stade de maturité. Les feuilles rouges ont également une très grande richesse en flavonoïdes, ce qui est particulièrement observé dans le méthanol (3,41 mg/g) et l'acétone (1,87 mg/g), donnant ainsi la preuve de leur riche contenu en

métabolites secondaires. Les flavonoïdes extraits des fruits rouges étaient quasi-modérés, sans exception d'une meilleure extraction en eau (1,59 mg/g) et acétone (1,7 mg/g) face au méthanol (0,54 mg/g).

Les fruits verts présentent la plus basse teneur en flavonoïdes, en particulier dans le méthanol (0,71 mg/g), ce qui pourrait être un indice de perte de flavonoïdes avec l'âge.

Pour les extraits des feuilles, et en se basant sur les résultats trouvés à partir des spectres UV, nous avons enregistré l'absence de bandes d'absorption caractéristiques des flavonoïdes, ce qui montre que les extraits des feuilles ne contiennent pas des flavonoïdes. Les résultats de dosage des flavonoïdes par spectrophotométrie en utilisant AlCl_3 comme agent complexant sont en contradiction avec l'étude spectrale des extraits des feuilles. Cela pourrait être expliqué par la formation des complexes avec le AlCl_3 et les fonctions hydroxyles OH non flavonoïdiques et par conséquent, nous pouvons conclure que le dosage colorimétrique avec le AlCl_3 n'est pas spécifique et fiable pour les extraits de *pistacia atlantica*.

8.4. Dosage des tanins condensés

La figure (15) représente la courbe d'étalonnage de catéchine. Cette courbe nous a permis de calculer les teneurs des tanins dans les échantillons de *Pistacia atlantica*. Les quantités des tanins sont exprimées en milligrammes équivalent de la catéchine par grammes de tourteaux (mg ECAT /g de tourteau

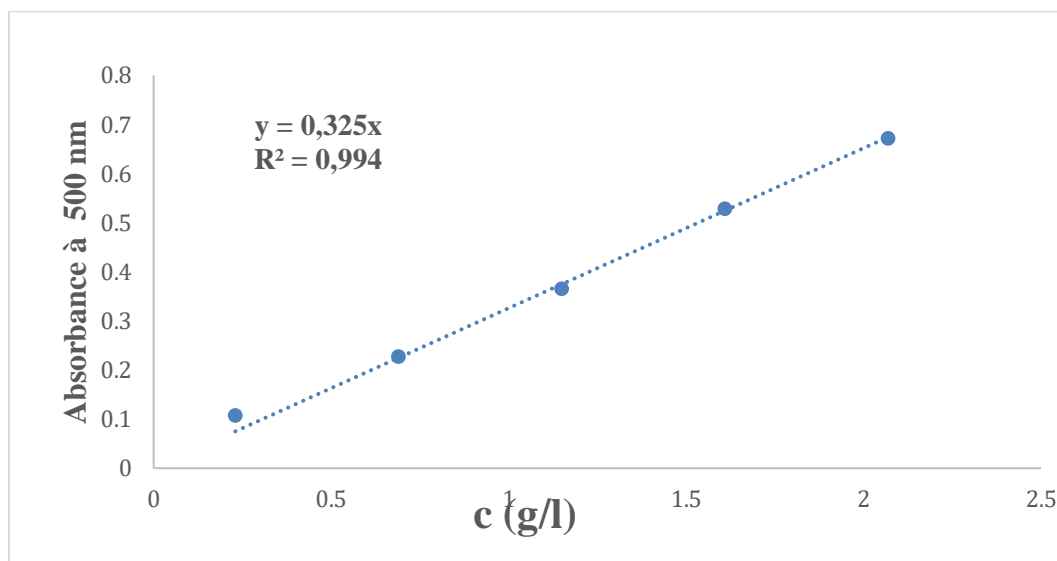


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le test DPPH

Les quantités des tanins dans nos extraits varient de 0,19 à 2,29 (mg/g). Le méthanol s'est révélé être le solvant le plus efficace pour les feuilles, notamment les feuilles rouges (f1r : 1,97 mg/g et f2r : 1,74 mg/g), indiquant une forte accumulation de tanins à ce stade. Les feuilles vertes (fv) présentent une teneur intermédiaire en tanins avec le méthanol (1,29 mg/g), mais de faibles niveaux avec l'eau et l'acétone. À l'inverse, l'eau s'est avérée la plus performante pour l'extraction des tanins à partir des fruits, donnant les teneurs les plus élevées dans les fruits rouges (FR : 2,29 mg/g) et verts (FV : 2,04 mg/g), ce qui reflète une bonne hydrosolubilité des tanins à ces stades de maturation. L'acétone, en général, a donné les rendements les plus faibles, à l'exception de FV (0,56 mg/g). Le classement global par solvant optimal montre que l'eau est la

meilleure pour les fruits (FR > FV > f1r > f2r > fv), tandis que le méthanol est plus adapté aux feuilles (f1r > f2r > fv > FV > FR).

8.5. Evaluation de l'activité antioxydante:

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits a été déterminée par le test du radical libre DPPH qui est un test de routine simple et rapide, basé sur la diminution de la couleur du radical en présence de l'extrait.

A l'aide de la courbe d'étalonnage de la vitamine C Figure (16), nous avons évalué l'activité antioxydante des différents extraits. La capacité antiradicalaire est exprimée par VCEAC ($\mu\text{g/g}$ de tourteaux) pour les phénols, définie comme la concentration en (g/l) d'une solution de vitamine C ayant la même capacité antioxydante d'une solution de 1(g/l) de l'extrait étudié.

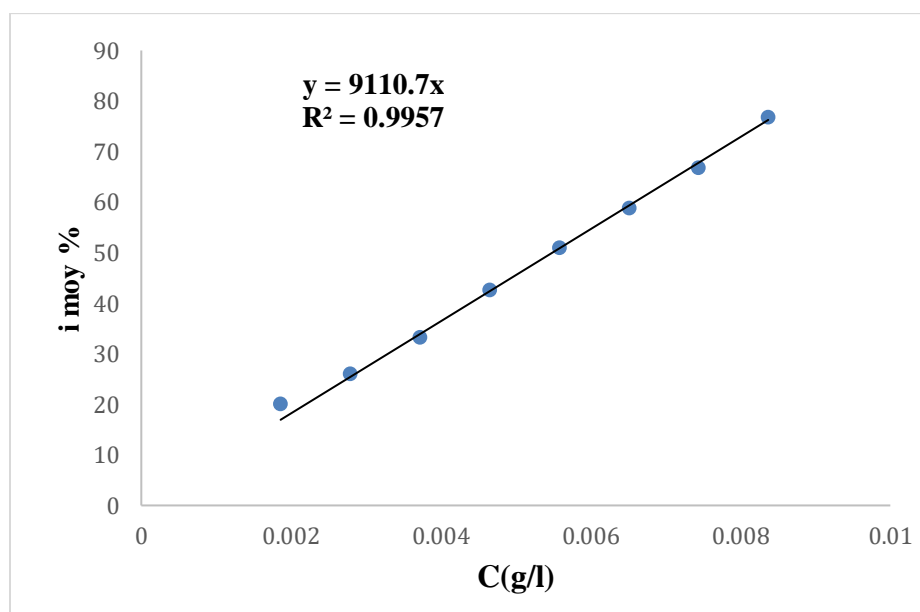


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la vitamine C pour le test DPPH

Les valeurs de VCEAC $\mu\text{g/g}$ phénols sont données dans le tableau (6), elles s'échelonnent entre 9,94 et 141,475 $\mu\text{g/g}$. Les résultats du test DPPH révèlent que les valeurs les plus élevées de VEEAC sont obtenues avec les extraits aqueux, notamment pour les échantillons FR (141,475 $\mu\text{g/g}$), FV (130,592 $\mu\text{g/g}$) et fv (94,914 $\mu\text{g/g}$), ce qui suggère une contribution importante de composés hydrosolubles, à l'activité antioxydante globale. L'extrait aqueux de FR présente la valeur VEEAC la plus élevée, tandis que les

extraits méthanolique et acétonique du même échantillon montrent des valeurs bien plus faibles (9,94 et 11,38 $\mu\text{g/g}$, respectivement), soulignant le rôle crucial de l'eau comme solvant d'extraction des composés antioxydants que renferme le *pistacia atlantica*. Globalement, on observe la tendance suivante en termes d'activité antiradicalaire : eau > méthanol > acétone.

Les extraits des feuilles et des fruits de la plante *pistacia atlantica* montrent des différences significatives en composés phénoliques et en activité antioxydante selon le type d'organe et de solvant. En général, les extraits organiques de feuilles ont une teneur plus élevée en composés phénoliques que les extraits des fruits comme il est indiqué dans la littérature (**Chelghoum2021**) et par conséquent, les feuilles ont un niveau plus élevé d'antioxydants solubles dans les solvants organiques afin de contrer les stress environnementaux (rayonnement UV, déshydratation...). Dans notre étude, les extraits aqueux des fruits de *pistacia atlantica* et notamment les fruits verts ont montré une capacité antiradicalaire très importante que les feuilles, même qu'ils contiennent une quantité plus faible que les feuilles. Cela indique que la capacité antioxydante ne dépend pas du contenu en phénols totaux mais des structures chimiques des composés phénoliques.

8.6. Activité antioxydante dans les combinaisons d'extraits

À l'heure actuelle, il n'existe aucune méthodologie standardisée permettant de quantifier les interactions synergiques antioxydantes. En effet, de nombreux chercheurs ont utilisé différentes méthodes, telles que l'indice de combinaison (Yakoubi et al., 2021), la méthode de l'isobologramme (Sentkowska et Pyrzynska, 2018), et en comparant simplement l'effet combinatoire et l'effet individuel à la même dose (Gupta et al., 2014). Dans la présente étude, nous avons utilisé l'indice de combinaison pour analyser les effets synergiques possibles. L'indice de combinaison (CI) est un modèle pratique conçu pour analyser les interactions synergiques entre deux ou plusieurs composants (Zhou et al., 2016). Par ailleurs, De plus, comparer l'effet combinatoire à l'effet individuel est une erreur courante dans l'analyse de la synergie, car dans ce cas, il est impossible de distinguer entre un effet additif et un effet synergique (Zhou et al., 2016).

Avant d'examiner les résultats, il convient de définir quelques termes importants:

- Effet synergique : si la combinaison de deux extraits (feuilles + fruits) déclenche une activité biologique (antioxydante) supérieure à la somme des effets individuels de

Tableau 6 : Les activités antioxydants VCEAC des extraits phénoliques.

Les activités antioxydants VCEAC des extraits phénoliques						
Analyse	Solvant	f1r	f2r	fv	FV	FR
DPPH	Acétone	31,106±0,04	43,729±0,03	54,676±0,06	75,428±0,02	11,38±0,02
	Méthanol	50,227±0,01	118,615±0,04	138,445±0,07	18,822±0,01	9,94±0,05
	Eau	93,022±0,04	37,319±0,04	94,914±0,02	130,692±0,03	141,475±0,01

chacun des extraits utilisés séparément. Une telle synergie peut être due à l'interaction complémentaire entre divers composés bioactifs présents dans chaque extrait.

- Effet additif : L'effet additif se produit lorsque la combinaison de deux extraits végétaux produit une activité biologique qui est la somme des effets observés individuellement pour chacun d'eux. Cela signifie que les extraits fonctionnent indépendamment, sans s'influencer mutuellement de manière positive ou négative.

- Effet antagoniste : L'effet est qualifié d'antagoniste lorsque l'interaction entre deux extraits végétaux réduit l'activité biologique globale par rapport aux effets qu'ils auraient exercés seuls. L'effet est peut-être dû à des interactions chimiques négatives ou à une interférence entre certains éléments des extraits.

Ces trois effets peuvent être classés par la valeur du facteur nommé indice de concentration d'inhibiteur fractionnaire (ICIF) qui est calculée par la relation:

Avec :

- Synergie forte ($0,1 < FICI \leq 0,3$).
- Synergie ($0,3 < FICI \leq 0,7$).
- Synergie modérée ($0,7 < FICI \leq 0,85$).
- Synergie légère ($0,85 < FICI \leq 0,9$).
- Presque additif ($0,9 < FICI \leq 1,1$).
- Antagonisme léger ($1,1 < FICI \leq 1,2$).
- Antagonisme modéré ($1,2 < FICI \leq 1,45$).
- Antagonisme ($1,45 < FICI \leq 3,3$).

8.7. Les mélangés des lipides

Les résultats de l'activité antioxydante des mélanges des extraits lipidiques des feuilles et des fruits de *pistacia atlantica* sont regroupés dans le tableau (7) Différentes interactions sont observées entre les extraits lipidiques. D'après les résultats du tableau (7) on remarque que tous les mélanges qui sont constitués par les feuilles vertes (fv) présentent des synergies. Une forte synergie est enregistrée dans les mélanges de feuilles vertes avec les fruits verts et rouges, les valeurs de CI sont 0,34 et 0,29 dans les deux mélanges fv+FV 30/70 et fv+FR 70/30 respectivement figure(17), de même des synergies sont aussi observées dans mélanges constitués par 50/50 de ces deux organes fv, FV et

FR et 70/30 de feuilles rouges fr1 et feuilles vertes fv. Deux effets additifs sont observés dans le cas des mélanges constitués par flr et fv 30/70 et fv et FV 70/30. Tous les autres mélanges présentent des effets antagonismes.

Les effets synergiques résultant des combinaisons des feuilles vertes pourraient être commentés par le contenu important en tocophérols et caroténoïdes, composés connus pour leurs activités antioxydantes. Une remarque qui attire l'attention, c'est que l'extrait lipidique individuel de fv dévoile une faible activité antioxydante. Par contre, dans les mélanges avec FV, FR et flr, ils montrent des effets synergiques. Cette constatation pourrait être expliquée par le fait que les extraits FV, Fr et flr individuels possèdent de fortes activités antioxydantes par rapport aux extraits fv.

Tableau 7 : valeurs de FICI des mélanges lipidiques

	1/FICI		
	30/70	50/50	70/30
flr+fv	1,08	0,72	0,43
flr+FV	2,99	7,87	6,15
flr+FR	2,35	1,99	4,16
fv+FV	0,34	0,71	1,07
fv +FR	1,52	0,69	0,29
FR+FV	2,63	2,46	2,61

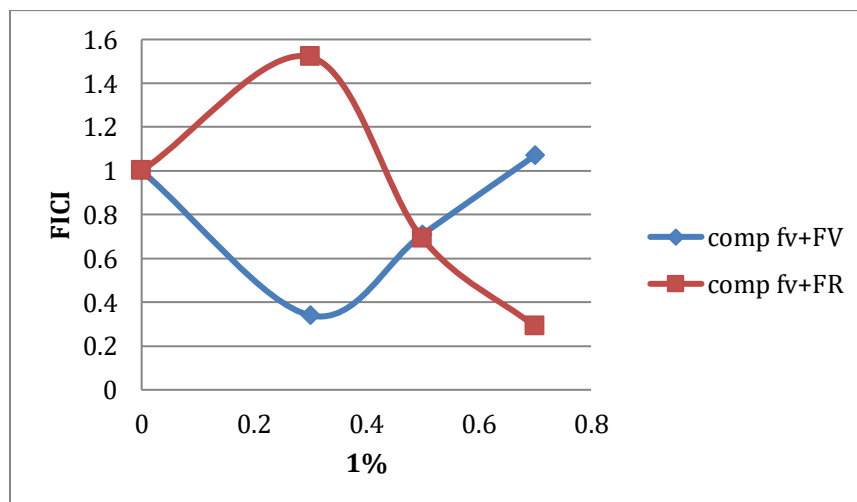


Figure 17 : La courbe de mélange (fv+FV) et (fv+FR)

8.8. Les mélanges phénoliques

Les résultats de l'activité antioxydante des mélanges des extraits phénoliques des feuilles et des fruits de *pistacia atlantica* sont regroupés dans le tableau (8) Différentes interactions sont observées entre ces extraits phénoliques. D'après les résultats du tableau(8) et les figure (18) (19) (20) on peut dire que tous les mélanges des extraits organiques (méthanol et acétone) donnent des effets synergiques, ces mélanges représentent 60% de l'ensemble de toutes les combinaisons étudiées. Par contre toutes les combinaisons préparées par les extraits aqueux donnent des effets antagonismes environ 30% de l'ensemble des échantillons étudiés.

Les combinaisons préparées par les extraits organiques 30/70 présentent des fortes synergies, la moitié des combinaisons 50/50 dévoilent des fortes synergies le reste des combinaisons présentent des effets synergiques, par contre les mélanges 70/30 donnent des effets synergiques.

Les synergies enregistrées dans les mélanges des extraits organiques pourraient être dues aux contenus de des extraits individuels en composés phénoliques et par conséquent a leurs activités antioxydantes.

Les extraits individuels du méthanol montrent que les feuilles sont les plus actives que les fruits et par conséquent la forte synergie des mélanges 30/70 résulte de la contribution des composés phénoliques contenus dans les feuilles. Contrairement, dans le cas de l'acétone, nous remarquons que l'extrait individuel des fruits verts est le plus actif et par conséquent la forte synergie des mélanges 30/70 est due a la contribution des composés phénoliques renfermes dans cet extrait qui sont majoritairement des flavonoïdes connus par leurs activités antioxydantes.

D'une façon générale, les meilleures synergies ont été enregistrées dans les mélanges constitués par les feuilles et les fruits et fruits entre eux. La majorité des combinaisons préparés avec des extraits phénoliques des feuilles donnent des effets antagonismes et additif

Tableau 8 : Les valeurs de FICI des mélanges phénoliques

(1/FICI)									
	30/70			50/50			70/30		
	Ac	Méth	eau	Ac	Méth	eau	Ac	Méth	eau
flr+fv	1,37	1,05	3,08	1,02	0,52	1,69	0,7	0,34	4,18
flr+FV	0,27	0,18	2,26	0,45	0,22	2,03	0,58	0,53	2,29
flr+FR	0,26	0,11	2,82	0,3	0,17	2,53	0,37	0,29	2,91
fv+FV	0,24	0,2	2,54	0,39	0,3	2,38	0,59	0,55	2,74
fv+FR	0,28	0,12	3,15	0,35	0,18	2,71	0,44	0,45	3,77
FR+FV	0,19	0,16	7,94	0,23	0,12	5,38	0,28	0,14	6,56

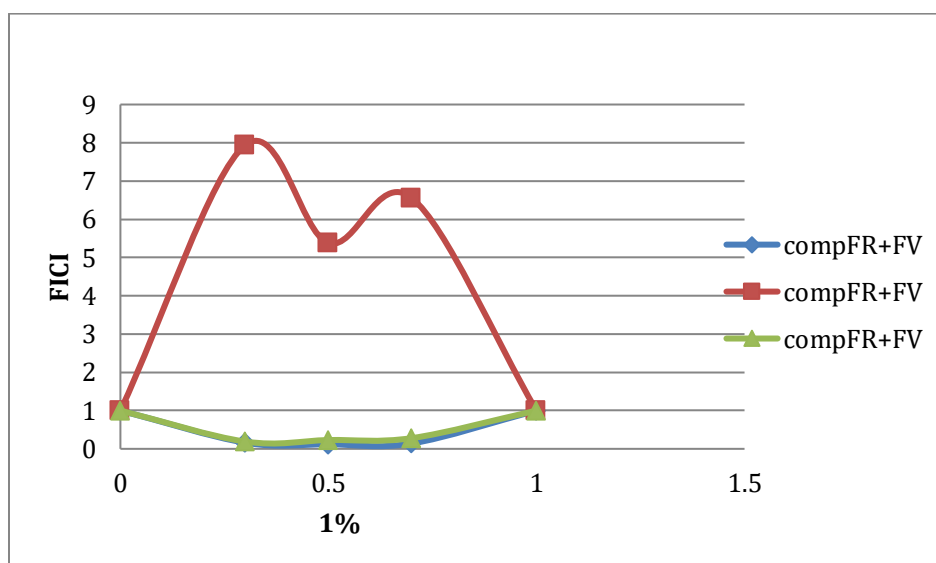


Figure 18 : La courbe de mélange (FR+FV)

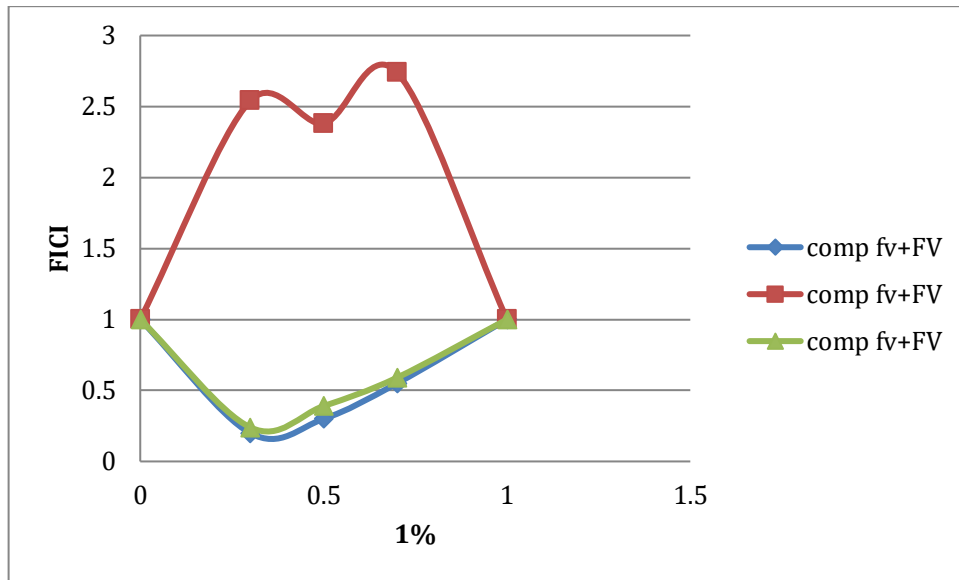


Figure 19 : La courbe de mélange (fv+fv)

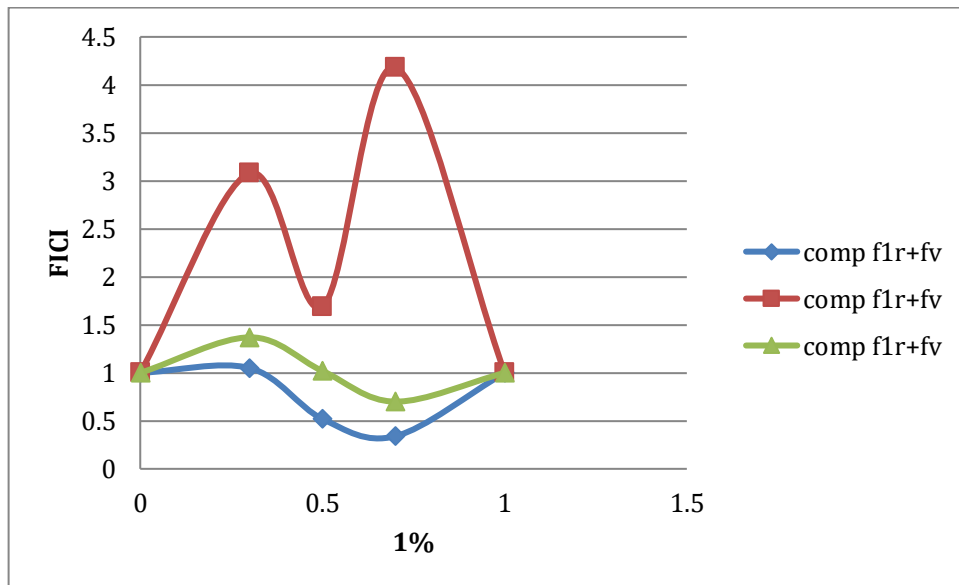


Figure 20 : La courbe de mélange (flr+fv)

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

L'objectif de ce travail était d'étudier l'existence d'interactions synergétiques entre des extraits de *pistacia atlantica* sur les activités antioxydantes. Les extraits impliquaient deux classes de métabolites différentes : les lipides et les composés phénoliques. La méthodologie générale visait à fournir des formules d'extraits combinatoires susceptibles de présenter des effets synergétiques.

Le contenu chimique des lipides des feuilles et fruits de *pistacia atlantica* confirme la prédominance des tocophérols, les stérols et les caroténoïdes. Les taux les plus élevés de composés phénoliques ont été observés chez les feuilles, par contre les fruits de *pistacia atlantica* ont été riches en flavonoïdes. Les extraits phénoliques individuels, ont montré des activités antioxydantes importantes. Dans cette étude, l'activité antioxydante des extraits phénoliques n'était pas liée à leur teneur en composés phénoliques/flavonoïdes., elle pourrait être liée aux structures chimiques des composés phénoliques individuels. Après combinaison, les extraits combinés ont montré des effets variés et deux types d'interactions ont été détectés (synergétique et antagonisme). Les combinaisons préparées par les extraits organiques (méthanol et acétone) ont montré des effets synergétiques importantes quelque soient les proportions des extraits individuels. Ces effets synergétiques pourraient s'expliquer par le mécanisme de régénération, selon lequel l'antioxydant le plus faible régénère le plus fort.

Les combinaisons de tous les extraits aqueux ont montré des effets antagonismes, malgré que leurs extraits individuels ont enregistré des taux importants en composés phénoliques ainsi des activités antioxydantes certaines.

Étant donné que le *pistacia atlantica* est une plante abondante dont les extraits sont peu coûteux, les mélanges présentent plusieurs avantages, notamment l'augmentation de la teneur composés bioactifs, ainsi l'activité antioxydante notamment dans les mélanges d'extraits organiques.

De nombreuses recherches sont envisageables dans ce domaine. Il est essentiel de mener une étude sur l'analyse qualitative et quantitative des tocophérols individuels et l'étude des composés phénoliques individuels par Chromatographie liquide à haute

performance. Etudier les effets des mélanges constitués par les combinaisons des extraits lipidiques et extraits phénoliques des deux organes. Chercher d'autres effets en combinant trois extraits de *pistacia atlantica*. Approfondir l'étude sur les mélanges des extraits aqueux et essayer d'expliquer l'effet antagonisme résultant de ces combinaisons aqueuses. Refaire l'étude en préparant des mélanges à partir des poudres des de le départ, ce qui est pratique par les utilisateurs dans la préparation des tisanes. Evaluer autres activités biologiques antimicrobiennes.

RÉFÉRENCES

Références:

.Olszowy-Tomczyk, M., Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the binary mixtures. *Phytochemistry Reviews*, 2020. 19: p. 63-103.

Achili, I., Amrani, A., Bensouici, C., Gül, F., Altun, M., Demirtas, I., Zama, D., Benayache, F., Benayache, S., (2020). Chemical Constituents, Antioxidant, Anti cholinesterase and Antiproliferative Effects of Algerian *Pistacia atlantica* Desf .Extracts. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*.**11**(3),249-256.

Ahmed, ZB.,Yousfi, M., Viaene, J., Dejaegher, B., Demeyer, K., Mangelings, D., Vander Heyden, Y. (2018). Potentially antidiabetic and antihypertensive compounds identified from *Pistaciaatlantica* leaf extracts by LC fingerprinting. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.**149**, 547-556.

Bag, A. and R.R. Chattopadhyay, Evaluation of synergistic antibacterial and antioxidant efficacy of essential oils of spices and herbs in combination. *PloS one*, 2015. 7): p. e0131321.

Barreto, M. C. (2005). Lipid extraction and cholesterol quantification: A simple protocol. *Journal of chemical education*, 82(1), 103.

Bazzari, A.H. and F.H. Bazzari, Medicinal plants for Alzheimer's disease: An updated review. *J. Med. Plant. Stud*, 2018. 6: p. 81-85.

Belhadj, S., Derridj, A., Aissat, K., & Djelloul, A. (2007). *Pistacia atlantica* Desf. dans les Monts des Ksour (Algérie occidentale) : écologie et variabilité de quelques caractères morphologiques. *Sécheresse*, 18(1), 23–27.

Ben Ahmed, Z., Mohamed, Y., Johan, V., Dejaegher, B., Demeyer, K., Vander Heyden, Y., (2020). Defining a standardized methodology for the determination of the antioxidant capacity: case study of *Pistaciaatlantica* leaves. *Analyst*.**145**(2), 557-571.

Benamar, H., Marouf, A., Bennaceur, M., (2018). Phytochemical composition., antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of aqueous extract and fractions of *Pistacia atlantica* subsp. *Atlantica* from Algeria. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants.**24**, 229–244.

Bentireche, F., Guenane, H., Yousfi, M., (2019).Fatty Acids, the unsaponifiable matter, and polyphenols as criteria to distinguish *Pistacia atlantica* Unripe Fruit Oil. Journal of the American Oil Chemists' Society.**96**, 903–910.

Bhuyan, D.J., et al., Synergistic effects of Chinese herbal medicine and biological networks. Approaching Complex Diseases: Network-Based Pharmacology and Systems Approach in Bio- Medicine, 2020: p. 393-436.

Biavatti, M.W., Synergy: an old wisdom, a new paradigm for pharmacotherapy. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009. 45: p. 371-378.

Chang et al “stimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods”, Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 10, No. 3, 2002, Pages 178-182

Chou, T.-C., Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. Pharmacological reviews, 2006. 58(3): p. 621- 681.

Dacosta, Y. (2003). Les phyto nutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. diplôme de magister, en Biologie Végétale UNIVERSITE DE MENTOURI DE - CONSTANTINE.

Eghbali-Feriz, S., Taleghani, A., Al-Najjar, H., Emami, SA.,Rahimi, H., Asili, J., Hasanzadeh, S., Tayarani-Najaran, Z., (2018). Anti-melanogenesis and anti-tyrosinase properties of *Pistacia atlantica* subsp. *mutica* extracts on B16F10 murine melanoma cells. Research in Pharmaceutical Sciences.**13**(6), 533-545.

Gertsch, J., Botanical drugs, synergy, and network pharmacology: forth and back to intelligent mixtures. *Plantamedica*, 2011. 77(11): p. 1086-10

Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., Gaydou, E., (2010). Seasonal Variation of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. **87**, 157–166.

Guenane, H., Bentireche, F., Bellakhdar, A., OuldElhadj, M.D., Yousfi, M (2017). Total tocopherol content and antioxidant activity of fruit oil from *Pistacia atlantica* Desf. Growing wild in Algeria. *Der Pharma Chemica*. **9**, 153–157.

Gupta, R.K., Chawla, P., Tripathi, M., Shukla, A.K., Pandey, A., 2014. Synergistic antioxidant activity of tea with ginger, black pepper and tulsi. *Int. J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **6**, 477–479.

Karole, S., et al., Polyherbal formulation concept for synergic action: A review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 2019. 9(1-s): p. 453-466.

Konan, K.V., Mamyrbékova-Békro, J.A., Guiffrey, P., Virieux, D., Pirat, J.L., Békro, Y.A. (2017). Composition organique et activité anti-radicalaire de *Bombax costatum* de Côte d'Ivoire. *Revue CAMES – Série Pharm. Méd. Trad. Afr.*; vol : 18(2), pp 21-27.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. Journal of Science Technology*, vol: 26(2), pp 211-219.

Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara. CNRS éditions.

Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, vol : 4, pp25-39.

Purkait, S., A. Bhattacharya, A. Bag, and R. Chattopadhyay, Synergistic antibacterial, antifungal and antioxidant efficacy of cinnamon and clove essential oils in combination. Archives of microbiology, 2020. 202: p. 1439-14

Quézel P., Médail F. (2003). *Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier.

Rigane, G., Ghazghazi, H., Aouadhi, C., Ben Salem, R., Nasr, Z., (2017). Phenolic content, antioxidant capacity and antimicrobial activity of leaf extracts from *Pistacia atlantica*. *Natural Product Research*.**31**(6), 696-699.

Rodrigues, M.J., et al., Coupling sea lavender (*Limonium algarvense* Erben) and green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) to produce an innovative herbal beverage with enhanced enzymatic inhibitory properties. *South African Journal of Botany*, 2019. 120: p. 87-94.

Roozegar, M., Azizi Jalilian, F., Reza Havasian, M., Panahi, J., Pakzad, I., (2016). Antimicrobial effect of *Pistacia atlantica* leaf extract. *Bioinformation*.**12**(1), 19-21.

Schofield, P., Mbugua, D.M., Pell, A.N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, vol: 91, pp 21-40.

Sentkowska, A., Pyrzynska, K., 2018. Investigation of antioxidant interaction between Green tea polyphenols and acetaminophen using isobolographic analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 159, 393–397.

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **112**(9), 930–940.

Sifi, I., Dzoyem, J.P., Ouinten, M., Yousfi, M., McGaw, L.J., Eloff, J.N., (2015)
a. Antimycobacterial, antioxidant and cytotoxic activities of essential oil of gall of *Pistacia atlantica* desf. From algeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*.**12**(3),150-155.

Sonam, K.S. and S. Guleria, Synergistic antioxidant activity of natural products. *Ann. Pharmacol. Pharm*, 2017. 2(8): p. 1086.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Hawkins Byrne, D., (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19(6-7), 669–675.

Toul, F., Belyagoubi-Benhammou, N., Zitouni, A., Atik-Bekkara, F., (2016). Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Natural product research*. 31, 718–723.

Williamson, E.M., Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 2001. 8(5): p. 401-409.

www. Ecologie.ma « Pistachier de l’atlas ».

Yakoubi, R., et al., A synergistic interactions of Algerian essential oils of *Laurusnobilis* L., *Lavandulastoechas* L. and *Menthapulegium* L. on anticholinesterase and antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2021. 31: p. 101891.

Yakoubi, R., Megateli, S., HadjSadok, T., Bensouici, C., Baǵci, E., 2021. A synergistic interactions of Algerian essential oils of *Laurusnobilis* L., *Lavandulastoechas* L. and *Menthapulegium* L. on anticholinesterase and antioxidant activities. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 31, 101891.

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

Zhou, X., Seto, S.W., Chang, D., Kiat, H., Razmovski-Naumovski, V., Chan, K., Bensoussan, A., 2016. Synergistic effects of Chinese herbal medicine: a comprehensive view of methodology and current research. *Front. Pharmacol.* 7

Amari, F., Saci, A., & Meklati, B. Y. (2011). Composition chimique et activité antioxydante des huiles fixes de fruits de *Pistacia*

atlantica Desf. récoltés à différentes périodes de maturité.
Phytothérapie, **9**(3), 149–157.

Bekhechi,C., et al. (2014). Antioxidant activity and chemical composition of
Pistacia atlantica Desf. fruits at different ripening stages. *Natural Product Research*,
28(18), 1354–1360

MI Benguechoua, M Benguechoua, N Gourine, AMS Silva, M Saidi, .Mediterranean Journal of
Nutrition Metabolism 14 (2), 173-190
and

Annexe

Annexe 1 : FICI des mélanges lipidiques et phénoliques des composés bioactifs

(1/FICI) de caroténoïdes			
	30/70	50/50	70/30
f1r+fv	0,395	0,330	0,386
f1r+FV	0,247	0,266	0,278
f1r+FR	0,415	0,385	0,490
Fv+FV	0,079	0,0761	1,008
fv +FR	0,174	0,181	0,292
FR+FV	0,758	0,823	0,534
(1/FICI) de tocophérols			
	30/70	50/50	70/30
f1r+fv	0,246	0,242	0,293
f1r+FV	0,644	0,799	0,781
f1r+FR	0,785	0,664	0,631
Fv+FV	0,521	1,07	0,812
fv +FR	5,115	3,938	3,041
FR+FV	1,350	2,417	3,043
(1/FICI) de stérols			
	30/70	50/50	70/30
f1r+fv	0,764	0,768	0,623
f1r+FV	0,728	1,003	1,139
f1r+FR	1,063	1,039	1,038
Fv+FV	0,683	0,684	23,507
fv +FR	0,869	0,991	1,292
FR+FV	1,608	1,185	1,348
(1/FICI) de DPPH			
	30/70	50/50	70/30
f1r+fv	0,774	0,461	0,229
f1r+FV	0,806	2,033	1,536
f1r+FR	0,953	0,694	1,252
Fv+FV	0,786	0,468	0,773
fv +FR	1,017	0,462	0,218
FR+FV	0,895	0,937	1,108

C(g/l) Phénol totaux									
	30/70			50/50			70/30		
	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau
f1r+fv	18,5	21,88	29,57	17,34	18,91	24,46	22,59	21,22	29,52
F1r+FV	5,74	31,26	18,52	10,73	23,69	11,41	15,62	25,28	16,51
F1r+FR	3,94	42,77	17,85	9,28	24,81	15,25	14,37	14,81	14,14
fv+FV	4,96	23,95	18,05	4,44	21,25	14,6	11,67	22,13	26,63
fv+FR	5,63	38,79	19,07	5,36	26,97	18,71	12,46	13,63	22,25
FR+FV	2,12	19,15	14,08	2,07	11,03	6,5	9,67	8,29	15,41
C(g/l) flavonoïdes									
	30/70			50/50			70/30		
	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau
f1r+fv	30,73	21,53	17,45	31,28	17,4	10,57	16,69	34,07	10,7
F1r+FV	39,42	27,65	17,91	29,21	22,89	13,78	21,93	26,28	11,72
F1r+FR	25,51	21,64	13,59	31,37	32,17	11,22	30,37	29,87	11,45
fv+FV	34,52	25,68	17,03	28,39	23,09	11	35,27	28,77	12,39
fv+FR	30,46	21,54	12,7	23,08	18,63	12,51	32,46	25,81	10,84
FR+FV	43,63	22,45	16,01	45,99	32,49	8,06	19,19	34,72	12,75

C(g/l) tanins									
	30/70			50/50			70/30		
	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau
f1r+fv	3,07	2,96	4,13	8,31	3,87	2,15	7,6	4,72	2,12
F1r+FV	3,12	2,34	12,88	11,5	5,92	7,73	6,75	3,86	5,1
F1r+FR	2,99	3,40	13,18	5,4	3,22	9,24	6,35	4,71	5,66
fv+FV	2,19	1,88	13,52	4,93	2,66	9,01	5,19	1,58	6,13
fv+FR	2,37	2,79	13,25	3,53	4,31	9,82	4,62	9,25	6,89
FR+FV	1,14	1,41	16,98	1,04	1,67	15,29	1,98	0,77	17,93
C(g/l) Dpph									
	30/70			50/50			70/30		
	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau	Acétone	Méthanol	eau
f1r+fv	0,46	0,41	0,23	0,58	0,66	0,43	0,80	0,84	0,18
F1r+FV	0,88	0,98	0,39	0,62	0,87	0,42	0,59	0,38	0,36
F1r+FR	0,90	0,93	0,33	0,92	0,70	0,35	0,92	0,50	0,29
fv+FV	1,01	1,02	0,33	0,75	0,85	0,33	0,65	0,63	0,27
fv+FR	0,87	0,91	0,28	0,85	0,79	0,30	0,88	0,47	0,20
FR+FV	0,99	0,75	0,12	0,83	0,89	0,18	0,67	0,69	0,15

Annexe 2 : liste des Produits et matériel utilisés

Produits	Matériel
1,10-orthophénantroline,	Chauffe-ballon
Acétate d'éthyle	Rota-vapeur
Acétone	Spectrophotomètre UV-vis
acide acétique	Balance électrique
Acide ascorbique	Etuve
acide chlorhydrique	Micropipette
Acide gallique	Réfrigérateur
acide sulfurique	Bain-marie
anhydride acétique	
Carbonate de sodium	
catéchine	
Chloroforme	
Chlorure d'aluminium	
cyclohexane	
DPPH	
Eau distillée	
Ethanol	
FeCl₃	
Folin- ciocalteu	
hexane	
Méthanol	
Quercétine	
vanilline	
α-tocophérol (vitamine E)	
β-carotène,	
β-sitostérol,	

ملخص

في هذه الدراسة، قمنا بفحص تأثير مزائج المستخلصات الفينولية والدهنية من أوراق وثمار *pistacia atlantica* على تركيبها من المركبات النشطة بيولوجياً ونشاطها المضاد للجذور الحرة. تم فصل الدهون باستخدام طريقة Soxhlet، وتم فصل المركبات الفينولية باستخدام مذيبات قطبية. تمت دراسة عدة معلمات: الكاروتينات، والتوكوفيرول، والستيرول، والمركبات الفينولية الكلية، والفلافونويدات، والتانينات، بالإضافة إلى النشاط المضاد للأكسدة من خلال اختبار DPPH، معبراً عنه بمكافئات فيتامينات C و E. أظهرت النتائج أن الثمار الحمراء غنية بفيتامينات C و E، وأنها تحتوي على نسبة عالية من فيتامين C. أظهرت النتائج أن الفاكهة الحمراء غنية بالتوكوفيرول (152.52 مجم/جم دسم)، وأن الأوراق الخضراء تحتوي على مستويات عالية من الكاروتينات (308.21 مجم/جم دسم) والستيرول (181.62 مجم/جم دسم) أظهرت بعض المستخلصات نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد درجة القدرة على التفاعل التآزري بين المركبات الدهنية نفسها وبين المركبات الفينولية وحدها في الأوراق والثمار. وهذه طريقة جديدة تعتمد على الجمع بين عضوين من نفس النبات بدلاً من الجمع بين عدة نباتات، مما يفتح آفاقاً جديدة في استغلال الموارد الطبيعية المحلية. أظهرت النتائج نشاطاً تآزرياً قوياً في المزيج الذي تم الحصول عليه من المذيبات العضوية.

الكلمات المفتاحية : *pistacia atlantica*، الدهون، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، المزائج.

Résumé :

Dans cette étude, nous avons examiné l'impact des mélanges d'extraits phénoliques et lipidiques de feuilles et de fruits de *pistacia atlantica* sur leur composition en composés bioactifs et leur activité antiradicalaire. Les lipides ont été résolus en utilisant la procédure Soxhlet, et les composés phénoliques ont été résolus en utilisant des solvants polaires. Plusieurs paramètres ont été étudiés : les caroténoïdes, les tocophérols, les stérols, les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et les tanins, ainsi que l'activité antioxydante par le test DPPH, exprimée en équivalents de vitamines C et E. Les résultats ont montré que les fruits rouges étaient riches en vitamines C et E, et qu'ils présentaient une forte teneur en vitamine C. Les résultats ont montré que les fruits rouges étaient riches en tocophérols (152,52 mg/g lipide), et que les feuilles vertes contenaient des niveaux élevés de caroténoïdes (308,21 mg/g lipide) et de stérols (181,62 mg/g lipide). Certains extraits se sont révélés avoir une activité antioxydante appréciable. L'objectif principal de cette étude est de déterminer le degré de capacité d'interaction synergique entre les composés lipidiques eux-mêmes et entre les composés phénoliques seuls des feuilles et des fruits. Il s'agit d'une nouvelle approche basée sur la combinaison de deux organes d'une même plante plutôt que sur la combinaison de plusieurs plantes, ouvrant ainsi de nouveaux perspectives dans L'exploitation des ressources naturelles locales. Les résultats ont révélé une forte activité synergique au niveau du mélange obtenu à partir de solvants organique.

Mots clés : *pistacia atlantica*, lipides, composés phénoliques, activité antioxydante, mélanges.

Abstract:

In this study, we examined the impact of mixtures of phenolic and lipid extracts from the leaves and fruits of *Pistacia atlantica* on their bioactive compound composition and antiradical activity. Lipids were extracted using the Soxhlet procedure, and phenolic compounds were extracted using polar solvents. Several parameters were studied: carotenoids, tocopherols, sterols, total phenolic compounds, flavonoids, and tannins, as well as antioxidant activity using the DPPH test, expressed in vitamin C and E equivalents. The results showed that the red fruits were rich in vitamins C and E and had a high vitamin C content. The results showed that red fruits were rich in tocopherols (152.52 mg/g lipid), and that green leaves contained high levels of carotenoids (308.21 mg/g lipid) and sterols (181.62 mg/g lipid). Some extracts were found to have significant antioxidant activity. The main objective of this study is to determine the degree of synergistic interaction between the lipid compounds themselves and between the phenolic compounds alone in the leaves and fruits. This is a new approach based on combining two organs from the same plant rather than combining several plants, thus opening up new perspectives in the exploitation of local natural resources. The results revealed strong synergistic activity in the mixture obtained from organic solvents.

Key words: *pistacia atlantica*, lipids, phenolic compounds, antioxidant activity, mixtures.