

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



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydant des fractions
d'extrait d'acétone des Galles du Pistachier de l'Atlas**

Présenté par : Melle MAZOUZI Fatna
Melle SIAFA Fatna

Devant le jury :

Président :	M. BENACEUR Farouk	MCB
Rapporteur :	M. SIFI Ibrahim	MCB
Examineur :	M. BOUKEROUIS Djoudi	MAA

Soutenu publiquement le : 02/07/2019

Remerciements

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur **Dr. SIFI Ibrahim** qui nous dirigés ce travail avec une grande rigueur scientifique, son patience, son conseils, son grand disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche, particulièrement **M. BENACEUR Farouk** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de notre mémoire. Nous remercions également **M. BOUKEROUIS Djoudi** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous souhaiterons également remercier nos enseignants de département de Biologie à la faculté des Sciences pendant les cinq années du notre parcours.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Dédicace

C'est grâce à dieu «الله», le tous puissant qui m'a donnée le courage et la volonté pour achever ce travail que je dédie :

Mon défunt père

À ma très chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, leur sacrifice et leur encouragement jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.

À mes très chers frères.

À mes très chères sœurs.

À mes très chers amis.

À ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

MAZOUZI Fatna



Dédicace

C'est grâce à dieu «الله», le tous puissante qui m'a donnée le courage et la volonté pour achever ce travail que je dédie :
A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents, leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.

À mes très chers frères.

À mes très chères sœurs.

À mes très chers amis.

À ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضادة للأوكسدة لبعض المركبات الأيضية الثانوية المستخلصة من عصف الفستق الأطلسي لشجرة البطم من خلال قدرتها على تثبيط الجذور الحرة PDDH و ABTS والقدرة على إرجاع الحديد عن طريق فحص FRAP. تم تجزئة المستخلص إلى ست أجزاء حيث أعطت النتائج التالية: أن جزء الكلوروفورم أعطت مردود عالي مقارنة بالقطع الأخرى حيث تصل إلى 3.78% ، تراوحت كمية المركبات الفينولية 16,42 إلى 655,49 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك وقد تم تسجيل أكبر مردود للقطعة بيوتانول وخلات الإيثيل حيث وصلت إلى 655,49 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك و 566,07 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك على الترتيب. بالنسبة للفلافونويدات فتراوح تركيزها ما بين 0,74 إلى 381,30 مغ/غ مكافئ لكروسييتين وقد تم تسجيل أكبر مردود في قطعة بيوتانول بـ 381,30 مغ/غ المكافئ للكروسييتين. بينت نتائج الفعالية المضادة للأوكسدة DPPH و ABTS و FRAP المعبر عنها بـ EC50 و TEAC على الترتيب حيث أن النشاط المرتفع قد سجل بالنسبة لقطعة خلات الإيثيل حيث وصلت EC50 إلى 02,46 ميكروغ/مل ، أما بالنسبة لفحص FRAP فإن قيمة TEAC كانت مرتفعة جدا في قطعة الكلوروفورم بـ 2216,20 مغ/غ مكافئ للبقايا الجافة من المستخلص. أما قطعة 30% ماء ميثانول سجلت أعلى نشاط للأوكسدة و أعطت قيمة EC50 4,22 ميكروغ/غ (ABTS).

الكلمات المفتاحية:

Pistacia atlantica ، النشاط المضاد للأوكسدة (DPPH, ABTS, FRAP) ، الفينول، الفلافونويد

Résumé

Dans le cadre des recherches sur les antioxydants naturels, il s'est révélé nécessaire de valoriser certains composés de métabolites secondaires des galls de *Pistacia atlantica* par l'évaluation de leurs capacités de piégeage du radical DPPH et de réduire le fer par le test FRAP et la capacité de piégeage du radical cationique ABTS. Les galls ont été soumis à une extraction et fractionnement pour avoir les différents extraits : fraction d'acétate d'éthyle (F1), fraction butanol (F2), fraction d'eau (F3), fraction hexane (F4), fraction 35% eau/MeOH (F5), fraction chloroforme (F6). Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus élevé a été signalé pour la fraction chloroforme (3,78%). Les teneurs en polyphénols totaux varient entre 16,42 à 655,49 mg AG/g résidu sec. Les teneurs les plus élevées (655,49 mg AG/g) (566,07 mg AG/g) ont été trouvées avec la fraction butanol et la fraction d'Ac-O-Et. Les concentrations des flavonoïdes varient entre 0,74 et 381,30 mg QR/g de résidu sec, la teneur la plus élevée a été trouvée avec la fraction butanol 381,30 mg QR/g. D'après le test DPPH et ABTS et FRAP, l'évaluation de l'activité antioxydante des fractions exprimée par l'EC50 et l'indice TEAC respectivement, montre une activité plus élevée pour la fraction d'Ac-O-Et de valeur d'EC50 (DPPH) est 02,46 µg/ml, le test FRAP révèle de valeurs de TEAC hautement supérieures pour la fraction chloroforme (2216,20 mg TR/g résidu sec), La fraction MeOH 30% eau, montre une activité antioxydante plus élevée (EC50 (ABTS) = 04,22 µg/ml).

Mots clés :

Pistacia atlantica, Antioxydant (Test DPPH, Test ABTS, Test FRAP), Polyphénols, Flavonoïdes.

Abstract

In the context of research on natural antioxidants, it has been found necessary to valorize a secondary metabolites of *Pistacia atlantica* galls by evaluating their DPPH and ABTS scavenging capacities and to reduce iron by the FRAP test. The galls were subjected to extraction and fractionation to obtain the different extracts: ethyl acetate fraction (F1), butanol fraction (F2), water fraction (F3), hexane fraction (F4), fraction 35% water / MeOH (F5), chloroform fraction (6). The results obtained show that the most student yields were reported for the chloroform fraction (3.78%). The total polyphenol contents vary between 16.42 to 655.49 mg AG/g dry residue. The highest levels (655.49 mg AG/g) (566.07 mg AG/g) were found with the butanol fraction and the Ac-O-Et fraction. The flavonoid concentrations vary between 0.74 and 381.30mg QR/g dry residue, the highest content was found with the butanol fraction 381.30mg QR/g. According to the DPPH and ABTS and FRAP tests, the evaluation of the antioxidant activity of the fractions expressed by the EC₅₀ and the TEAC index respectively, shows most important activity for the valuable Ac-O-Et fraction (EC₅₀ (DPPH) is 02.46µg/ml); the FRAP test reveals higher TEAC values for chloroform fraction (2216.20mg TR/g dry residue). The MeOH-30% water fraction, shows a more antioxidant activity (EC₅₀ (ABTS) = 04.22 µg/ml).

Keywords:

Pistacia atlantica, Antioxidant (DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay), polyphenols, flavonoid.

SOMMAIRE

ملخص.....	i
Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	vii
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
Introduction.....	1
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	1
1. Généralité sur le genre Pistachier de l'Atlas.....	4
1.1. Classification et systématique.....	4
1.2. Distribution du Pistachier de l'Atlas.....	5
1.3. Caractéristique botanique.....	6
1.4. Intérêt du Pistachier de l'Atlas.....	8
1.5. Définition et formation des galles.....	9
2. Les composés phénoliques.....	10
2.1. Biosynthèse des composés phénoliques.....	10
2.2. Classification des composés phénoliques.....	10
2.3. Activité biologique des flavonoïdes.....	14
2.4. Toxicité des flavonoïdes.....	15
3. Système oxydant.....	16
3.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN).....	17
3.2. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire.....	17
3.3. Systèmes de défenses antioxydants.....	18
3.4. Méthodes d'étude du pouvoir antioxydant.....	23
CHAPITRE 2 : MATÉRIEL et MÉTHODES.....	24
1. Objectif.....	25
2. Matériel utilisé.....	25

2.1.	Matériel et produits chimiques	25
2.2.	Matériel végétal.....	26
3.	Méthode d'extraction des composés phénolique.....	26
3.1.	Préparation des extraits d'acétone.....	26
3.2.	Fractionnement de l'extrait d'acétone	27
3.3.	Calcul de rendement d'extraction	28
4.	Tests phytochimique.....	28
4.1.	Les tanins	29
4.2.	Les flavonoïdes	29
4.3.	Les glucosides cardiotoniques :	29
4.4.	Les composés réducteurs.....	29
4.5.	Les phénols	29
4.6.	Les résines.....	29
4.7.	Les glycosides	30
4.8.	Les acides aminés	30
4.9.	Les stéroïdes	30
5.	Dosages des métabolites secondaires	30
5.1.	Dosage des polyphénols totaux	30
5.2.	Dosage des flavonoïdes	31
5.3.	Dosage des anthocyanes.....	32
5.4.	Dosage de chlorophylles totales et caroténoïdes.....	32
6.	Evaluation de l'activité antioxydante	33
6.1.	Méthode de piégeage de radical libre DPPH'	33
6.2.	Méthode de piégeage de radical ABTS ⁺	34
6.3.	Méthode de FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>).....	35
7.	Etude statistique	35
CHAPITRE 3 : RÉSULTATS et DISCUSSION		37
1.	Résultats du rendement d'extraction.....	38
2.	Résultats des tests phytochimique.....	40
3.	Résultats de dosage des métabolites secondaires.....	41

3.1. Résultats du dosage des composés phénoliques	41
3.2. Résultat du dosage des flavonoïdes	43
3.3. Résultats de dosage des anthocyanes,	45
3.4. Résultats de chlorophylles et caroténoïdes	45
4. Résultats de l'activité antioxydante	46
4.1. Résultats de l'activité antioxydante par Test DPPH	46
4.2. Résultats de l'activité antioxydante par Test ABTS	48
4.3. Résultats du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)	51
5. Résultats de test de corrélation	53
Conclusion	56
Références bibliographiques	58

LISTE DES ABREVIATIONS

ABTS⁺	2, 2' - Azino bis-(3-éthylbenzothiazoline- 6- sulfonique)
ADN	Acide désoxyribonucléique
AG	Acide gallique
AGPI	Les acides gras polyinsaturés
AH	Un antioxydant donneur d'hydrogène
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
ARN	Acide ribonucléique
AO	Les agents oxydants
CAT	La catalase
CP	Composés phénoliques
DPPH	Le radical stable (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
EAG	Equivalent d'acide gallique
EC₅₀	Concentration efficace pour réduire 50% des radicaux libres
ER	Récepteurs d'œstrogènes
ERO (ROS)	Les espèces réactives de l'oxygène
EOA	Espèces oxygénées active
Fe³⁺	Ion ferrique
Fe²⁺	Ion ferreux
FeCl₃	chlorure de fer
FL	Flavonoïdes
GSH	Le glutathion
HCl	Chlorure d'hydrogène
H₂O₂	Le peroxyde d'hydrogène
MeOH	Méthanol
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
O₂⁻	Radical anion superoxyde
OH[•]	Radical hydroxyl
ONOO[•]	Radical perxynitrite
¹O₂	L'oxygène singulet
PAF	Platelet Activating Factor
QR	Quercétine
R[•]	Radical libre oxydant
RL	Radical libre
RNS	Espèces réactives de l'azote
ROO[•]	Radicaux libres peroxylés

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte de distribution du Pistachier d'Atlas dans le monde.....	5
Figure 2 : Distribution de pistachier d'Atlas (<i>Pistacia atlantica</i>) en Algérie	6
Figure 3 : Le pied du Pistachier d'atlas (a) les feuilles (b) les fruits (c) (Sifi, 2016).....	7
Figure 4 : Les galles du Pistachier d'atlas	9
Figure 5 : Illustration des différents types de formation des galles par les insectes	9
Figure 6 : Classification des polyphénols (Macheix <i>et al.</i> , 2005).....	11
Figure 7 : Structure de stilbène, coumarine et lignane (Secoisolariciresinol).....	12
Figure 8 : Structure des flavonoïdes.....	13
Figure 9 : Les différentes classes des flavonoïdes.....	14
Figure 10 : Composantes de la balance entre les molécules antioxydants et pro-oxydantes	17
Figure 11 : Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Menvielle-Bourg, 2005)	18
Figure 12 : Cycle oxydo-réducteur du glutathion (Hagen <i>et al.</i> , 1990).....	20
Figure 13 : Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes), acide caféique et quercétine (famille des polyphénols).....	22
Figure 14 : Cartes géographique représentant la station de récolte.....	26
Figure 15 : Schéma simplifié des étapes du procédé d'extraction par l'acétone.....	27
Figure 16 : Les étapes de fractionnement de l'extrait d'acétone des galles (<i>P. atlantica</i>). 28	
Figure 17 : Réduction du radical libre DPPH• (Molyneux, 2004).....	33
Figure 18 : Histogramme présent le rendement d'extraction de six fractions des galles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf	39
Figure 19 : La teneur en polyphénols totaux (mg AG/g) de différentes fractions	41
Figure 20 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique	42
Figure 21 : La courbe d'étalonnage de la quercétine	44

Figure 22 : La teneur en flavonoïdes en (mg QR/g) de différentes fractions.....	44
Figure 23 : Les valeurs d'EC50 du test DPPH des six fractions et de trois standards	46
Figure 24 : Courbes représentes le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des fractions de <i>galles de P. atlantica</i> avec les standards.....	47
Figure 25 : Courbes représentes le pourcentage d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations des fractions de <i>galles de P. atlantica</i> avec les standards	49
Figure 26 : Les valeurs d'EC50 du test ABTS des six fractions et de trois standards	50
Figure 27 : Courbes représentes pouvoir réducteur des fractions et de Trolox, en (mg/ml) par Test FRAP	52
Figure 28 : Histogramme représentant les quantités des phénols totaux et des flavonoïdes pour les différentes fractions	54

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Systématique du <i>Pistacia atlantica</i> Desf. Subsp <i>atlantica</i>	5
Tableau 2 : Les appareils et produits chimiques utilisé	25
Tableau 3 : Situation géographique du site de récolte	26
Tableau 4 : Aspect et couleur des fractions obtenus par extraction liquide liquide.....	38
Tableau 5 : Résultats des tests phytochimique.....	40
Tableau 6 : Résultat de dosage des anthocyanes.....	45
Tableau 7 : Résultat de dosage de chlorophylles totales et caroténoïdes.....	45
Tableau 8 : Les valeurs d'EC ₅₀ du test ABTS des six fractions.....	51
Tableau 9 : Test de corrélation entre l'activité antioxydante et le taux des composés phénoliques (CP, FL).....	53

INTRODUCTION

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité utilise diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**Lhuillier, 2007**).

L'utilisation thérapeutique de ces plantes est associée à l'évolution des civilisations. Leur effet thérapeutique dépend de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Ainsi de nouvelles techniques ont permis d'extraire de nombreux principes actifs et de mettre en évidence les propriétés pharmacologiques des plantes, qui constituent la source majeure des médicaments (**Rombi & Robert, 2009**).

Les métabolites secondaires des plantes se présentent généralement par les huiles essentielles, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Ces derniers sont constitués, en grande partie, des acides phénols simples, des flavonoïdes et des tannins, les composés phénoliques, tellement sont doués de diverses activités biologiques notamment l'activité antioxydante, ils constituent le centre d'intérêt de plusieurs travaux de recherche

La connaissance des composés phénoliques comme des antioxydants naturels est maintenant bien acquise et pour une part à l'origine du regain d'intérêt que l'on porte à ces composés dans différents domaines.

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses maladies en faisant apparaître des molécules toxiques et en surexprimant certains gènes (**Yang et al., 2009**).

Des efforts considérables, lors de ces dernières années, se sont orientés vers l'identification de substances antioxydantes naturelles pouvant lutter contre le stress oxydatif (**Ju et al., 2004**).

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des

maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Bougandoura & Bendimerad, 2013**).

Le pistachier de l'atlas est arbre par excellence des régions méditerranéennes tempérées, se trouvant généralement dans les dayas, il a été jadis très abondant ; connu plus communément sous le nom « *bétoum* » (**Monjauze, 1980**).

Il est l'une des plantes médicinales les plus utilisées au niveau locale .les extraits des galles sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutique. Les galles sont des excroissances apparaissant sur diverses parties d'une plante (les tiges, les feuilles, les fleurs, les fruits), généralement provoquée par un insecte ou parfois par un parasite végétal. Chaque fleur ainsi habitée par une larve donne une petite galle arrondie.

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante par les tests anti-radicalaire comme le piégeage du radical libre DPPH et le piégeage de radicalaire cationique ABTS et même la réduction du fer ferrique en fer ferreux par le test FRAP, de l'extrait d'acétone des galles de l'espèce *Pistacia atlantica* et leurs fractions dans différentes solvants à polarité croissante. Cette évaluation est reliée au contenu phénolique de ces fractions.

Dans le premier chapitre, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques subdivisées en trois parties : la première porte sur un aperçu global sur la plante du Pistachier de l'Atlas ; dans la deuxième partie nous nous sommes intéressés aux composés phénoliques et leurs acticités biologique ; dans la troisième partie est consacré au stress oxydant.

Dans le deuxième chapitre, nous avons envisagé la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes, l'activité antioxydante.

Le troisième chapitre sera consacré aux résultats et discussion obtenus dans notre étude. A la lumière des résultats obtenus, conclusion générale et différentes perspectives de recherche seront évoquées.

CHAPITRE 1 :

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité sur le genre Pistachier de l'Atlas

Le genre *Pistacia* fut décrit par Linné en 1830. Il est originaire de l'Asie occidentale et la petite Asie où il pousse généralement à l'état sauvage dans plusieurs régions chaudes et arides au Liban, Palestine, Syrie, Iran, Iraq, Europe du sud et dans les pays arides de l'Asie et de l'Afrique. Appartenant à la famille botanique des Anacardiaceae (Térébinthacée) qui est représentée en Algérie par 2 genres (*Pistacia* et *Rhus*) (Belhadj, 2001).

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf), en arbre local : el *betoum* ; *botama*, *betoma* ou *btouma* et en berbère *Igth* (Monjauze, 1980). Le nom commun de cette espèce se rapporte aux montagnes d'atlas où cette espèce se développe. Cet arbre est également connu comme le pistachier sauvage, faux pistachier. Les fruits sont appelés *El-Khodiri* par les populations locales (Baba Aissa, 2000).

En Algérie, *Pistacia atlantica* Desf est trouvée en association avec *Zizphum lotus* qui protège ces nouvelles plantes contre les animaux et les vents violents (Belhadj, 2001).

1.1. Classification et systématique

➤ Classification

Le genre *Pistacia* peut être classé en quatre sous-espèces, à savoir *mutica*, *cabulica*, *kurdica* et *atlantica* ; cette dernière est présente en Afrique du Nord, Toutes les espèces de ce genre sont diploïdes avec un nombre chromosomique $2n = 24, 28$ et 30 (Yaaqobi *et al.*, 2009).

Une étude monographique du pistachier a été réalisée par Khelil & Kellal (1980) montrant que le genre *Pistacia* comprend 11 espèces à savoir : *Pistacia atlantica* Desf ou pistachier de l'Atlas, *Pistacia lentiscus* L ou lentisque (fruits non comestibles), *Pistacia terebinthus* L ou térébinthe (fruits aigrelets comestibles), *Pistacia vera* ou pistachier cultivé, *Pistacia afghanistania*, *P. chinensis*, *P. khinjuk*, *P. mexicana*, *P. palestina*, *P. wienmannifolia*, *P. intergerrima*.

➤ Systématique

Nous présentons ci-dessous (tableau 1) la plus récente phylogénie du *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *atlantica* selon (APG II, 2003; Thorne & Reveal, 2007).

Tableau 1 : Systématique du *Pistacia atlantica* Desf. Subsp *atlantica*

Division	Angiospermes (APG II 2003)
Classe	Eudicots (APG II 2003)
Sous classe	Coreeudicots (APG II 2003)
Superordre	Rosids (APG II 2003)
Sous-ordre	Eurosids II (APG II 2003)
Ordre	Sapindales Dumort. (1829) (Thorne et Reveal, 2007)
Famille	Anacardiaceae R.Br. (1818) (Thorne et Reveal, 2007) ou Pistaciaceae Martinov (1820) (Thorne et Reveal, 2007)
Sous famille	Anacardioideae Link (1831) (Thorne et Reveal, 2007) ou Pistacioideae Burnett (1835) (Thorne et Reveal, 2007)
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>atlantica</i> Desf.
Subsp	<i>Atlantica</i>
Nom commun	Pistachier de l'Atlas
Nom vernaculaire	<i>Betoum, botma</i>
Nom du fruit	<i>El-Khodiri</i>

1.2. Distribution du Pistachier de l'Atlas

➤ Dans le monde

Le genre *Pistacia atlantica* Desf est une essence ubiquiste répandue depuis les Canaries jusqu'à palmir. Il est largement réparti au sud de la méditerranée et au Moyen-Orient (Monjauze, 1980). Il se trouve au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Égypte, en Palestine, Jordan, en Syrie, en Turquie et en Grèce (figure 1) (Quézel & Santa, 1963).

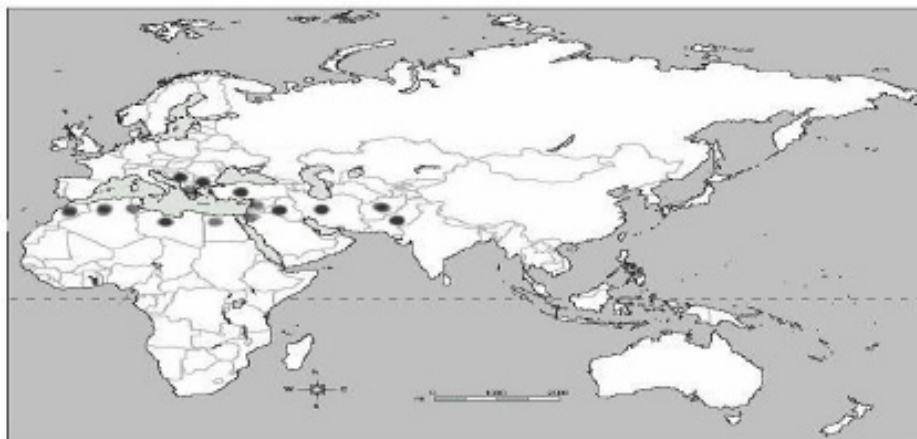


Figure 1 : Carte de distribution du Pistachier d'Atlas dans le monde

➤ En Algérie

C'est une espèce endémique qui figure parmi les plantes non cultivées et protégées en Algérie. D'après (**Boudy, 1952**), en Algérie on le trouve (figure 2) disséminé dans les forêts chauds du tell méridional mais surtout dans la région steppo-désertique des hauts plateaux et du Sahara septentrional où il ne subsiste que dans les dayas. On le rencontre parfois en montagne dans l'Atlas saharien (région Ain Sefra) et sur les hauts plateaux oranais.

Le *bétoum* est un bel arbre, qui existe à l'état disséminé dans la région des Hauts plateaux Djelfa (Senelba, Ain-oussera, Messâad), au sud de Laghouat et également au nord de Ghardaïa (Berriane et Guerrara) (**Monjauze, 1980; Belhadj, 2001**).

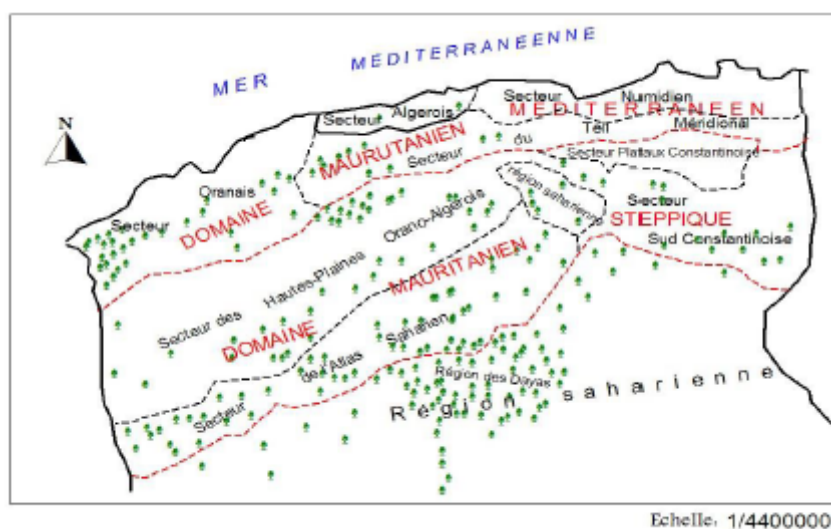


Figure 2 : Distribution de pistachier d'Atlas (*Pistacia atlantica*) en Algérie

1.3. Caractéristique botanique

Les espèces de genre *Pistacia* sont des arbres xérophytiques, à feuilles caduques ou persistantes, dioïques, de jusqu'à 8-10 m de hauteur. Les feuilles sont composées pennées, avec 2 - 32 folioles larges, elliptiques ronds ou ovoïdes. Les bourgeons sont simples, à la fois pour les arbres males et les arbres femelles, les fleurs ales ont 4-5 anthères insérées sur un disque, les fleurs femelles ont un style court, trifide. Les espèces sont pollinies par le vent. Le fruit est une drupe (**AL-Saghir, 2006**).

➤ **L'arbre**

C'est un bel arbre pouvant atteindre de 15 à 20 mètres de hauteur et 1m de diamètre avec une cime volumineuse et arrondie par son port et son écorce, il ressemble de loin au freine (**Boudy, 1952**).

➤ **Les feuilles**

Elles sont composées, stipulées, à rachis finement ailé et folioles lancéolées obtuses au sommet. Les feuilles sont caduques et chutent en automne, elles sont de couleur vert pâle et sont imparipennées, glabres et sessiles (**Yaaqobi et al., 2009**).

➤ **Les fleurs**

Les fleurs ales et femelles sont portées par des pieds différents .mais quelques pieds monoïques ont été observés dont les fleurs mâles et femelles sont portées par rameaux différents. Aucun hermaphrodisme n'a été observé. Les fleurs sont petites en panicules axillaires et sont apétales. Ce sont des fleurs régulières avec tendance à la zygomorphe.

➤ **Les fruits**

Les fruits gros comme un pois sont appelés *El-Khodiri* par les populations locales en raison de la prédominance de la couleur verte foncée à la maturité, ce sont des drupes (ne dépassant pas le centimètre) légèrement ovales quelques fois allongés à épiderme qui se ride en séchant sur un endocarpe induré mais très mince abritant deux cotylédons, riches en huile dense très énergétique (**Monjauze, 1980; Belhadj et al., 2008**).

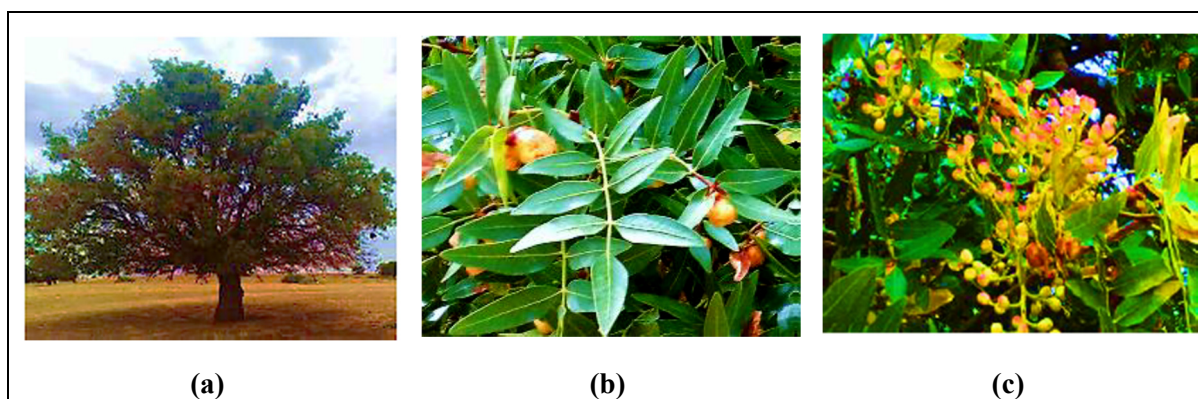


Figure 3 : Le pied du Pistachier d'atlas (a) les feuilles (b) les fruits (c) (**Sifi, 2016**)

1.4. Intérêt du Pistachier de l'Atlas

le genre *Pistacia* est connu par ces propriétés médicinales depuis l'antiquité ; en effet les plantes de ce genre ont été utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de l'eczéma ; des infections de la gorge, des calculs rénaux, de l'asthme, des douleurs d'estomac, comme anti-inflammatoire, antivirale...) (**Kordali et al., 2003**).

➤ Valeur agro-écologique

Il joue le rôle de conservation des sols et il est utilisé aussi pour la fixation des dunes comme brise-vents. Il constitue un porte-greffe par excellence du pistachier vrai, plus résistant à l'asphyxie radriculaire que les autres espèces du genre *Pistacia*.

C'est une source d'énergie par utilisation de son bois pour la cuisine et le chauffage dans les régions où les conditions de vie sont particulièrement pauvres (**Mansour, 2011**).

➤ Valeur médicinale

L'oléorésine de *Pistacia atlantica* présente les propriétés d'un produit antiseptique. Cet effet antiseptique a été bien mis en évidence sur les espèces microbiennes étudiées ainsi que la nature du produit. Cela confirme l'usage ethno pharmacologique de ce produit comme masticatoire par les populations nomades des hautes plaines steppiques (**Benhassaini, 2003**).

Les feuilles et l'écorce sont utilisées en décoction, contre les maux de ventre et les douleurs gastriques. En inhalation, les feuilles sont employées comme fébrifuge. Les galls utilisées en poudre, seules ou associées au souchet rond comme anti diarrhéique et stomachique. L'huile essentielle de résine a été prouvée d'avoir des activités antibactériennes (**Benyahia, 2017**).

➤ Valeur nutritionnelle

Le fruit du pistachier est une source importante de nourriture, 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. Les études cliniques sur les graines ont montrées des effets d'abaissement du cholestérol total et du LDL-cholestérol (**Belhadj, 2001; Griel & Kris-Etherton, 2006**).

1.5. Définition et formation des galles

➤ Définition « galles »

Certaines excroissances pathologiques sont provoquées chez les plantes par des acariens ou des insectes de formes définies "galles" (Lepoivre, 2003). Les principales malformations peuvent être causées par les bactéries, les actinobactéries, les insectes, les champignons et virus, c'est-à-dire une croissance désordonnée des cellules due à une déformation structurée d'une feuille, d'une tige, d'un bourgeon ou encore d'une racine (Doucet, 2008).

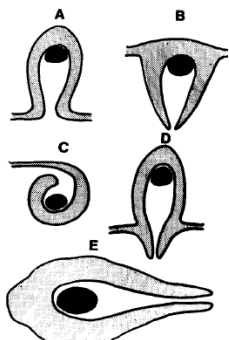


Figure 4 : Les galles du Pistachier d'atlas

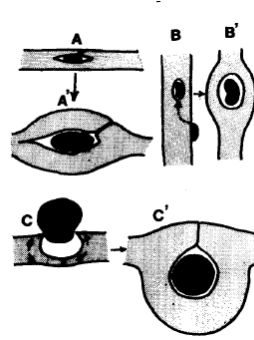
➤ Formation des galles

Le mécanisme de formation de galles par les insectes reste peu connu. Les facteurs moléculaires désignés comme des agents inducteurs de la formation de galles sont les phytohormones, les acides aminés, les protéines. Chez le genre *Pistacia* on rencontre deux sous-familles d'insecte induisant la formation des galles : les *Pemphiginae* et les *Fordinea* (Álvarez *et al.*, 2009). En distinguant trois processus galligène fondamentaux :

- ⇒ Les processus d'inhibition de la croissance et des différenciations normales.
- ⇒ Les phénomènes d'hypertrophie.
- ⇒ Les phénomènes adaptifs



Nidification d'un parasite extra-tissulaire



Nidification d'un parasite intra-tissulaire

Figure 5 : Illustration des différents types de formation des galles par les insectes

2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante (**Sun *et al.*, 2011**). Ce qui signifie qu'ils ont plusieurs groupes hydroxyles sur deux cycles aromatiques à six carbones ou plus (**Tangney & Rasmussen, 2013**). Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale (**Shahidi & Naczki, 2003**). Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (**Stalikas, 2007**).

2.1. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques (**Bruneton, 2009**) :

- ☑ Celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.
- ☑ Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly-acétates de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones.

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes.

2.2. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être classés en différents groupes en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et sur la base d'éléments structuraux qui lient ces cycles entre eux. Les principales classes comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les stilbènes et les Lignanes (**Macheix *et al.*, 2005**). Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient par :

- ⇒ La complexité de squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisés)
- ⇒ Le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation et de méthylation, ...)
- ⇒ Les liaisons possibles de ces molécules avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines...).

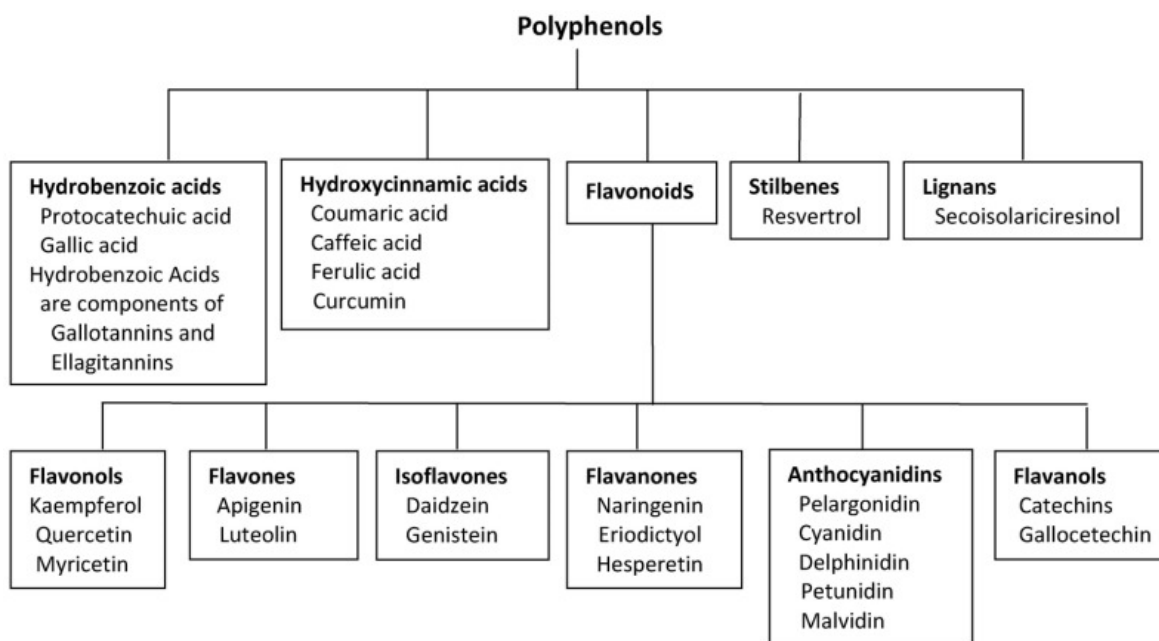


Figure 6 : Classification des polyphénols (Macheix *et al.*, 2005)

2.2.1. Les phénols simples

Ce sont des composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autre fonction particulière impliquant le(s) noyau(x) benzénique(s). Les acides phénols, ou acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes : antiseptique urinaire, anti-inflammatoires, anti radicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, immunostimulants. On distingue deux catégories (Bruneton, 2009) :

- ☑ Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones).
- ☑ Les dérivés d'esters hydroxy-cinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3).

2.2.2. Les tanins

Les tanins végétaux sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires entre 500 et 3000. Ils sont aptes à la préparation du cuir et donnent les réactions classiques des phénols. En outre, ils ont l'aptitude à précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines. Les tanins ont classé en tanins hydrolysables et non hydrolysable ou condensés (Adamczyk *et al.*, 2013).

2.2.3. Les stilbènes

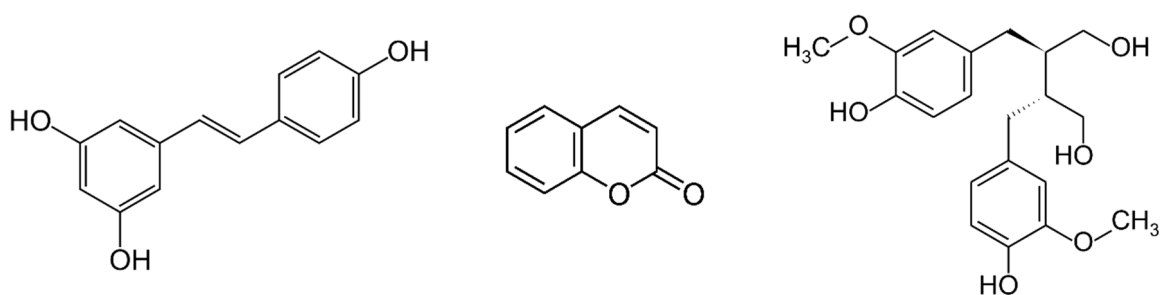
Ce sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison formant un système conjugué. Ils sont de type C6-C2-C6 (figure 7a). Les stilbènes existent sous leur forme aglycone comme le resvératrol (isomères *trans* et *cis*), qui est le principal stilbène chez la vigne, ou encore sous leur forme glycosylée, ou méthylée. Le resvératrol un des stilbènes les plus connus se trouve dans le raisin ainsi que le vin (Waterhouse & Lamuela-Raventós, 1994).

2.2.4. Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones (figure 7b). Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique. Ces composés sont connus pour leurs propriétés anticoagulantes, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du coeur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (Bruneton, 2009).

2.2.5. Les lignines et les lignanes

Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane (figure 7c). Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool *p*-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique bien qu'ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, ils sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lins (El Gharras, 2009).



(A) Resvératrol

(b) Coumarines

(c) Lignane (Secoisolariciresinol)

Figure 7 : Structure de stilbène, coumarine et lignane (Secoisolariciresinol)

2.2.6. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de 15 atomes de carbones C6-C3-C6. Correspondant à la structure des phényl-benzo-pyrones (phénylchromones). Ces molécules comprennent deux noyaux aromatiques, A et B, liés par un hétérocycle oxygéné C (**Heim et al., 2002**).

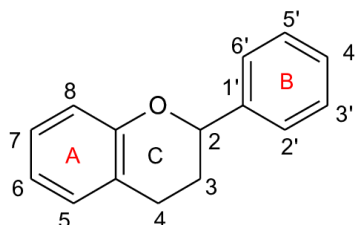


Figure 8 : Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes. Ils ont également un rôle très important pour la santé humaine. A titre d'exemple, ils sont efficaces pour l'inflammation chronique, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer (**Ghedira, 2005**). Les différentes classes des flavonoïdes sont comme suit :

⇒ **Les flavones**

Les flavones sont des composés phénoliques dont la structure contient un groupe carbonyle.

⇒ **Les anthocyanines**

Les anthocyanines (anthos : fleur ; kyanos : bleu), sont un groupe de colorants des plantes largement distribués dans la nature. Ils confèrent aux fleurs et aux fruits les couleurs : bleu, violette, rouge et jaune.

⇒ **Les flavonols**

Ce sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal. Ils diffèrent des flavones par l'existence d'un OH en position 3 (hydroxyl -3-flavones).

⇒ **Les flavanols**

Ils désignent des composés ayant une structure flavan-3-ol et possédant un radical OH sur leur noyau latéral.

⇒ **Les flavanones**

Les flavanones dérivent par disparition de la double liaison de l'hétérocycle central des flavones.

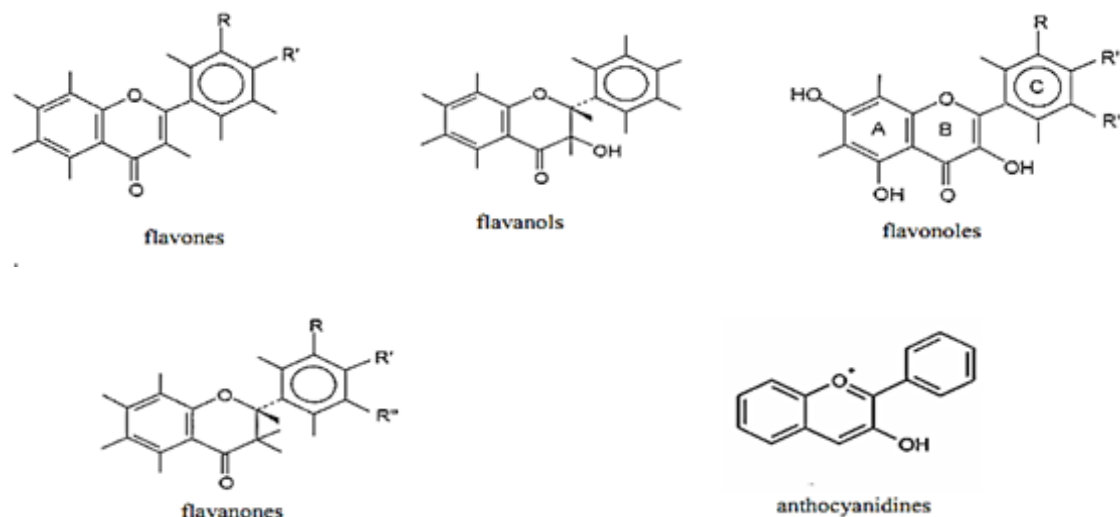


Figure 9 : Les différentes classes des flavonoïdes

2.3. Activité biologique des flavonoïdes

2.3.1. Activité antioxydante

Les flavonoïdes expriment les propriétés antioxydantes par : le piégeage directe des espèces réactives de l'oxygène (ERO), la suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, donc la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Quideau *et al.*, 2011).

2.3.2. Activité anti-inflammatoire

L'action pharmacologique des flavonoïdes suggère qu'ils pourraient présenter un intérêt dans le traitement des allergies en régulant ces mastocytes. De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (Soro *et al.*, 2009).

Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercitrine a un effet anti-inflammatoire en inhibant quelques enzymes de synthèse tel que la cyclooxygénase (Gonzalez-Gallego *et al.*, 2007).

2.3.3. Effets cardiovasculaires

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique P (*Pro-anthocyanidine*). Cette activité intervient dans le maintien d'une

perméabilité vasculaire normale. Les flavonoïdes sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains flavonoïdes sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguin (Ghedira, 2005).

2.3.4. Activité anticancéreuse

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse (Galleano *et al.*, 2012). En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Les isoflavonoïdes peuvent prévenir les cancers hormonaux dépendants en agissant sur les récepteurs ER (récepteur de l'estrogène).

Le soja est l'aliment le plus riche en isoflavones avec 1-3 mg/g de poids sec, le composé majoritaire parmi ces isoflavonoïdes étant la génistéine. Il semble qu'un régime riche en génistéine inhibe la croissance des tumeurs de la prostate, en réduisant à la fois le nombre de tumeurs et la taille de ces tumeurs. Néanmoins, les métabolites de la génistéine (composés halogénés) apparaissent prépondérants dans cette activité (Dee Boersma *et al.*, 2001).

2.3.5. Activité antimicrobienne

De nombreux flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes (Divya *et al.*, 2014), des synergies ont été mises en évidence pour certaines de ces molécules.

Des études *in vivo* sur animaux se sont révélées encourageantes après injection de la sophora-isoflavone par voie intra-péritonéale chez des souris infectées par *Salmonella typhimurium* (Cushnie & Lamb, 2005). Il a été démontré que les 5-hydroxyflavanones et les 5 hydroxy-isoflavanones avec un, deux ou trois groupements hydroxyyles en position 7, 2' et 4' inhiberaient la croissance de *Streptococcus sp.*, l'hydroxylation la plus importante pour l'activité étant celle en position 2'. Par contre, les méthoxylations diminuent considérablement les effets antibactériens (Chen *et al.*, 2012).

2.4. Toxicité des flavonoïdes

Bien que les bienfaits des flavonoïdes sur la santé humaine soient reconnus actuellement, une revue critique des effets toxiques potentiels des flavonoïdes est nécessaire. Plusieurs études indiquent un effet mutagène et génotoxiques dans certains

systèmes expérimentaux bactériens ou mammifères, effet lié à une activité pro-oxydante. De nombreuses études montrent à l'évidence que les activités biologiques des flavonoïdes sont doubles. Ils peuvent agir en tant qu'antimutagène/pro-mutagène, antioxydant/pro-oxydant. Tout dépend largement des quantités consommées et des conditions physiologiques de l'organisme.

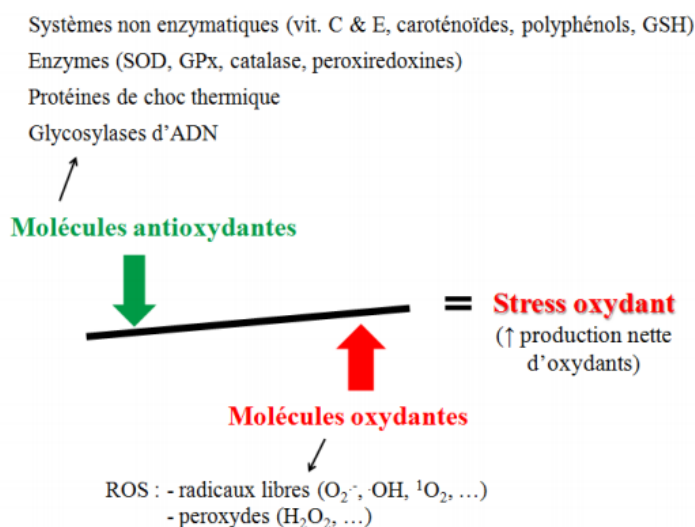
Un surdosage peut entraîner des dommages allant jusqu'à des mutations dans l'ADN. Certaines études récentes d'intervention chez l'homme montrent que les flavonoïdes, comme la quercétine semblent être antimutagènes *in vivo* (Skibola & Smith, 2000). Les flavonoïdes semblent donc être toxiques vis-à-vis des cellules tumorales mais plus ou moins toxiques vis-à-vis des cellules normales à des concentrations très élevées (Matsuo *et al.*, 2005).

3. Système oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants, ou ROS, et les molécules antioxydants en faveur des oxydants. Le terme ROS fait référence à plusieurs types de métabolites réactifs à l'oxygène tels que les radicaux libres et d'autres non-radicalaires tel que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les radicaux libres sont des molécules hautement réactives possédant un ou plusieurs électrons non paires tels que le superoxyde anion (O₂⁻), le radical hydroxyle (OH[•]) et l'oxygène singlet 1O₂ (Wiseman & Halliwell, 1996).

Le stress oxydant résulte du déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants, au profit des premiers. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies, comme cause ou conséquence. Les espèces réactives de l'oxygène (*Reactive oxygen species* : ROS) sont capables d'endommager diverses biomolécules telles que les protéines, les acides nucléiques (ADN) ou les acides gras polyinsaturés (Zerargui, 2015).

Parmi les espèces réactives de l'oxygène, le radical hydroxyle, présenté comme le plus toxique malgré sa faible diffusion ; peut attaquer tous les types de constituants cellulaires et engendrer diverses altération (dégradation protéique, inactivation enzymatique, lipoperoxydation...). De l'autre côté de la balance, plusieurs processus de défense contre les ROS existent de manière à contrer leurs effets néfastes sur les fonctions cellulaires.



GPx : *glutathion peroxydase*, GSH : *glutathion réduit*, H₂O₂ : *peroxyde d'hydrogène*,
 O₂^{•-} : *superoxyde anion*, OH[•] : *radical hydroxyl*, O₂ : *oxygène singlet*, SOD : *superoxide dismutases*

Figure 10 : Composantes de la balance entre les molécules antioxydantes et pro-oxydantes

3.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN)

Les radicaux dérivés de l'oxygène représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants (**Grassi et al. 2010**). Ce sont des molécules très réactives qui sont constamment produites par des réactions enzymatiques dans les cellules (**Pérez-Pérez et al. 2013**). Il existe plusieurs ERO comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radical superoxyde (O₂^{•-}) et le radical hydroxyle (HO[•]) (**Ivanov et al., 2013**).

Contrairement aux ERO, il y a peu de données sur l'altération induite par les espèces réactives d'azote (**Kocsy et al., 2013**), ils sont considérés comme une sous-classe des radicaux libres qui sont générés par la réaction de l'oxygène avec l'azote, les incluent des espèces non radicalaires (acide nitreux, le peroxy-nitrite et alkyl-péroxy-nitrite) et des espèces radicalaires comme l'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote.

3.2. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire

Les antioxydants peuvent protéger l'organisme contre les effets néfastes des espèces réactives comme suit (**Lamina et al., 2013**) :

- ✓ -Inhibition de la formation des radicaux libres.
- ✓ -Neutralisation des radicaux libres.
- ✓ -Augmentation du système de défense du corps.
- ✓ -Réparation des dommages résultants de radicaux libres.

Les défenses anti oxydantes sont extrêmement importantes et représentent l'élimination directe des radicaux libres, fournissant ainsi une protection maximale aux sites biologiques. Un bon antioxydant doit (Valko *et al.*, 2006) :

- ☑ Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres ;
- ☑ Chélate des ions de métaux de transition d'importance biologique capables de promouvoir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton.
- ☑ Capable de stimuler la synthèse des enzymes antioxydantes et inhiber l'activité des enzymes pro-oxydantes.
- ☑ Avoir un effet positif sur l'expression génique.
- ☑ Être rapidement absorbé.
- ☑ Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologique. Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

3.3. Systèmes de défenses antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Droge, 2002). Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (figure 10) (Delattre *et al.*, 2005).

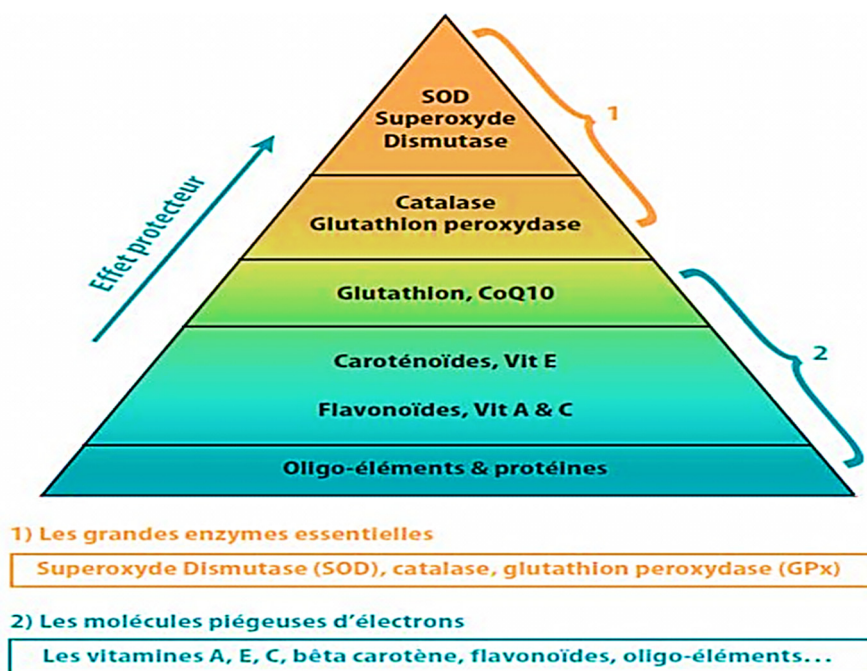


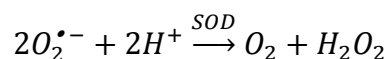
Figure 11 : Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Menvielle-Bourg, 2005)

3.3.1. Système antioxydant enzymatique

Les protéines enzymatiques antioxydantes constituent la première barrière de cette défense antioxydante, qui est constituée de trois métallo-enzymes essentielles : les superoxydes dismutases, la catalase et les glutathions peroxydases.

➤ *Les superoxydes dismutases*

Les superoxydes dismutases ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des antioxydants enzymatiques ubiquitaires. Ces métalloprotéines représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire selon la réaction suivant (**Haleng et al., 2007**) :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant diffusible et dangereux à distance (**Goudable & Favier, 1997**).

➤ *Catalase*

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Lindau-Shepard & Shaffer, 1993**).

➤ *Glutathions peroxydase (GPX)*

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (Figure 5). Dans la cellule, dans les conditions physiologiques, la forme glutathion réduit est prédominante (95%). Les GSHPX connues sont des enzymes à sélénium. Le sélénium est intégré dans la protéine sous forme de sélélocystéine. Le facteur limitant de la synthèse des sélénotéines, et donc des GSHPX, est la teneur intracellulaire en sélénium (**Vitoux et al., 1996**).

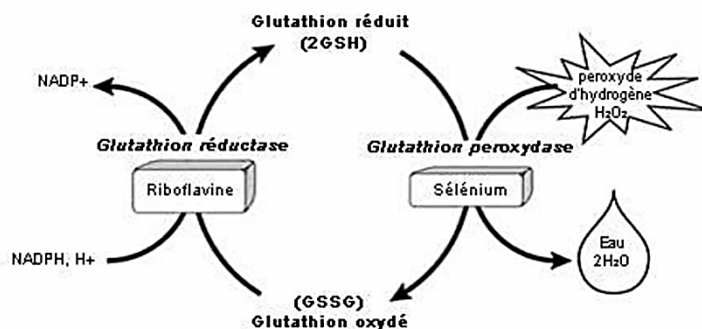


Figure 12 : Cycle oxydo-réducteur du glutathion (Hagen et al., 1990)

Elles permettent également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne, en réduisant les peroxydes instables en acide gras hydroxylés. Ce système ne fonctionne que si le GSSG formé est continuellement réduit en GSH, ce qui est assuré par la glutathion réductase en présence de NADPH, ce dernier pouvant être lui-même régénéré par l'intermédiaire d'un couplage métabolique avec la voie des pentoses phosphates (Lacolley *et al.*, 2008).

3.3.2. Système antioxydant non enzymatique

L'organisme possède une seconde ligne de défense « *les piègeurs de radicaux libres* » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO (figure 6), limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

➤ Vitamine E (*α*-tocophérol)

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, cette famille comprend 4 substances (α , β , γ , δ), α -tocophérols est la forme la plus active (Cuvelier *et al.*, 2003). Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme, situé dans les lipoprotéines et dans les membranes, il est capable d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet en s'oxydant en quinone, et d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle HO^\bullet . Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes ROO^\bullet pour former un radical tocophéryle (Delattre *et al.*, 2005).

La vitamine E permet de diminuer la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire et au sein des LDL. Elle est très active dans la résistance à l'oxydation des LDL (Azzi *et al.*, 1995).

➤ *Vitamine C (Acide ascorbique)*

C'est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, le radical hydroxyle HO^{\cdot} , l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (Evans, 2000). En plus, elle permet la régénération de la forme non radicalaire de la vitamine E. La vitamine C a notamment un rôle antioxydant au niveau des tissus oculaires, en particulier la rétine, où elle participe à la dégradation du H_2O_2 (Ohia *et al.*, 2005). L'acide ascorbique peut agir en tant qu'un antioxydant seulement en absence de métaux de transitions sous forme libre (Evans, 2000).

➤ *β carotène*

Le β carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés anti oxydantes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles HO^{\cdot} et peroxydes ROO^{\cdot} et ainsi d'inhiber les chaines de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet 1O_2 . En outre le β -carotène, tout comme l' α -carotène et β -cryptoxanthine, sont des caroténoïdes précurseurs de la vitamine A (ou rétinol) chez l'homme, de sorte que le β -carotène est une provitamine A (Durand & Beaudoux, 2011).

➤ *Les Polyphénols*

Les polyphénols sont des pigments végétaux dont les propriétés antioxydantes, les plus importants sont les flavonoïdes (Médart, 2009). Ils sont naturellement capables de piéger l'oxygène singulet 1O_2 et le radical anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ en le dismutant en H_2O_2 (Chen *et al.*, 2003). Leur effet protecteur est notamment connu dans le système cardiovasculaire où ils préviennent l'oxydation des protéines. Ils sont particulièrement présents dans certaines boissons (thé, vin rouge, bière...) ou les fruits et légumes (agrumes, carottes...) (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

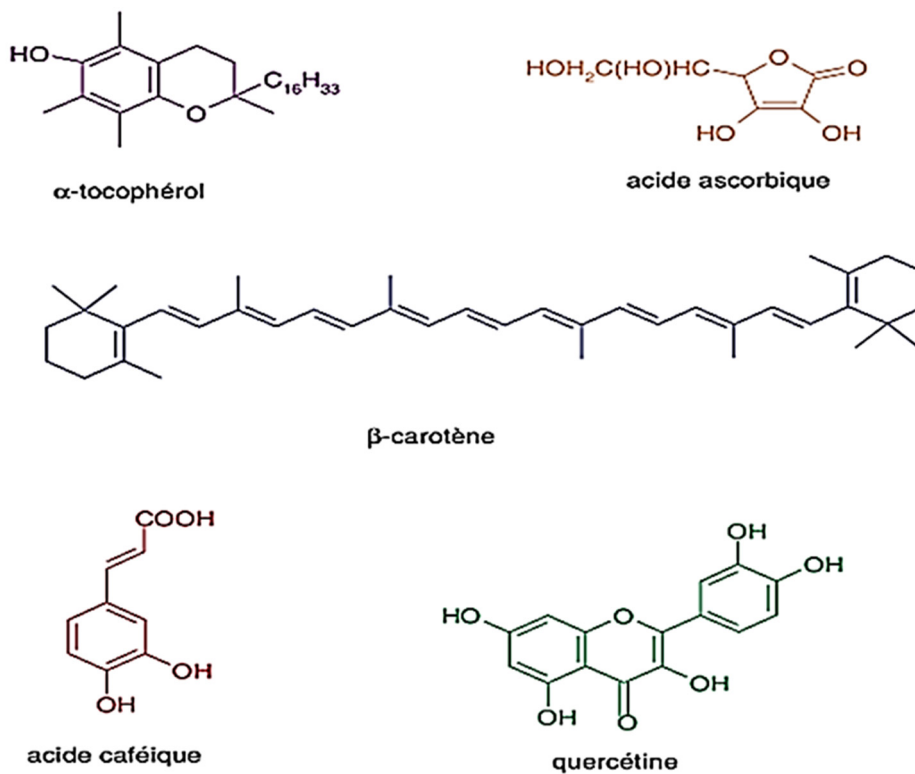


Figure 13 : Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes), acide caféique et quercétine (famille des polyphénols)

3.4. Méthodes d'étude du pouvoir antioxydant

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes :

- ✓ Soit par le transfert d'atome d'hydrogène.
- ✓ Soit par le transfert d'un simple électron.

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriétés et exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (**Sánchez-Moreno & Larrauri, 1998**).

Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), de l'acide hypochloreux ($HOCl$), de l'hydroxyle (OH^\bullet), des anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), du peroxyde (ROO^\bullet) et de l'oxyde nitrique (NO^\bullet) (**Sánchez-Moreno, 2002**).

Parmi ces techniques, nous citons :

- ✓ La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (**Brand-Williams *et al.*, 1995**).
- ✓ La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) (**Benzie & Strain, 1996**).
- ✓ La méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (**Cao *et al.*, 1993**).
- ✓ La méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6sulphonate) ou TEAC (Capacité antioxydante équivalente de Trolox) (**Miller *et al.*, 1993**).
- ✓ La méthode de DMPD (Balayage du radical cation N,N-diméthyle-phénylenediamine) (**Li *et al.*, 1994**).
- ✓ La méthode TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) (**Winston *et al.*, 1998**).
- ✓ La méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total) (**Wayner *et al.*, 1985**).
- ✓ La méthode photochimiluminescence (PCL) (**Lewin *et al.*, 2000**).

CHAPITRE 2 :

MATÉRIEL et MÉTHODES

1. Objectif

Notre travail a été réalisé dans laboratoire de biochimie au niveau de département de Biologie, Université Amar Téliidji – Laghouat. Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des fractions de solvant à polarité croissante des galles de l'espèce *Pistacia atlantica* par différentes méthodes. Le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail sont décrits ci-dessous.

2. Matériel utilisé

2.1. Matériel et produits chimiques

Les appareils et les produits chimiques utilisés sont cités dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Les appareils et produits chimiques utilisé

Appareils et instruments	Caractéristiques/fabricant
Rota vapeur	<i>R220 BUCHI</i>
Spectrophotomètre UV/Visible	<i>SHIMADZU UV 1601</i>
Balance électronique de précision	<i>OHAUS 10-4g</i>
Agitateur magnétique plaque chauffante	<i>Stuart max 300°C</i>
Agitateur vortex	<i>Ficher Scientifique (40 Hertz)</i>
Micropipettes (variable)	<i>100 et 1000 µl</i>
Produits chimiques	Fabricant
Solvants organiques	
Méthanol	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>
Acétone	<i>Honeywell Fluka Germany</i>
Hexane	<i>Riedel-de-Haën Germany</i>
Chloroforme	<i>Riedel-de-Haën Germany</i>
Butanol	<i>Riedel-de-Haën Germany</i>
Acétate d'éthyle	<i>Honeywell Fluka Germany</i>
Composés pure	
Acide gallique monohydrate	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>
Quercétine	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>
Trolox	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>
Acide ascorbique (Vitamine C)	<i>Riedel-de-Haën Germany</i>
Réactifs	
DPPH	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>
ABTS	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>
FRAP	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>
Réactif de <i>Folin ciocalteu</i>	<i>Sigma-Aldrich Germany</i>

2.2. Matériel végétal

Les galles de Pistachier d’Atlas sont récoltées de la région de Laghouat (*Tilghemt*) au cours du mois d’Août 2016. Au laboratoire, le matériel végétal est lavé puis séché à l’abri de la lumière pendant quelques semaines. Après séchage, elles ont broyée en poudre fine et conservée dans un sac en papier jusqu’à son utilisation.

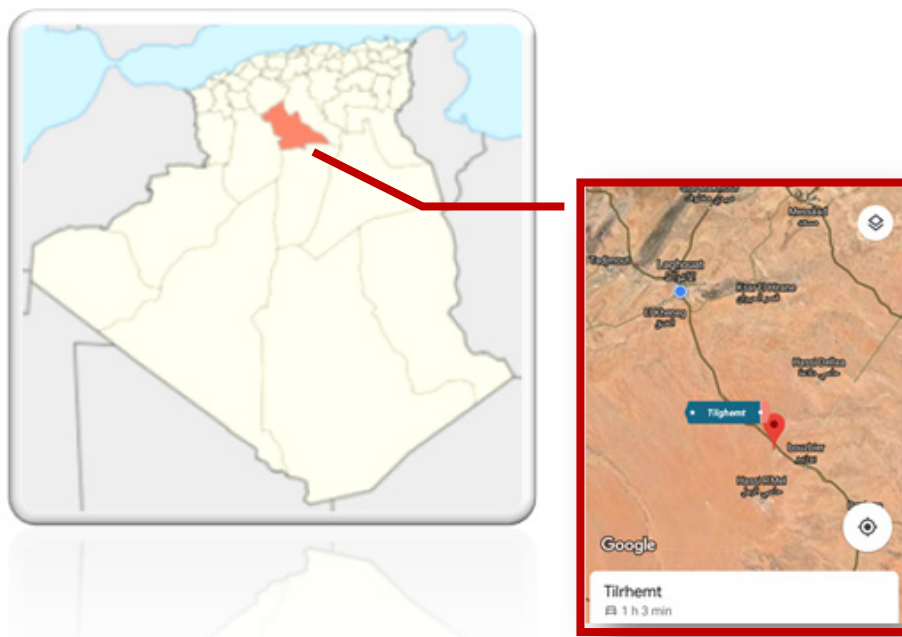


Figure 14 : Cartes géographiques représentant la station de récolte

Tableau 3 : Situation géographique du site de récolte

Station	Longitude	Latitude	Altitude	Caractéristique climatique
<i>Tilghemt</i>	03°18' (E)	32°95'(N)	774 m	Climat aride Précipitation annuelle 16mm Température à l’été 42,3°C

3. Méthode d’extraction des composés phénolique

3.1. Préparation des extraits d’acétone

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules bioactives contenues dans la plante en utilisant l’acétone comme solvants organique qui accélère et augmente le rendement d’extraction (figure 14). 40g gramme d’échantillon finement broyé, a été macérée par 400ml d’acétone pure pendant 24 heures à température ambiante, l’extrait est séparé par filtration à l’aide de papier filtre. L’opération a été répétée deux fois pour augmenter le rendement d’extraction.

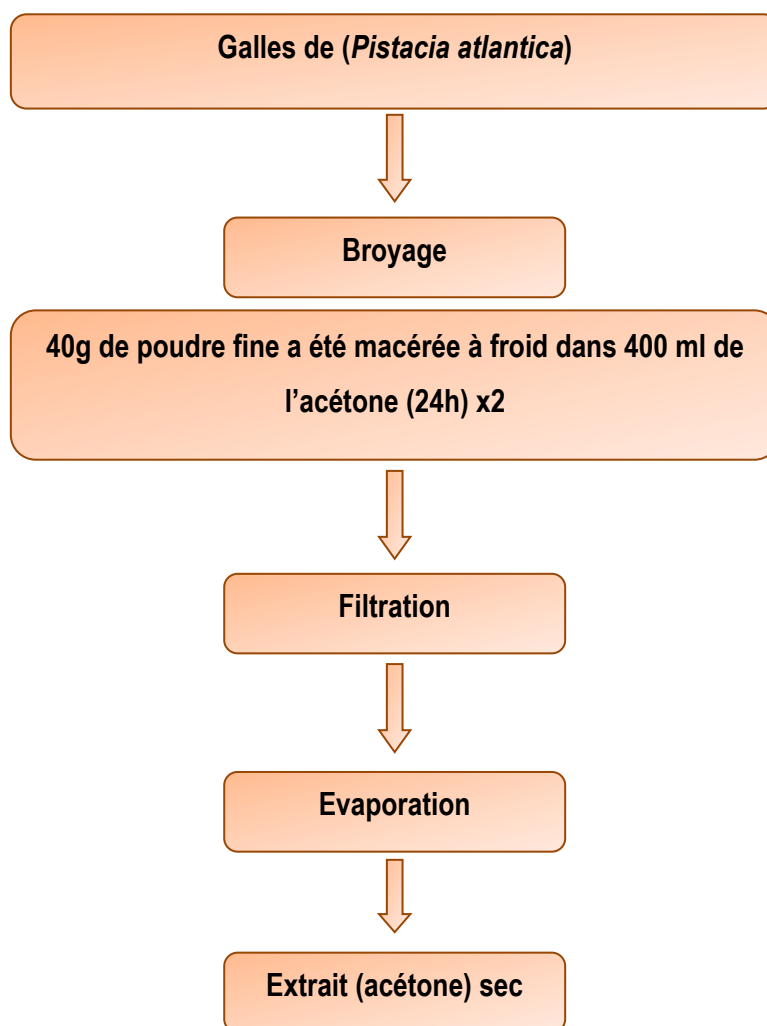


Figure 15 : Schéma simplifié des étapes du procédé d'extraction par l'acétone

3.2. Fractionnement de l'extrait d'acétone

L'extrait d'acétone a été fractionné par la méthode d'extraction liquide-liquide par des solvant à polarité croissante décrite par **Ondua et al. (2019)**. L'extraction liquide-liquide est basée sur le degré de solubilité des polyphénols dans les solvants organiques.

Le fractionnement de l'extrait d'acétone a été mené en utilisant successivement 5 solvants organiques de polarités différentes : le chloroforme, l'hexane, l'acétate d'éthyle, le méthanol-eau 35% et le *n*-butanol. Les fractions sont conservés à froid jusqu'à utilisation. La figure 15, résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut d'acétone.

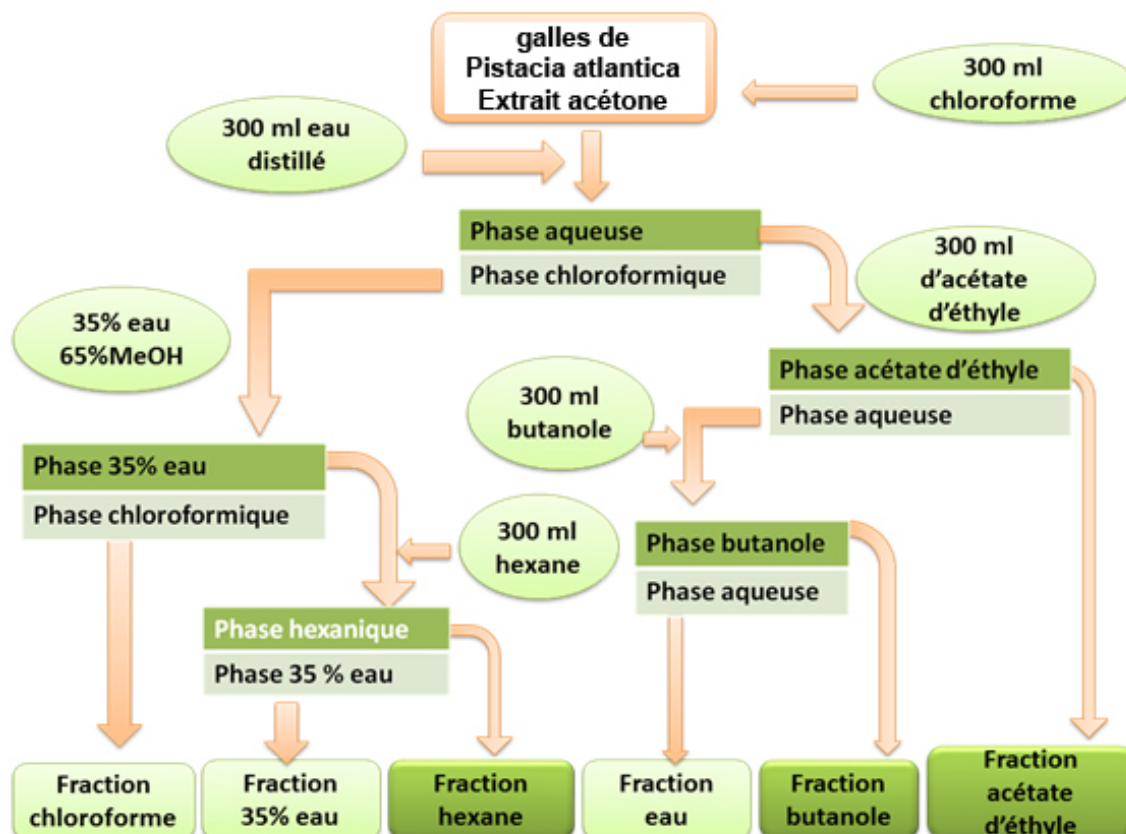


Figure 16 : Les étapes de fractionnement de l'extrait d'acétone des galles (*P. atlantica*)

3.3. Calcul de rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction est déterminé selon **Mahmoudi et al. (2013)** à l'aide de l'équation suivante :

$$R\% = \frac{m}{m_0} \times 100$$

m : masse en gramme de l'extrait sec résultant

m_0 : masse en gramme du matériel végétal à traiter

4. Tests phytochimique

Les tests phytochimique consiste dans la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (**Harbone, 1973; Trease & Evans, 1989; Hagerman et al., 1998; Bruneton, 2009**).

4.1. Les tanins

La présence de tanins est mise en évidence en ajoutant, à 2 ml de l'extrait (50µl d'extrait + 1.95 ml méthanol) quelques gouttes (50µl) de solution de FeCl₃ (2%). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue ou vert-noire.

4.2. Les flavonoïdes

La réaction de détection de flavonoïdes consiste à traiter 5ml de l'extrait (100µl d'extrait + 4,9ml méthanol) avec 1ml d'HCl (1%) et 100µl de NaOH. La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'apparition d'une coloration jaune.

4.3. Les glucosides cardiotoniques :

A 2.5 ml de chaque extrait (100µl d'extrait + 2,4 ml méthanol) ajouter 1ml d'acide acétique glaciale quelques gouttes (100µl) FeCl₃ (2%) et 0,5 ml d'acide sulfurique. La présence des glucosides cardiotoniques est confirmée par la formation de deux phases, une sous forme d'un anneau colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique).

4.4. Les composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait (50µl d'extrait + 0,95 ml méthanol) avec 2ml d'eau distillée et 20 gouttes (500µl) de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipite rouge brique.

4.5. Les phénols

A 1ml de l'extrait (50µl d'extrait + 0.95 ml méthanol) 2ml d'eau distillée est ajouter avec quelques gouttes (50µl) FeCl₃ (10%). La présence des phénols est mise en évidence par l'apparition d'une coloration bleu ou verte.

4.6. Les résines

Leur détection consiste à traiter 5ml de l'extrait (50µl d'extrait + 4,5 ml méthanol) avec 2,5 ml d'acide acétique glaciale, puis chauffer quelques minutes et en fin ajouter 0,125 ml d'acide sulfurique. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration pourpre brillante.

4.7. Les glycosides

A 1 ml de chaque extrait (100µl d'extrait + 0,9 ml méthanol) ajouter 1 ml d'acide sulfurique (5%), chauffer pendant 1 minute puis centrifuger 5 minutes. Prendre des volumes identiques ; 1ml de surnageant mélanger avec 1ml de chloroforme, ce mélange est incubé 5min et enfin ajouter 100µl NaOH à la phase chloroforme. La présence des glucosides est confirmée par l'apparition d'une coloration jaune.

4.8. Les acides aminés

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine. A 10mg des résidus obtenus après évaporation de chaque solvant d'extraction solubilisée dans 1ml d'eau distillée ajouter 1ml de solution de ninhydrine préparée dans l'acétone (ou éthanol) dont la concentration est de 1%. Chauffer dans le bain marie et observer le changement de couleur. La présence des aminoacides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette.

4.9. Les stéroïdes

A 10mg des résidus obtenus après évaporation de chaque solvant d'extraction solubilisée dans 2 ml de chloroforme. Ajouter 10 gouttes (70µl) d'acide acétique glacial puis 2 gouttes (10µl) d'acide sulfurique concentré. La solution devenue rouge puis bleu et enfin bleu claire qui indiquent la présence des stéroïdes.

5. Dosages des métabolites secondaires

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur les teneurs en phénol totaux, les flavonoïdes, les chlorophylles et les caroténoïdes.

5.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Tout le contenu phénolique dans l'extrait brut a été déterminé par spectrophotomètre au biais de la méthode *Foline-Ciocalteu*, rapportée dans **Slinkard & Singleton (1977)**, le réactif est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_{40}$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène.

Mode opératoire

250 µl de réactif de *Folin* (10 fois dilué) est ajouté à 50µl d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables.

Après 2 min, 1 ml d'une solution de carbonate de sodium 4% (m/v), sont additionnés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 760 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec de la plante (mg EAG/g d'extrait sec).

La courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de concentrations allant de 0,05 à 0,5 g/l (même Protocole des échantillons).

5.2. Dosage des flavonoïdes

Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode citée par **Djeridane et al. (2006)** en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif.

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec le groupement carbonyle C-4 et aussi les groupements hydroxyles C-3 et C-5 des flavones et flavonols, en plus il forme des complexes acides labiles avec les groupements di-hydroxyles en ortho du cycle A ou B des flavonoïdes (**Mabry et al., 1970**), ce complexe est de coloration jaune absorbe fortement à une longueur d'onde de 430 nm.

Mode opératoire

Un millilitre de chaque solution diluée dans le méthanol ou de l'extrait végétal dilué est mélangé avec 1ml du trichlorure d'aluminium 2% (m/v), ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 430nm.

La courbe d'étalonnage

La quercétine a été utilisée comme étalon pour tracer la courbe d'étalonnage. Une solution mère de concentration 0,1g/l préparé dans le MeOH a été diluée pour obtenir des solutions filles de concentrations différentes varient entre 0,01g/l et 0,1g/l.

5.3. Dosage des anthocyanes

La teneur en anthocyanes des extraits de plantes ont été déterminés par la méthode modifiée de **Padmavati *et al.* (1997)**.

Les plantes finement brayé ont été macérés dans le méthanol acidifié (1% HCl/méthanol) à la raison de 25mg/ml, pendant 24h à 4°C dans le réfrigérateur. Une centrifugation a été fait à 1000g pendant 15min, la concentration des anthocyanine dans le surnageant a été mesurée par spectrophotomètre à 530 et 657nm, le coefficient d'extinction 31,6 M⁻¹cm⁻¹ a été utilisé pour convertir les valeurs l'absorbance en concentrations des anthocyanine.

La concentration a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$[\text{Anthocyanin}](\mu\text{mol/g}) = \left(\frac{A_{530} - 0.33 \cdot A_{657}}{31.6} \right) \times \left(\frac{V(\text{ml})}{m(\text{g})} \right)$$

- ⇒ *A* : Absorbance.
- ⇒ *V* : volume de méthanol acidifié en ml.
- ⇒ *m* : la masse de plante macéré en g.

5.4. Dosage de chlorophylles totales et caroténoïdes

La teneur en chlorophylle totale et les caroténoïdes totaux ont été déterminées selon le procédé de **Peksel *et al.* (2010)**. 10 mg d'extrait des plantes a été dissous dans 10 ml d'eau distillée. On mesuré L'absorbance de l'échantillon à 450, 645 et 663 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La chlorophylle totale et la teneur en caroténoïdes totaux ont été calculés à l'aide des équations suivantes :

$$\text{Chlorophylle (a)} = 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$$

$$\text{Chlorophylle (b)} = 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$$

$$\text{Chlorophylle Totale} = 20,2 \times A_{645} - 8,02 \times A_{663}$$

$$\text{Caroténoïde Total} = 4,07 \times A_{450} - [(0,0435 \times \text{Chlorophylle (a)}) + 0,367 \times \text{Chlorophylle (b)}]$$

6. Evaluation de l'activité antioxydante

6.1. Méthode de piégeage de radical libre DPPH•

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et les composés phénoliques font généralement intervenir à la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'un antioxydant. Parmi ces technique d'analyse on a utilisé le test DPPH• (2,2 diphenyle-1-pikryl-hydrazyle), joue sur le transfert d'électron singulet pour déférentes concentration de l'extrait et une comparaison avec des antioxydants de références (Trolox, BHA et Vitamine C).

Principe

La méthode est basée sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH• en présence d'un donneur d'hydrogène H• (le cas d'un antioxydant). La solution de DPPH• montre une forte bande d'absorption à 515 ~ 517 nm, avec une couleur violet foncé et qui se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (Figure 15).

La décoloration qui en résulte est stœchiométrique ; elle concerne le degré de réduction. Le DPPH• restant, mesuré après un certain temps, correspond inversement à l'activité de piégeage des radicaux libres par l'antioxydant (**Brand-Williams *et al.*, 1995; Molyneux, 2004**).

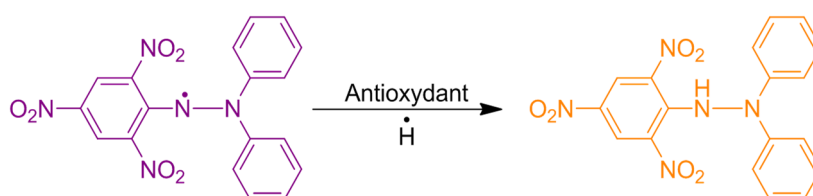


Figure 17 : Réduction du radical libre DPPH• (Molyneux, 2004)

Mode opératoire

Un volume de 1 ml, de chaque solution fille (Extrait brut de chaque solvant), récemment préparée dans le MeOH, est ajouté à 1 ml de solution de DPPH• (100µM) fraîchement préparée. Après 30 min d'incubation, à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lu contre le blanc A_0 (1ml de la solution de DPPH et de 1ml de méthanol) à 517 nm par spectrophotomètre (UV/Vis).

Le pourcentage (%) d'inhibition des radicaux libres de DPPH^{*} a été calculé par la relation suivante :

$$I\% = \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) \times 100$$

A : Absorbance de la solution de DPPH^{*} en présence de l'échantillon

A₀ : Absorbance de la solution de DPPH^{*} en absence de l'échantillon

A partir de la courbe du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons, les valeurs EC₅₀ ont été déterminées en (µg/ml), qui représentent les concentrations des échantillons à 50% de neutralisation des radicaux libres (DPPH^{*}).

6.2. Méthode de piégeage de radical ABTS^{•+}

Ce test est basé sur la réaction entre un radical cationique stable ABTS^{•+} (2,2-azinobis-(3-éthyl benzothioazoline-6-sulfonic acide) (générateur de radicaux libres) et une substance donneur de protons, se produit immédiatement après l'ajout d'une solution de potassium persulfate K₂S₂O₈, ce radical cation ABTS^{•+} est un chromogène stable à température ambiante, peut être mesure dans un spectromètre à λ = 734 nm.

Mode opératoire

Utilisant la méthode modifiée de **Re et al. (1999)**. Le radical ABTS^{•+} a été préparé par l'ajout de 7mM de ABTS avec 2,45mM de potassium persulfate incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 24 heures. Une série des dilutions ont été préparés en MeOH de volume 1ml, est ajouté à 1ml d'une solution d'ABTS^{•+} (Absorbance ≈ 0,700). Le mélange est incubé pendant 15 min à l'obscurité. Ensuite l'absorbance a été mesurée contre le blanc à 734nm par spectrophotomètre (UV-Visible). Le pourcentage de piégeage du radical ABTS^{•+} a été calculé par la formule suivante :

$$I\% = \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) \times 100$$

A : Absorbance de la solution de ABTS^{•+} en présence de l'échantillon

A₀ : Absorbance de la solution de ABTS^{•+} en absence de l'échantillon

6.3. Méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 750 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Berker et al., 2007**).

Mode opératoire

400 μl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1ml de l'acide chlorhydrique HCl (1M) et 200 μl de SDS (1%) et 300 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%), L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes puis refroidi à température ambiante. 200 μl d'une solution de chlorure ferrique FeCl_3 (0,1%) a été ajouté au mélange réactionnel. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 750nm à l'aide de spectrophotomètre UV-Vis contre, un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil. Les résultats ont été exprimés par *Trolox Equivalent antioxidant capacities* (TEAC).

7. Etude statistique

Tous les expériences ont été faite en trois essais, et les résultats sont présenter en « moyenne \pm l'erreur standard (SD) ». Le logiciel *SigmaPlot*® 12.0 a été utilisé pour tracer les courbes nécessaires (courbes d'étalonnages, courbes du pouvoir antioxydant). Les modèles choisis pour nos données expérimentales sont :

- Les courbes d'étalonnages :

$$y = ax + b$$

- Détermination d' EC_{50} de piégeage de radical DPPH et ABTS :

$$y = ax/(b + x)$$

$$y = a/(1 + \exp(-(x - x_0)/b))$$

$$y = y_0 + ax + bx^2 + cx^3$$

$$y = y_0 + ax + bx^2$$

- Détermination de TEACE par FRAP Test :

$$y = ax + b$$

Tel que a , b et c sont des paramètres calculés par le logiciel.

Le test statistique « *Pearson Correlation* » a été appliqué pour déterminer le coefficient de corrélation (R) entre les valeurs $1/EC_{50}$ et les teneurs en polyphénols, les flavonoïdes.

CHAPITRE 3 :

RÉSULTATS et DISCUSSION

1. Résultats du rendement d'extraction

Les galls du *P. atlantica* étudiées ont été extraites successivement par des solvants de déférente polarité : chloroforme ; eau ; hexane ; 35% d'eau- MeOH ; butanol et l'acétate d'éthyle. Six fractions sont obtenues :

- ⇒ fraction d'acétate d'éthyle (F1),
- ⇒ fraction butanol (F2),
- ⇒ fraction aqueuse (F3),
- ⇒ fraction d'hexane (F4),
- ⇒ fraction Méthanol-Eau 35% (F5),
- ⇒ fraction chloroforme (F6).

Tel que :

- La fraction d'hexane : contient des matières grasses et des pigments.
- La fraction de chloroforme : représente l'extrait moyennement apolaire.
- La fraction d'acétate d'éthyle : représente l'extrait moyennement polaire.
- La fraction de butanol : représente l'extrait très polaire.

Le rendement est présenté dans la figure 17, et la couleur ainsi que l'aspect de chaque fraction, sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 4 : Aspect et couleur des fractions obtenus par extraction liquide liquide

Fractions		Couleur de résidu sec	Aspect de résidu sec
F1	<i>Ac-O-Et</i>	Jaune	Poudre
F2	<i>Butanol</i>	Brune	Poudre
F3	<i>H₂O</i>	Marron clair	Pâte
F4	<i>Hexane</i>	Jaune clair	Poudre
F5	<i>H₂O 35% MeOH</i>	Transparent	Pâte
F6	<i>Chloroforme</i>	Vert clair	Pâte

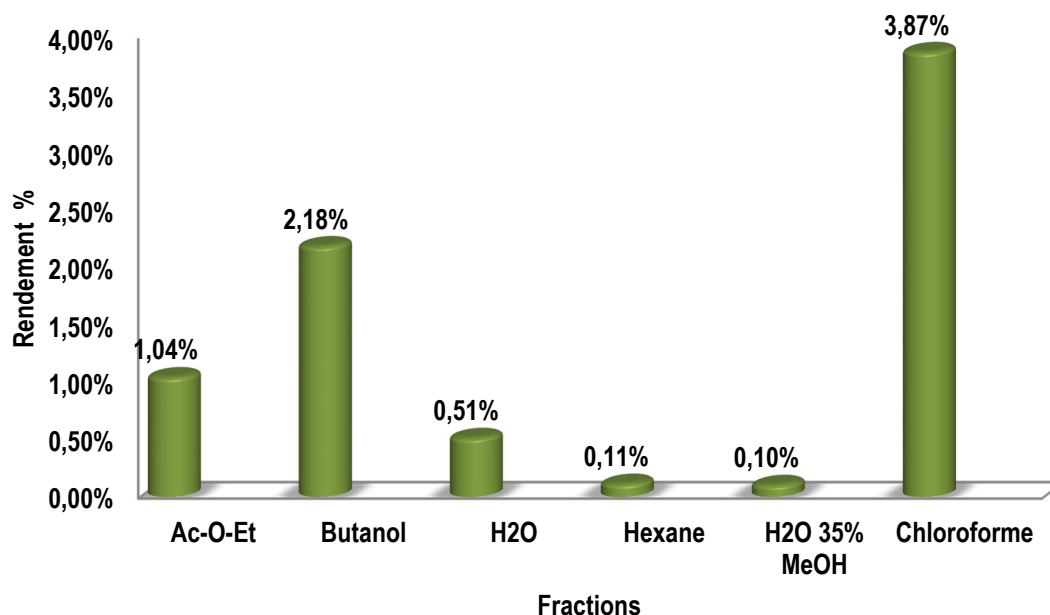


Figure 18 : Histogramme présent le rendement d'extraction de six fractions des galls de *Pistacia atlantica* Desf

Les taux d'extraction les plus élevés ont été signalés pour les fractions chloroforme et butanol (3,78% et 2,18%) suivi par le rendement de la fraction Ac-O-Et (1,04%), par contre les taux faibles ont été remarquée pour les fractions H₂O35%MeOH et l'hexane respectivement 0,09% et 0,10%.

En comparant nos résultats avec les résultats de **Belyagoubi *et al.* (2016)**, qui ont été travaillé sur les fruits de *P. atlantica*, le rendement d'extraction le plus élevée a été obtenus avec fraction butanol 11,65 % suivi par la fraction d'acétate 9,85%.

D'après **Herzi (2013)**, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature de solvant utilisé dans l'extraction. L'utilisation de différents solvants à polarité différente permet de séparer des composés selon leurs degrés de solubilité dans le solvant d'extraction.

D'après les résultats obtenus, on constate que la méthode d'extraction et le type des solvants utilisés et même l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage jouent un rôle très important dans les rendements des extraits.

2. Résultats des tests phytochimique

Les tests phytochimique ont été réalisés sur différents fraction F1 jusqu'à F6. Le screening phytochimique nous a permis en évidence la présence de métabolites secondaire au niveau des tissus végétaux de nos échantillons. Les résultats des tests phytochimique sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Résultats des tests phytochimique

Fractions	F1	F2	F3	F4	F5	F6
<i>Tanins</i>	++	+++	+	-	-	-
<i>Flavonoïdes</i>	+	+	+/-	-	+	+/-
<i>Glucosides cardiotoniques</i>	+	++	+/-	-	-	-
<i>Composés réducteurs</i>	-	-	-	-	-	++
<i>Phénols</i>	+	++	+	-	-	-
<i>Résines</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Glycosides</i>	+	+	-	-	-	++
<i>Acides amines</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Stéroïdes</i>	-	-	+/-	+/-	-	++

(-) : absence. (+) : présence en faible quantité. (++) : Présence en quantité moyenne. (+++) : Présence en quantité important.

Le test positif des **glycosides** nous a montré leur présence dans la fraction de d'acétate d'éthyle et la fraction de butanol et la fraction de chloroforme. Sa présence est confirmée par une couleur brune.

La mise en évidence des **flavonoïdes** dans les fractions d'acétate d'éthyle, butanol, fraction d'eau est confirmé par l'apparition d'une couleur jaune foncée en contact avec le chlorure d'aluminium.

Les **tanins** sont présents dans les fractions d'acétate d'éthyle, butanol, fraction d'eau avec une intensité important, sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleue ou vert-noire.

Le test positif des **stéroïdes** nous a montré leur présence dans la fraction d'eau et la fraction hexane. Sa présence est confirmée par une apparition des couleurs rouge puis bleu et enfin bleu claire.

Le test positive des **glucosides cardiotoniques** nous a montrés leurs présence dans les fractions (d'acétate d'éthyle, butanol, Fraction d'eau) sa présence est confirmée par une apparition d'une couleur jaune.

Les **phénols** sont présents dans les fractions d'acétate d'éthyle, butanol, fraction d'eau avec une intensité important, sa présence est confirmée par une réaction positive avec FeCl_3 , sa présence est confirmée par une apparition d'une couleur bleu ou vert.

Les **composés réducteurs** absents dans toutes les fractions sauf dans la fraction chloroforme. Le test positif est confirmé par une coloration rouge brique précipité.

Les **acides aminés** absents dans toutes les fractions sauf dans la fraction d'eau, sa présence est confirmée par une apparition d'une couleur violette.

3. Résultats de dosage des métabolites secondaires

3.1. Résultats du dosage des composés phénoliques

Le dosage de polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de *Folin-Ciocalteu*. La teneur en composés phénoliques de chaque fraction a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage (figure 19) qui est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec de la plante (mg EAG/g d'extrait sec). Les teneurs en polyphénols totaux sont présentés sur la figure 18.

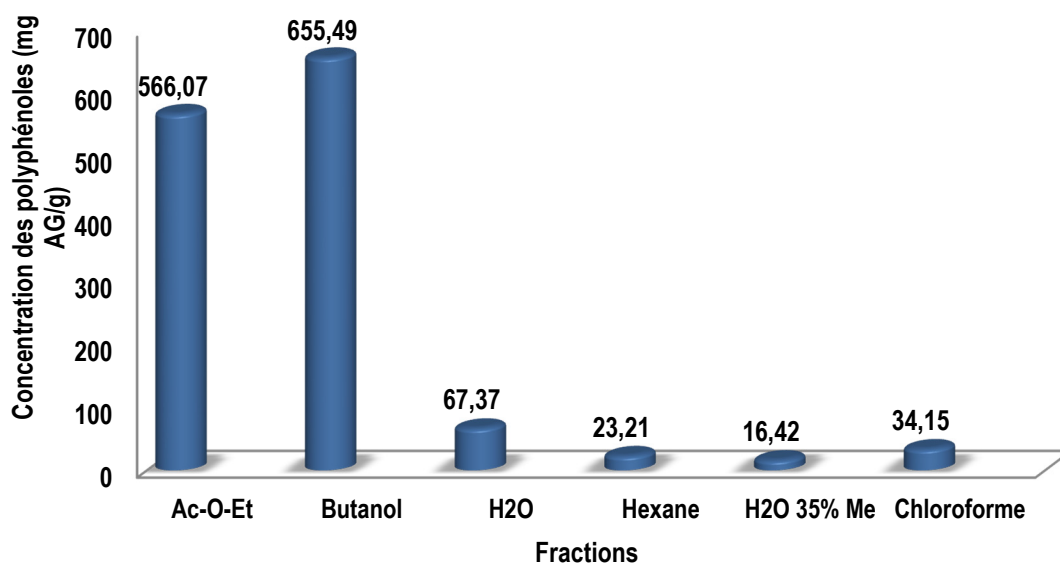


Figure 19 : La teneur en polyphénols totaux (mg AG/g) de différentes fractions

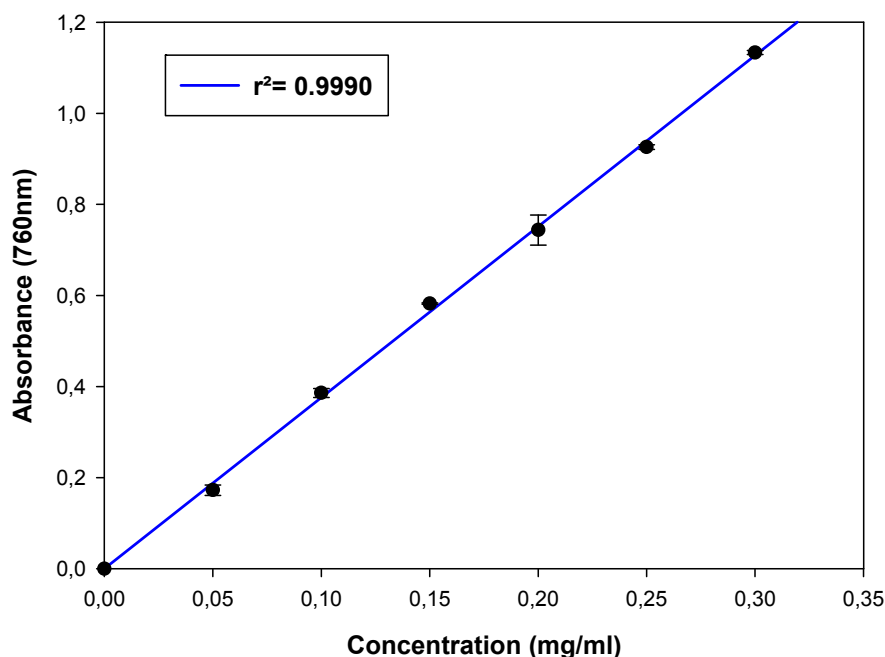


Figure 20 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique

Le réactif de *Folin-ciocalteau* a été réduit par les phénols en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène, les teneurs en phénol totaux mesurés de chaque fraction varient entre $16,42 \pm 0,27$ à $655,49 \pm 18,36$ mg AG/g résidu sec.

La teneur des composées phénolique est le plus élevé ont été détecté dans la fraction butanol ($655,49 \pm 18,36$ mg AG/g) et la fraction d'Ac-O-Et ($566,07 \pm 11,98$ mgAG/g), par contre la fraction (H₂O 35%-MeOH) est la plus faible concentration ($16,42 \pm 0,27$ mgAG/g).

Ce résultat indique que les galles du *Pistacia atlantica* contiennent des composés phénoliques très polaires.

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

Ce résultat peut être lié aux :

- ✓ La solubilité de composés phénolique dans les solvants fortement polaire (butanol).
- ✓ La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Lee *et al.*, 2003).

En comparant nos résultats avec les travaux mené par **Gaoui & Saidat (2017)**, sur la quantité des composés phénoliques des galles du *P. atlantica* de deux régions de sud Algérien (*Laghouat* et *Ain-oussera*), affirme que l'échantillon de la région de *Laghouat* est relativement riche en composés phénoliques (103,070±4,327 mg EAG/g). Cependant, le taux est plus faible est exprimé par les échantillons de *Ain-oussera* (61,459±0,415 mg EAG/g). La teneur des deux régions plus faibles que nos extraits.

D'autres travaux réalisé par **Ziane (2014)** sur les feuilles de *P. atlantica*, les résultats montrent que l'extrait brut des feuilles de *P. atlantica* a une teneur en composés phénolique de 340,58µg EAG/mg d'extrait sec. Ces résultats sont différents à nos échantillons (galles).

La seul explication de l'indépendance de l'accumulation des composés phénolique entre les feuilles et les galles peut être interpréter que les galles sont plus exposés les agressions des microorganismes (effet attracteur sur les insectes).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques ; des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en composés phénoliques (**Ebrahimzadeh et al., 2008; Aziza & Boucetta, 2018**).

3.2. Résultat du dosage des flavonoïdes

Concernant la détermination de la teneur en flavonoïdes totaux de nos fractions, elle a été effectuée au moyen d'un dosage spectrophotométrie par la méthode d' AlCl_3 .

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage tracée, en utilisant la quercétine comme standard (figure 20). Les résultats sont exprimés en termes de mg EQ/g d'extrait sec. La figure 21 représente la teneur des flavonoïdes dans différentes fractions.

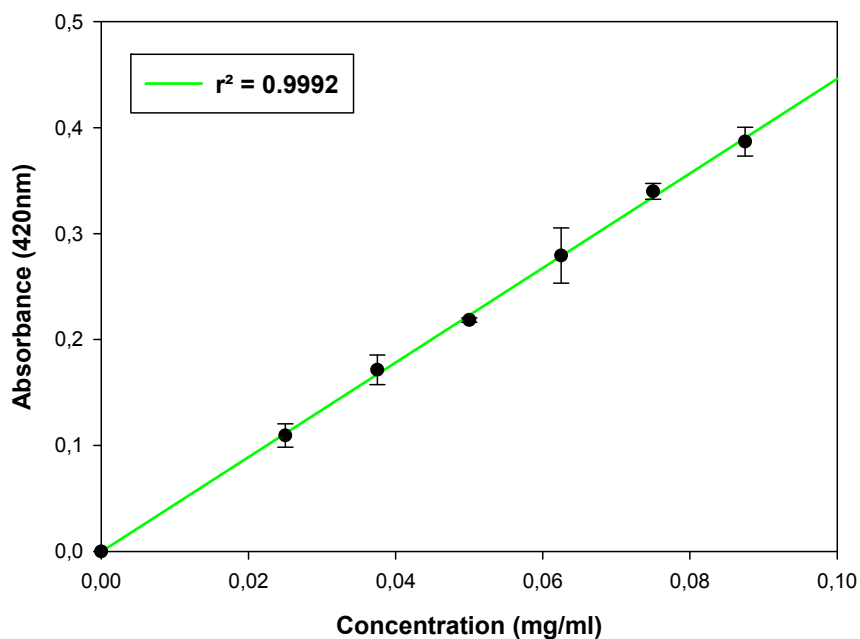


Figure 21 : La courbe d'étalonnage de la quercétine

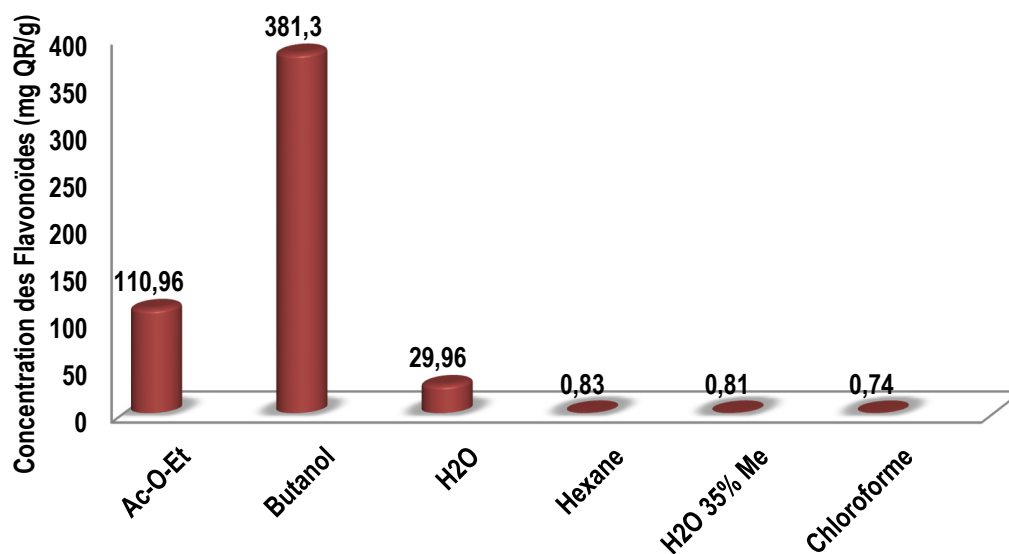


Figure 22 : La teneur en flavonoïdes en (mg QR/g) de différentes fractions

Les résultats de teneurs en flavonoïdes sont varié entre $0,74 \pm 0,07$ et $381,30 \pm 15,47$ mg QR/g de résidu sec. La concentration la plus élevée est enregistré pour la fraction de butanol avec de valeur $381,30 \pm 15,47$ mg QR/g. En revanche la fraction chloroforme présente la teneur la plus faible $0,74 \pm 0,07$ mg QR/g. Ce résultat révèle que les flavonoïdes sont extractibles par le butanol mieux que l'autre solvant, les résultats dévoilent que la teneur en flavonoïdes augmente avec la croissance de la polarité. Ce qui laisse supposer que les flavonoïdes des galles du *Pistacia alantica* sont en grande partie fortement polaires.

3.3. Résultats de dosage des anthocyanes,

Le résultat de dosage des anthocyanes, dans l'extrait brut d'acétone est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Résultat de dosage des anthocyanes

<i>Anthocyanin</i>	0,943 $\mu\text{mol/g}$
--------------------	-------------------------

Les anthocyanines sont des pigments flavonoïdes rouges, violets et bleus produits principalement dans les cellules épidermiques des plantes, où ils s'accumulent dans des vacuoles, ce qui provoque la coloration du tissu. La voie de biosynthèse du composé polyphénolique est étroitement liée à celle des anthocyanes (**Ghorbanli *et al.*, 2012**).

3.4. Résultats de chlorophylles et caroténoïdes

Le résultat de dosage de chlorophylles totales et caroténoïdes dans l'extrait brut d'acétone sont présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7 : Résultat de dosage de chlorophylles totales et caroténoïdes

Chlorophylle (a)	2,296 mg/g
Chlorophylle (b)	4,251 mg/g
<i>Chlorophylle totale</i>	3,287 mg/g
<i>Caroténoïde total</i>	3,658 mg/g

La détermination quantitative de la chlorophylle (a) et (b), et des caroténoïdes dans un extrait de pigment complet de tissu végétal vert par spectroscopie UV-VIS est compliquée par le choix de l'échantillon, du système de solvant et du spectrophotomètre utilisé. Les différents pigments végétaux absorbent la lumière dans les régions spectrales qui se chevauchent, selon le système choisi.

On a trouvé une teneur en caroténoïdes de 3,658mg/g, en comparaison avec les résultats obtenus par **Mehenni & Rahmouni (2017)**, qui a trouvé une valeur de 6,63mg/g, en constate donc une grande différence et cela pourrait être dû au type de solvant utilisé pour l'extraction et aux conditions opératoires. Et même ce résultat explique la présence de couleur brune des galles.

4. Résultats de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante in vitro de nos fractions a été évaluée par trois méthodes colorimétriques complémentaires à savoir le test de DPPH, ABTS et FRAP et les résultats sont comparés aux étalons de référence Trolox, BHA et de la vitamine C.

4.1. Résultats de l'activité antioxydante par Test DPPH

La capacité antioxydante des différentes fractions a été déterminée à partir de valeurs d'EC₅₀ à l'aide de la figure 22, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les valeurs d'EC₅₀ de six fractions sont figurées dans la figure 22.

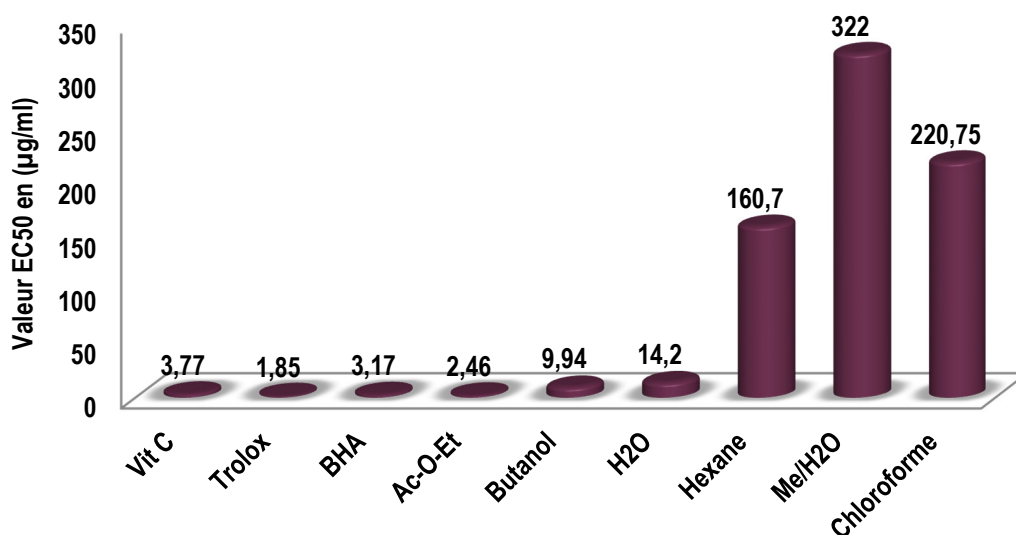


Figure 23 : Les valeurs d'EC₅₀ du test DPPH des six fractions et de trois standards

Une variation de valeurs d'EC₅₀ a été remarquée sur les six fractions, la fraction F1 et F2 et F3 présentent une forte activité antioxydante avec des valeurs EC₅₀ de 2,46 et 9,94 et 14,2µg/ml respectivement. Tandis que les fractions F4, F5 et F6 montrent une faible activité antioxydante avec des valeurs EC₅₀ de 160,7 ; 322 et 220,75µg/ml respectivement.

Généralement les fractions sont capables de réduire le radical libre DPPH, mais cette activité antioxydante est faible relativement aux valeurs des standards Trolox, BHA et Vitamine C : 1,85µg/ml ; 3,17µg/ml et 3,77µg/ml, respectivement. Sauf la fraction d'acétate d'éthyle (2,46µg/ml) montre une activité antioxydante élevée par rapport aux standards (vitamine C et BHA).

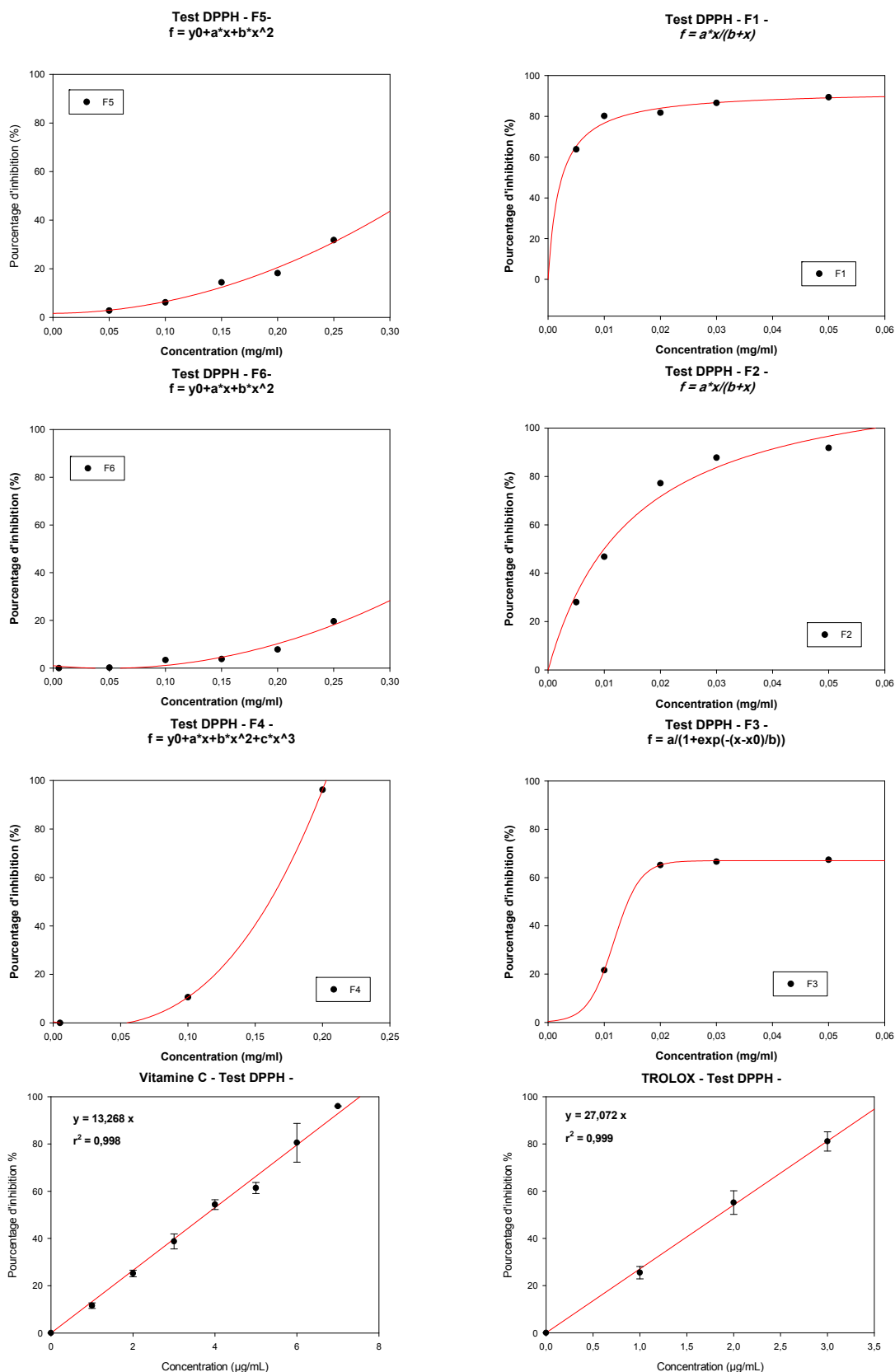


Figure 24 : Courbes représentes le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des fractions de galles de *P. atlantica* avec les standards

Ces résultats sont significativement élevés par rapport aux résultats menés par **Belyagoubi *et al.* (2016)** sur les fruits de *Pistacia atlantica*, qui montre des valeurs EC_{50} de la fraction acétate d'éthyle des fruits de l'ordre de 14,641 mg/g.

Selon **Molyneux (2004)**; les valeurs EC_{50} sont inversement proportionnelles à l'effet inhibiteur des radicaux libres dont les valeurs petites indiquent un potentiel anti-radicalaire important.

Il faut noter que la plus faible valeur d' EC_{50} (l'extrait le plus antioxydant) est enregistrée dans la fraction de l'acétate d'éthyle, malgré ne contenir pas la grande quantité des flavonoïdes par rapport à la fraction de butanol.

L'effet antioxydant d'un extrait peut aussi différer selon la qualité des polyphénols y présents tels les flavonoïdes qui ont montrés des activités antioxydantes (**Wang *et al.*, 1998**). Indiquant la capacité antioxydante de l'extrait est la contribution des flavonoïdes qui sont les antioxydants dominants dans cet extrait.

Selon **Turkmen *et al.* (2007)**, les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale. Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés. Par ce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité antioxydante.

Ce mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le radical DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. La configuration spatiale et le nombre de groupement OH des structures flavonoïdes peuvent avoir une influence sur les différents mécanismes antioxydants (**Bourgou *et al.*, 2008**).

4.2. Résultats de l'activité antioxydante par Test ABTS

La méthode d'ABTS présente une coloration bleue turquoise lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes. La forme réduite confère à la solution une décoloration.

Les valeurs d' EC_{50} ont été déterminées pour nos fractions à partir des représentations graphiques (figure 24) également, on a testé l'activité antioxydante de référence (trolox, vitamine C et BHA) afin de les comparer avec nos fractions. Les valeurs d' EC_{50} de six fractions et les standards sont mentionnés dans la figure 25.

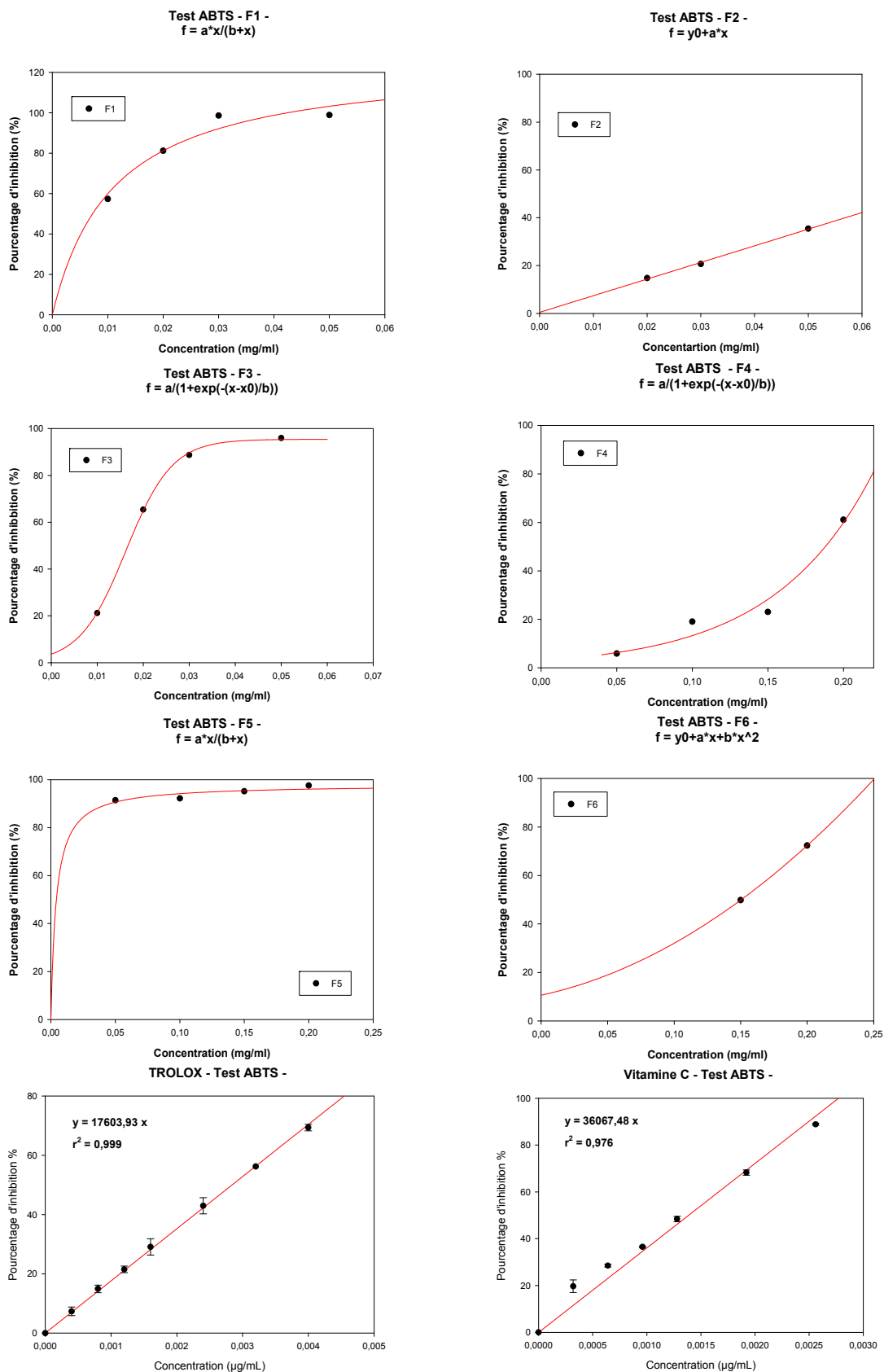


Figure 25 : Courbes représentes le pourcentage d'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations des fractions de galles de *P. atlantica* avec les standards

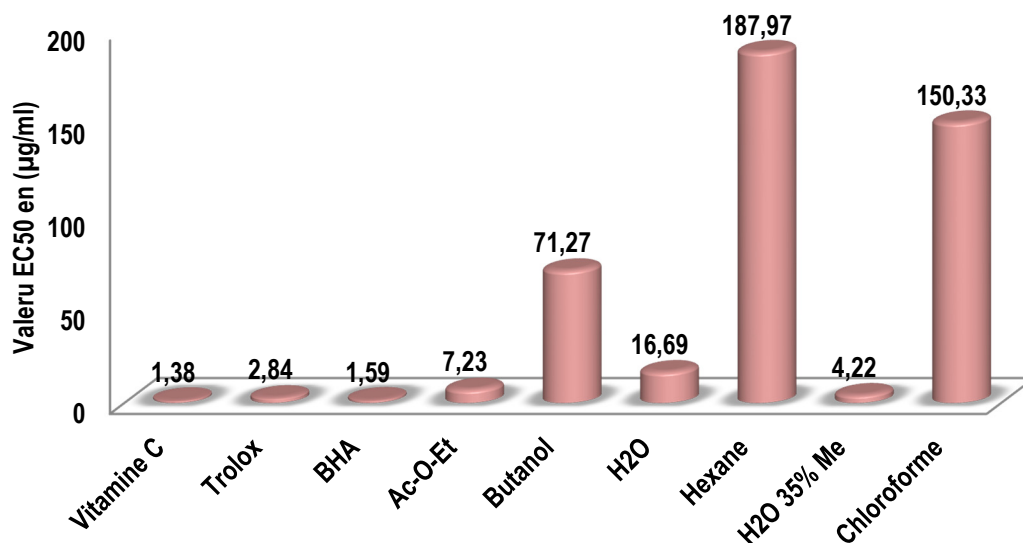


Figure 26 : Les valeurs d'EC₅₀ du test ABTS des six fractions et de trois standards

D'après les résultats obtenus, la meilleure activité antioxydante a été marquée pour la fraction MeOH-H₂O 35% (F5) avec un EC₅₀ de l'ordre de 4,22µg/ml, suivi par la fraction d'acétate d'éthyle (F1) (7,23µg/ml), les autres fractions montrent une faible activité antioxydant.

Donc nous constatons que la fraction MeOH-H₂O 35% et l'acétate d'éthyle ont présentées une activité plus élevée que celles des autres fractions.

En comparant les valeurs EC₅₀ des fractions avec celle des standards, on constate que ces valeurs sont relativement faible aux valeurs des standards 1,38 ; 2,84 et 1,59µg/ml, respectivement, Vitamine C, Trolox, BHA.

Nous pouvons classer tous les fractions par ordre de réactivité décroissante :

Vitamine C > BHA > Trolox > H₂O 35% MeOH > Ac-O-Et > H₂O > Butanol > Chloroforme > Hexane

Ces résultats peuvent être dus au faite que notre plante contient différents types des polyphénols entre ces derniers peut expliquer leur pouvoir anti-radicalaire important à piéger l'ABTS⁺.

Le pouvoir antioxydant des galles par le test ABTS confirmé l'efficacité antioxydant testé par le test DPPH dans la fraction d'acétate d'éthyle.

Cette bonne activité dans la fraction d'acétate d'éthyle dans les deux test (ABTS, DPPH) peut être expliquée par la richesse des flavonoïdes en groupements hydroxyles, en effet ces métabolismes secondaires, sont connus par leurs stabilisations des radicaux libres grâce à la haute réactivité de leurs groupements hydroxyles.

Dans la littérature aucun article n'a teste l'efficacité des composé phénolique des galles par le test ABTS. Les travaux menés par **Sifi (2016)**, sur les huiles essentielle des galles de *Pistacia atlantica*, des deux stations (*Laghouat, Ain-Oussera*) ont révélé une capacité de réduction de 50% des radicaux libres du cation ABTS•+ avec des concentrations allant de 0,104 à 5mg/ml et 0,544 à 5mg/ml, pour les échantillons d'*Ain-oussera* et les échantillons de *Laghouat*, respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles révélées dans notre travail (4,22 à 187,97 µg/ml). Cette différence pourrait être due à une différence de la nature des compositions chimique entre les molécules étudiées (les huiles et les composés phénolique).

4.3. Résultats du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants qui donnent la couleur verte. Les valeurs du TEAC obtenu par le test FRAP sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8 : Les valeurs d'EC₅₀ du test ABTS des six fractions

Fractions		TEAC (mg Trolox/g)
F1	Ac-O-Et	666,20
F2	Butanol	2025,35
F3	H2O	823,94
F4	Hexane	345,17
F5	H2O 35% Me	322,54
F6	Chloroforme	2216,20

L'analyse de l'ensemble des résultats obtenus, montre que la fraction de chloroforme présent un pouvoir réducteur plus important 2216,20 mg TR/g suivi par la fraction butanol 2025,35 mg TR/g.

Quand la valeur de TEAC augment signifie que l'extrait est un bon réducteur. Selon la figure 26 toutes les fractions montrent une activité réductrice de fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).

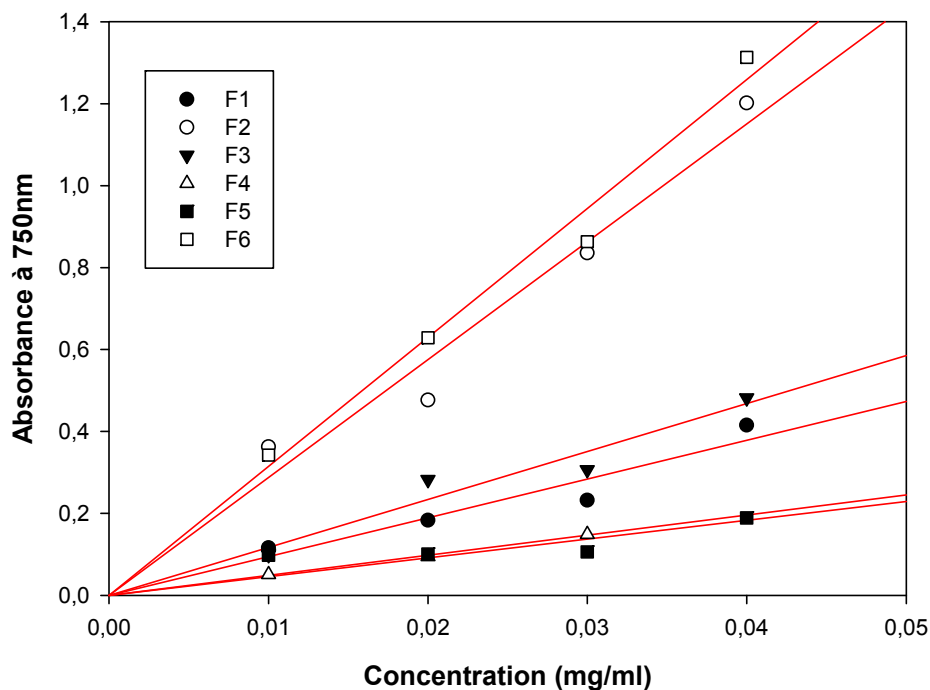
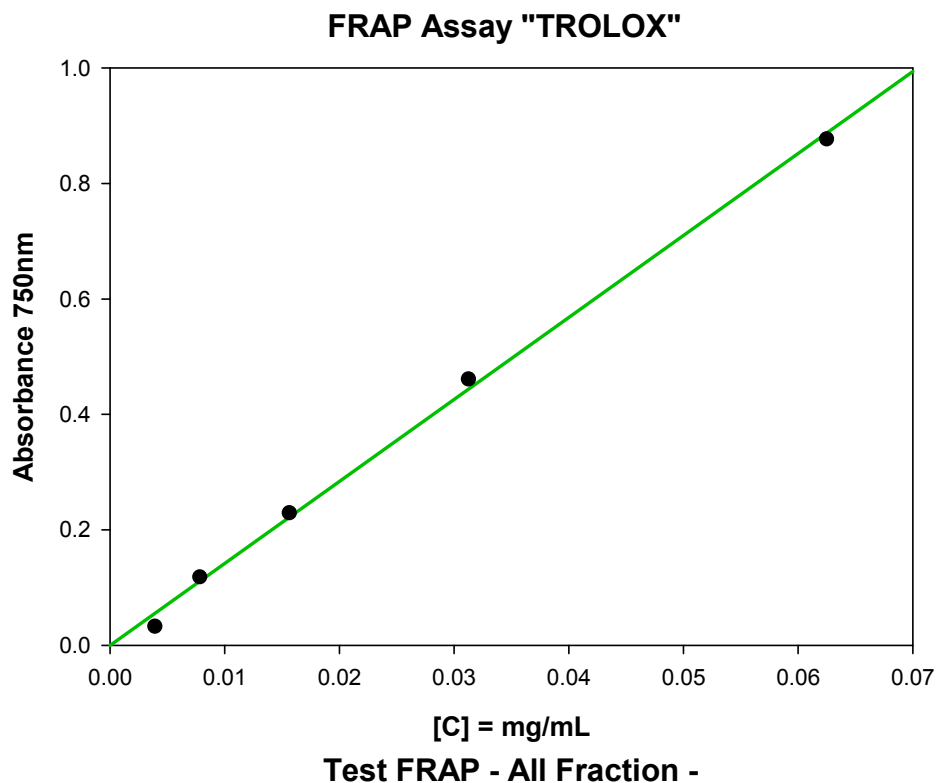


Figure 27 : Courbes représentes pouvoir réducteur des fractions et de Trolox, en (mg/ml) par Test FRAP

Les résultats de test FRAP sur les galles de *Pistacia atlantica* obtenue par **Djani (2016)**, montre que l'extrait d'acétate d'éthyle dévoile un pouvoir réducteur supérieur ($113,09 \pm 6,098$ mg/g) par rapport l'extrait dichlorométhane ($79,07 \pm 9,93$).

A l'issus de notre résultats on peut conclure que l'activité réductrice n'est pas liée directement au continu en composées phénolique. Cela confirmé les résultats précédent dans le tableau 5, où la fraction 6 est la seul qui riche en composés réducteurs et fort présence des glycosides.

Selon **Djeridane et al. (2006)**, Les solvants d'extraction emportent des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique.

5. Résultats de test de corrélation

La relation entre les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et la capacité antioxydante totale de différentes fractions est montrée dans le tableau 9.

Tableau 9 : Test de corrélation entre l'activité antioxydante et le taux des composés phénoliques (CP, FL)

Coefficient « R »	Test (DPPH)	Test (ABTS)	Test FRAP	CP	FL
Test (DPPH)	1				
Test (ABTS)	0,2354	1			
Test FRAP	-0,1294	-0,5827	1		
CP	0,7140	-0,0642	0,3149	1	
FL	0,2888	-0,2512	0,4967	0,8716	1

De même une bonne corrélation est observée entre la teneur des composées phénolique et la teneur des flavonoïdes ($R=0,8716$). Nous présentons alors dans l'histogramme ci-dessous (figure 27) les valeurs des contenus en phénols totaux et en flavonoïde pour chaque fraction.

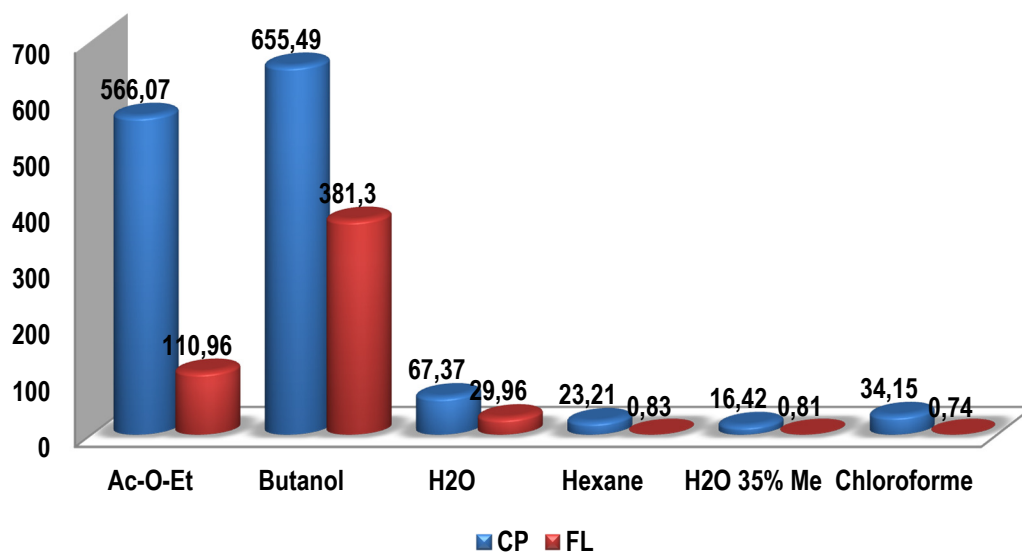


Figure 28 : Histogramme représentant les quantités des phénols totaux et des flavonoïdes pour les différentes fractions

Il est clair à partir de cet histogramme que les quantités des phénols totaux et des flavonoïdes varient dans le même sens, on remarque que le pourcentage en flavonoïdes et phénols totaux dans la fraction de butanol plus important que les autres fractions.

Les résultats du dosage montrent aussi que la proportion en phénols dans la fraction butanol et acétate d'éthyle est nettement supérieure à celle des flavonoïdes, ceci suggère que les phénols présents ne sont pas tous des flavonoïdes, il peut y avoir présence d'autres polyphénols tels que les tanins catéchiques ainsi que les coumarines.

En revanche, c'est le cas des extraits de notre plante étudiée notre valeurs de teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes les plus élevés par rapport les études précédents.

Nous avons remarqué une corrélation modéré entre les teneurs en phénols totaux et la capacité du piégeage du radical DPPH ($R=0,7140$).

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Bougandoura & Bendimerad, 2013**).

Concernant la corrélation entre le test antioxydants DPPH, ABTS et FRAP, les résultats obtenus nous montre la présence d'une corrélation modéré et négative entre le test ABTS et le test FRAP ($R= - 0,5827$). Mais pas de corrélation entre les autres tests.

CONCLUSION

Conclusion

L'objet de notre travail a porté sur d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénolique des galles de *Pistacia atlantica* Desf par le biais de trois méthode : piégeage de radicaux libre DPPH et ABTS, et la réduction de fer par la méthode FRAP

L'extraction des composé phénolique de les galles a été réalisé par la macération a froide et suivi par l'extraction liquide-liquide pour fractionné l'extrait en six fraction selon la polarité des solvants : l'extrait d'Ac-O-Et, l'extrait butanol, l'extrait H₂O, l'extrait hexane, l'extrait H₂O35%-MeOH et l'extrait chloroforme.

D'après les résultats on conclure que le rendement des composé phénolique de la fraction (chloroforme) et la fraction (butanol) plus élevé par rapport aux autres.

Dans l'analyse qualitative, nous avons effectué des tests phytochimique sur les fractions d'extrait des galles de Pistachier de l'Atlas pour voire la présence ou l'absence de quelque métabolite secondaire. D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué la présence des flavonoïdes, des tanins, Phénols, des stérols, des Glycosides et des composés réducteurs dans les galles.

Nous avons enregistré une faible présence de chlorophylle dans les galles et une haute concentration et forte présence des Anthocyanes ($\mu\text{mol/g}$).

La premier étape de notre travail qui consiste à évaluer les quantités phénolique de notre plant an adoptant la méthode de *Folin-ciocalteu*, nous permis de constater que ces galles sont des source des polyphénols.

En parallèle, l'analyse quantitative du contenu en flavonoïdes réalisé par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium, nous a conforté dans l'idée que ces galles étaient en possession d'un matériel riche en flavonoïdes. Nous avons remarqué une bonne corrélation entre la teneur des composées phénoliques et la teneur des flavonoïdes ($R=0,8716$).

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques et des quelques antioxydants standards pris comme référence (la vitamine C, le Trolox et le BHA) a été réalisé par des tests anti antioxydants (DPPH, ABTS et FRAP).

L'activité antioxydant la plus élevée a été enregistré chez la fraction d'acétate d'éthyle et la fraction butanol (02,46 µg/ml - 09,94 µg/ml) pour le test DPPH. Le résultat de test ABTS obtenu la fraction H₂O 35%-MeOH est la plus active (04,22 µg/ml). Pour le test FRAP la fraction de chloroforme est la plus active (2216,20mg TR/g résidu sec).

Nous avons trouvés une corrélation linéaire entre les valeurs d'EC₅₀ de DPPH et la teneur en composés phénoliques ($R=0,7140$) donc l'activité antioxydante des phénols dépend principalement de ces composés antioxydants et de leurs concentrations. Mais ne trouve aucune corrélation entre le test antioxydants DPPH, ABTS et FRAP et les flavonoïdes.

Enfin, nous recommandons :

- Réalisé d'autre étude de l'activité antioxydante in vivo, in vitro.
- Détermination de la composition chimique des extraits phénoliques par HPLC.
- Evaluation d'autres activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire et anticancéreuse.
- Effectuer des études toxicologiques sur les fractions ayant présentées une bonne activité.

Références bibliographiques

- Adamczyk, B.; Kitunen, V. & Smolander, A. (2013). *Response of soil C and N transformations to condensed tannins and different organic N-condensed tannin complexes* (Vol. 64)p.
- AL-Saghir, M. G. (2006). *Phylogenetic analysis of the genus Pistacia (Anacardiaceae)*. (Doctor of Philosophy in Biological Sciences), Virginia Tech. 123p.
- Álvarez, R.; Encina, A. & Hidalgo, N. P. (2009). Histological aspects of three *Pistacia terebinthus* galls induced by three different aphids: *Paracletus cimiciformis*, *Forda marginata* and *Forda formicaria*. *Plant Science*, 176(2), 303-314.
- APG II. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141, 399–436.
- Aziza, A. & Boucetta, H. (2018). *Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de Pistacia atlantica Desf (in vitro)*. (Master en Biologie), Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana. 98p.
- Azzi, A.; Boscoboinik, D.; Marilley, D.; Ozer, N. K.; Stäuble, B. & Tasinato, A. (1995). Vitamin E: a sensor and an information transducer of the cell oxidation state. *The American journal of clinical nutrition*, 62(6), 1337S-1346S.
- Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *Ed Librairie moderne Rouiba*, 46.
- Belhadj, S. (2001). Les pistacheraies algériennes. Etat actuel et dégradation. *Cahiers Options MED*, 56, 107-109.
- Belhadj, S.; Derridj, A.; Auda, Y.; Gers, C. & Gauquelin, T. (2008). Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany*, 86(5), 520-532.
- Belyagoubi, L.; Belyagoubi-Benhammou, N.; Atik-Bekkara, F. & Coustard, J. (2016). Effects of extraction solvents on phenolic content and antioxidant properties of *Pistacia atlantica* Desf fruits from Algeria. *International Food Research Journal*, 23(3).
- Benhassaini, H. (2003). *Contribution à l'étude de l'autoécologie de Pistacia atlantica Desf. ssp. I et valorisation*. (Thèse de Doctorat), Université de Sidi Bel-Abbès. 93p.
- Benyahia, Y. (2017). *Étude de la germination des graines du Pistacia atlantica Desf.(Pistachier de l'Atlas)*. (Matser), Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 109p.
- Benzie, I. F. & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Berker, K. I.; Guclu, K.; Tor, I. & Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72(3), 1157-1165.
- Boudy, P. (1952). Guide du forestier en Afrique du Nord.

- Bougandoura, N. & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*(9), 14.
- Bourgou, S.; Ksouri, R.; Bellila, A.; Skandrani, I.; Falleh, H. & Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technology*, 28, 25-30.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales* (4^e ed.). Paris: Lavoisier, 1269p.
- Cao, G.; Alessio, H. M. & Cutler, R. G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(3), 303-311.
- Chen, L.; Yang, X.; Jiao, H. & Zhao, B. (2003). Tea catechins protect against lead-induced ROS formation, mitochondrial dysfunction, and calcium dysregulation in PC12 cells. *Chemical research in toxicology*, 16(9), 1155-1161.
- Chen, Y.-H.; Yang, Z.-S.; Wen, C.-C.; Chang, Y.-S.; Wang, B.-C.; Hsiao, C.-A. & Shih, T.-L. (2012). Evaluation of the structure-activity relationship of flavonoids as antioxidants and toxicants of zebrafish larvae. *Food chemistry*, 134(2), 717-724.
- Cushnie, T. T. & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- Cuvelier, C.; Dotreppe, O. & Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét*, 147, 315-324.
- Dee Boersma, P.; Kareiva, P.; Fagan, W. F.; Alan Clark, J. & Hoekstra, J. M. (2001). How Good Are Endangered Species Recovery Plans? The effectiveness of recovery plans for endangered species can be improved through incorporation of dynamic, explicit science in the recovery process, such as strongly linking species' biology to recovery criteria. *BioScience*, 51(8), 643-649.
- Delattre, J.; Beaudeau, J. L. & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). *Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques*: Tec & Doc Lavoisier, 549p.
- Divya, N.; Thenmozhi, S.; Sureshkumar, B. & Selvan, M. (2014). Antibacterial activity of medicinal plant against wound infected pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(11), 4942.
- Djani, A. (2016). *Valorisation des extraits des galles du P. atlantica par l'étude de leurs activités antioxydante*. (Matser en Chimie Organique), Université Amar Telidji - Laghouat.: 70p.
- Djeridane, A.; Yousfi, M.; Nadjemi, B.; Boutassouna, D.; Stocker, P. & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
- Doucet, R. (2008). *Les plantes agricoles et leurs maladies*: Ed BERGER, 455p.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.
- Durand, G. & Beaudeau, J. L. (2011). *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives*: Médecine Sciences publications, Lavoisier, 607p.

- Ebrahimzadeh, M. A.; Pourmorad, F. & Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of biology*, 32(1).
- El Gharras, H. (2009). Polyphenols: food sources, properties and applications—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2512-2518.
- Evans, W. J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise—. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 647S-652S.
- Galleano, M.; Calabro, V.; Prince, P. D.; Litterio, M. C.; Piotrkowski, B.; Vazquez-Prieto, M. A., . . . Fraga, C. G. (2012). Flavonoids and metabolic syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1259(1), 87-94.
- Gaoui, H. & Saidat, A. (2017). *Activité antioxydantes des huiles essentielle et des extraits acétoniques des galles du Pistachier de l'Atlas*. (Master en Biochimie), Université amar Téliidji Laghouat. 70p.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Ghorbanli, M.; AMIRKIAN, T. T. & NIYAKAN, M. (2012). Seasonal changes in antioxidant activity, flavonoid, anthocyanin and phenolic compounds in *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale and *Physcia dubia* (Hoffm.) Lettau from Babol forest sites in north of Iran.
- Gonzalez-Gallego, J.; Sanchez-Campos, S. & Tunon, M. J. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutr Hosp*, 22(3), 287-293.
- Goudable, J. & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
- Griel, A. E. & Kris-Etherton, P. M. (2006). Tree nuts and the lipid profile: a review of clinical studies. *British Journal of Nutrition*, 96(S2), S68-S78.
- Hagerman, A. E.; Riedl, K. M.; Jones, G. A.; Sovik, K. N.; Ritchard, N. T.; Hartzfeld, P. W. & Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(5), 1887-1892.
- Haleng, J.; Pincemail, J.; Defraigne, J.-O.; Charlier, C. & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-638.
- Harbone, J. (1973). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 3rd Charpman and Hall: London.
- Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R. & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Herzi, N. (2013). *Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO2-supercritique et des techniques conventionnelles*. (Doctorat de l'Université de Toulouse), INPT. 185p.
- Ju, E. M.; Lee, S. E.; Hwang, H. J. & Kim, J. H. (2004). Antioxidant and anticancer activity of extract from *Betula platyphylla* var. *japonica*. *Life sciences*, 74(8), 1013-1026.
- Khelil, A. & Kellal, A. (1980). Possibilités de culture et délimitation des zones à vocation pistachier en Algérie. *Fruits*.

- Kocsy, G.; Tari, I.; Vanková, R.; Zechmann, B.; Gulyás, Z.; Poór, P. & Galiba, G. (2013). Redox control of plant growth and development. *Plant Science*, 211, 77-91.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
- Kordali, S.; Cakir, A.; Zengin, H. & Duru, M. (2003). Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74(1-2), 164-167.
- Lacolley, P.; Babuty, D.; Boulanger, C.; Ghaleh, B.; Loirand, G.; Pinet, F. & Samuel, J. (2008). *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux* (1 ed.): JOHN LIBBEY EUROTEXT, 664p.
- Lamina, S.; Ezema, C.; Theresa, A. & Anthonia, E. (2013). Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. *Oxid Antioxid Med Sci*, 2(2), 83-91.
- Lee, K. W.; Kim, Y. J.; Lee, H. J. & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(25), 7292-7295.
- Lehucher-Michel, M.; Lesgards, J.; Delubac, O.; Stocker, P.; Durand, P. & Prost, M. (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse medicale (Paris, France: 1983)*, 30(21), 1076-1081.
- Lepoivre, P. (2003). *Phytopathologie: Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte*: De Boeck Supérieur, 432p.
- Lewin, G.; Magin, D.; Ismailov, D. Y. & Popov, I. (2000). Photochemiluminescence as a tool to determine the antioxidant activity in biological systems. Mathematic modeling. *Voprosy meditsinskoi khimii*, 46(4), 419-426.
- Lhuillier, A. (2007). *Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: Agauria salicifolia Hook. f ex Oliver, Agauria polyphylla Baker (Ericaceae), Tambourissa trichophylla Baker (Monimiaceae) et Embelia concinna Baker (Myrsinaceae)*. (Doctorat), Institut National Polytechnique de Toulouse. 214p.
- Li, C.; Oldham, C. D. & May, S. W. N. (1994). N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochemistry Journal*, 300, 31-36.
- Lindau-Shepard, B. A. & Shaffer, J. B. (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SV-B2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(6), 581-588.
- Mabry, T.; Markham, K. & Thomas, M. (1970). *The systematic identification of flavonoids*. 1970. Paper presented at the Library of Congress Catalog Card.
- Macheix, J. J.; Fleuriet, A. & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique* (P. p. e. u. romandes Ed. 1^{er} ed.)p.
- Mahmoudi, S.; Khali, M. & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*(9), 35.
- Mansour, C. (2011). *Contribution à l'étude de la répartition du pistachier de l'atlas (Pistacia atlantica Desf.) dans la wilaya de Naâma-cas de Gaaloul*. (Ingénieur D'état en foresterie), Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 115p.

- Matsuo, M.; Sasaki, N.; Saga, K. & Kaneko, T. (2005). Cytotoxicity of flavonoids toward cultured normal human cells. *Biological and pharmaceutical bulletin*, 28(2), 253-259.
- Médart, J. (2009). *Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative*: De Boeck Supérieur, 314p.
- Mehenni, R. & Rahmouni, M. (2017). *Propriétés antioxydantes d'extraits d'une plante médicinale: Globularia alypum. Application pharmaceutique : solution hydro alcoolique*. (Master Génie des Procédés), l'Université A. MIRA- Bejaia. 56p.
- Miller, N. J.; Rice-Evans, C.; Davies, M. J.; Gopinathan, V. & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84, 407-412.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J Sci Technol*, 26(2), 211-219.
- Monjaube, A. (1980). Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et forêt. *Revue Forestière Française*, 4, 357-363.
- Ohia, S. E.; Opere, C. A. & LeDay, A. M. (2005). Pharmacological consequences of oxidative stress in ocular tissues. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 579(1), 22-36.
- Ondua, M.; Njoya, E. M.; Abdalla, M. A. & McGaw, L. J. (2019). Anti-inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 234, 27-35.
- Padmavati, M.; Sakthivel, N.; Thara, K. V. & Reddy, A. R. (1997). Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. *Phytochemistry*, 46(3), 499-502.
- Peksel, A.; Arisan-Atac, I. & Yanardag, R. (2010). Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Journal of Food Biochemistry*, 34(3), 451-476.
- Quézel, P. & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Paris. Ed. CNRS*, 2.
- Quideau, S.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C. & Pouysegu, L. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rombi, M. & Robert, D. (2009). *120 plantes médicinales - Composition, mode d'action et intérêt thérapeutique ... de l'Ail à la Vigne rouge*: Ed Alpen, 528p.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- Sánchez-Moreno, C. & Larrauri, J. A. (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci Technol Int*, 4, 391-399.

- Shahidi, F. & Naczki, M. (2003). *Phenolics in food and nutraceuticals*: CRC press.
- Sifi, I. (2016). *Analyse chimique et activités biologiques des huiles essentielles des galles de Pistacia atlantica*. (Doctorat en Biologie), Université Kasdi Merbah - Ouargla. 130p.
- Skibola, C. F. & Smith, M. T. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free radical biology and medicine*, 29(3-4), 375-383.
- Slinkard, K. & Singleton, V. L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Soro, T. Y.; Traore, F. & Sakande, J. (2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné)(Olacaceae). *Comptes Rendus Biologies*, 332(4), 371-377.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.
- Sun, L.; Zhang, J.; Lu, X.; Zhang, L. & Zhang, Y. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food and chemical toxicology*, 49(10), 2689-2696.
- Tangney, C. C. & Rasmussen, H. E. (2013). Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Current atherosclerosis reports*, 15(5), 324.
- Thorne, R. F. & Reveal, J. L. (2007). An updated classification of the class Magnoliophyta ("Angiospermae"). *Bot. Rev.*, 73, 67-181.
- Trease, G. & Evans, W. (1989). *Pharmacognosy*. 11th edn. Brailliar Tiridel Can: Macmillian publishers.
- Turkmen, N.; Velioglu, Y. S.; Sari, F. & Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3), 484-496.
- Valko, M.; Rhodes, C.; Moncol, J.; Izakovic, M. & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- Vitoux, D.; Chappuis, P.; Arnaud, J.; Bost, M.; Accominotti, M. & Roussel, A. (1996). *Sélénium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires*. Paper presented at the Annales de Biologie Clinique.
- Wang, M.; Li, J.; Rangarajan, M.; Shao, Y.; La Voie, E. J.; Huang, T. C. & Ho, C. T. (1998). Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(4869-4873).
- Waterhouse, A. L. & Lamuela-Raventós, R. M. (1994). The occurrence of piceid, a stilbene glucoside, in grape berries. *Phytochemistry*, 37(2), 571-573.
- Wayner, D. D. M.; Burton, G. W.; Ingold, K. U. & Locke, S. (1985). Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS letters*(187), 33-37.
- Winston, G. W.; Regoli, F.; Dugas, A. J.; Fong, J. H. & Blanchard, K. A. (1998). A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radic Biol Med*, 24, 480-493.

- Wiseman, H. & Halliwell, B. (1996). Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal*, 313(Pt 1), 17.
- Yaaqobi, A.; El Hafid, L. & Haloui, B. (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc. *Biomatec Echo*, 3(6), 39-49.
- Yang, X.-m.; Yu, W.; Ou, Z.-p.; Liu, W.-m. & Ji, X.-l. (2009). Antioxidant and immunity activity of water extract and crude polysaccharide from *Ficus carica* L. fruit. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(2), 167-173.
- Zerargui, F. (2015). *Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives*. (Doctorat en Sciences Biologique), Université Ferhat Abbas Sétif 1. 169p.
- Ziane, N. (2014). *Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des extraits de *Pistacia atlantica* Desf de la réserve nationale d'El-Mergueb (M'sila) -Algérie*. (Magister en Biologie et Physiologie Végétale), Université Ferhat Abbas Sétif 1. 79p.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضادة للأكسدة لبعض المركبات الأيضية الثانوية المستخلصة من عصف الفستق الأطلسي لشجرة البطم من خلال قدرتها على تثبيط الجذور الحرة PDDH و ABTS والقدرة على إرجاع الحديد عن طريق فحص FRAP. تم تجزئة المستخلص إلى ست أجزاء حيث أعطت النتائج التالية: أن جزء الكوروفورم أعطت مردود عالي مقارنة بالقطع الأخرى حيث تصل إلى 3.78%، تراوحت كمية المركبات الفينولية 16,42 إلى 655,49 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك وقد تم تسجيل أكبر مردود للقطعة بيوتانول وخلات الإيثيل حيث وصلت إلى 655,49 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك و 566,07 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك على الترتيب. بالنسبة للفلافونويدات فتراوح تركيزها ما بين 0,74 إلى 381,30 مغ/غ مكافئ لكروستينين وقد تم تسجيل أكبر مردود في قطعة بيوتانول بـ 381,30 مغ/غ المكافئ للكروستينين. بينت نتائج الفعالية المضادة للأكسدة DPPH و ABTS و FRAP المعبر عنها بـ EC50 و TEAC على الترتيب حيث أن النشاط المرتفع قد سجل بالنسبة لقطعة خلات الإيثيل حيث وصلت EC50 إلى 02,46 ميكروغ/مل، أما بالنسبة لفحص FRAP فإن قيمة TEAC كانت مرتفعة جدا في قطعة الكوروفورم بـ 2216,20 مغ/غ مكافئ للبقايا الجافة من المستخلص. أما قطعة 30% ماء ميثانول سجلت أعلى نشاط للأكسدة و أعطت قيمة EC50 4,22 ميكروغ/غ (ABTS).

الكلمات المفتاحية: *Pistacia atlantica*، النشاط المضاد للأكسدة (DPPH, ABTS, FRAP)، الفينول، الفلافونويد

Résumé

Dans le cadre des recherches sur les antioxydants naturels, il s'est révélé nécessaire de valoriser certains composés de métabolites secondaires des galles de *Pistacia atlantica* par l'évaluation de leurs capacités de piégeage du radical DPPH et de réduire le fer par le test FRAP et la capacité de piégeage du radical cationique ABTS. Les galles ont été soumises à une extraction et fractionnement pour avoir les différents extraits : fraction d'acétate d'éthyle (F1), fraction butanol (F2), fraction d'eau (F3), fraction hexane (F4), fraction 35% eau/MeOH (F5), fraction chloroforme (6). Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus élevé ont été signalés pour la fraction chloroforme (3,78%). Les teneurs en polyphénols totaux varient entre 16,42 à 655,49 mg AG/g résidu sec. Les teneurs les plus élevées (655,49 mg AG/g) (566,07 mg AG/g) ont été trouvées avec la fraction butanol et la fraction d'Ac-O-Et. Les concentrations des flavonoïdes varient entre 0,74 et 381,30 mg QR/g de résidu sec, la teneur la plus élevée ont été trouvées avec la fraction butanol 381,30 mg QR/g. D'après le test DPPH et ABTS et FRAP, l'évaluation de l'activité antioxydante des fractions exprimée par l'EC50 et l'indice TEAC respectivement, montre une activité plus élevée pour la fraction d'Ac-O-Et de valeur d'EC50 (DPPH) est 02,46 µg/ml, le test FRAP révèle de valeurs de TEAC hautement supérieur pour la fraction chloroforme (2216,20 mg TR/g résidu sec), La fraction MeOH 30% eau, montre une activité antioxydante plus élevée (EC50 (ABTS) = 04,22 µg/ml).

Mots clés : *Pistacia atlantica*, Antioxydant (Test DPPH, Test ABTS, Test FRAP), Polyphénols, Flavonoïdes.

Abstract

In the context of research on natural antioxidants, it has been found necessary to valorize a secondary metabolites of *Pistacia atlantica* galls by evaluating their DPPH and ABTS scavenging capacities and to reduce iron by the FRAP test. The galls were subjected to extraction and fractionation to obtain the different extracts: ethyl acetate fraction (F1), butanol fraction (F2), water fraction (F3), hexane fraction (F4), fraction 35% water / MeOH (F5), chloroform fraction (6). The results obtained show that the most student yields were reported for the chloroform fraction (3.78%). The total polyphenol contents vary between 16.42 to 655.49 mg AG/g dry residue. The highest levels (655.49 mg AG/g) (566.07 mg AG/g) were found with the butanol fraction and the Ac-O-Et fraction. The flavonoid concentrations vary between 0.74 and 381.30 mg QR/g dry residue, the highest content was found with the butanol fraction 381.30 mg QR/g. According to the DPPH and ABTS and FRAP tests, the evaluation of the antioxidant activity of the fractions expressed by the EC50 and the TEAC index respectively, shows most important activity for the valuable Ac-O-Et fraction (EC50 (DPPH) is 02.46 µg/ml); the FRAP test reveals higher TEAC values for chloroform fraction (2216.20 mg TR/g dry residue). The MeOH-30% water fraction, shows a more antioxidant activity (EC50 (ABTS) = 04.22 µg/ml).

Keywords: *Pistacia atlantica*, Antioxidant (DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay), polyphenols, flavonoid.