

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث 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 Des Produits Naturels

THEME

**L'activité antioxydante de la fraction insaponifiable des huiles
des fruits de Pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica Desf.*)**

Présenté par :

Mr. AOUIFFAT Yacine

Melle. BENLAHBIB Zineb

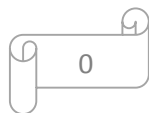
Devant le jury :

Président(e) : Mr. YOUSFI Mohammed

Rapporteur : Mr. GUENANE Hamide

Examineur : Mr. BOUBRIMA Youssef

Soutenu publiquement le :04/06/2016.



Résumé :

Pistacia atlantica, espèce très répandue dans les régions arides et semi-arides, constitue une source inépuisable de molécules douées d'activités biologiques.

Ce modeste travail s'est intéressé à l'étude des extraits huileux et leurs fractions insaponifiables issus des fruits, de degré de maturité différents, cueillis à travers plusieurs régions de la wilaya de Laghouat. Ainsi, le rendement d'extraction huileuse et celui de la fraction insaponifiable sont déterminés. Le dosage des stérols et des tocophérols totaux ainsi que l'évaluation du pouvoir antioxydant par le DPPH dans l'huile et dans la matière insaponifiable sont accomplis. Une analyse de données par ACP pour des paramètres relatifs à l'huile est également réalisée.

Les résultats obtenus ont montré une différence importante entre l'huile des fruits matures et celle des fruits immatures. Cette dernière, en dépit d'un faible rendement, est riche en stérols et en tocophérols avec une activité antioxydante très importante. Le taux de sa fraction insaponifiable est le plus élevé. Toutefois, la teneur en stérols et en tocophérols au niveau de l'insaponifiable ne semble varier que légèrement entre tous les échantillons de la série quel que soit la couleur du fruit. Par contre et à l'opposé des huiles, son pouvoir anti radicalaire est plus marqué pour les drupes matures. L'analyse par ACP indique que les fruits matures et ceux immatures constituent deux groupes distincts selon des paramètres testés pour les huiles brutes. L'arbre d'El-Ghaïcha poussant à 1380 m d'altitude se distingue par des niveaux relativement bas de stérols et de tocophérols avec le pouvoir antioxydant le plus faible de la série. L'ensemble de ces résultats contribuerait à mieux comprendre la variation des paramètres testés en fonction du degré de maturation des fruits et l'emplacement géographique de l'arbre.

Mots clés : *Pistacia atlantica*, Fruit, Huile, Insaponifiable, Stérol, Tocophérol, Antioxydante, Stade de maturation.

Summary :

Pistacia atlantica, species widespread in arid and semi-arid regions, is an inexhaustible source of molecules with biological activity.

This modest work has focused on the study of oil extracts and unsaponifiable fractions from fruit, different degree of maturity, select through different regions of the wilaya of Laghouat. Thus, the efficiency of oil extraction and that of the unsaponifiable matter are determined. The dosage of total sterols, tocopherols and the valuation of the antioxidant activity by DPPH in oil and the unsaponifiable matter are made. By ACP data analysis parameters for oil also is carried out.

The results showed a significant difference between the oil and the fruits mature and fruit immature. The latter, despite a low yield, is rich in sterols and tocopherols with an important antioxidant activity. The rate of its unsaponifiable fraction is the highest. However, the content of sterols and tocopherols at the unsaponifiable appears to vary only slightly between all samples of the series, whatever the color of the fruit. By against and away from oils, anti-radical power is more marked for mature drupes. The ACP analysis indicates that the mature fruit and those immature two distinct groups according to parameters tested for crude oils. The tree of El Ghaïcha pushing to 1380 m above sea level is characterized by relatively low levels of sterols and tocopherols with power feeblest of the series antioxidant. All these results contribute to better understanding of the variation of parameters tested by the degree of ripening fruit and location of the tree.

Key words : *Pistacia Atlantica*, oil, Unsaponifiable fruits, Stérols, Tocophérols, Antioxydant, Maturation stage

ملخص:

الفسق الأطلسي من الأنواع الشائعة جدا في المناطق الجافة وشبه الجافة، وهو مصدر لا ينضب من الجزيئات ذات النشاط البيولوجي.

هذا العمل المتواضع ركز على دراسة الزيوت وجزئها الغير متصبن المستخلصة من ثمار الفستق الأطلسي ، ذات درجة مختلفة من النضج، أخذت من عدة مناطق من ولاية الأغواط. وبالتالي، يتم تحديد مردود استخراج الزيت وكذلك مردود المادة الغير متصينة وتحديد كميات السترول والتوكوفيرول الاجمالي واختبار النشاط المضاد للأكسدة بواسطة DPPH لكل من الزيت وجزئه الغير متصين. نقوم كذلك بتحليل نتائج الزيوت بواسطة ACP.

النتائج المتحصل عليها تبين وجود فرق كبير في زيوت الثمار الناضجة والغير الناضجة. هذا الأخير، على الرغم من المردود المنخفض له، إلا انه غني بالسترول والتوكوفيرول مع نشاط مضاد للأكسدة فعال. نسبة الجزء الغير متصين هو الأعلى. ومع ذلك، فإن مضمون السترول والتوكوفيرول فيها يختلف من عينة لأخرى مهما كان لون ثمرها. وعلى عكس نتائج الزيت، فقوته المضادة للأكسدة في الأكثر وضوحا للثمار الناضجة. التحليل بواسطة ACP يبين أن الثمار الناضجة والغير ناضجة تكون مجموعتين متميزتين. وتتميز شجرة الغيشة النامية ف على علو 1380 متر فوق مستوى سطح البحر بمقدار منخفض نسبيا من السترول والتوكوفيرول بالإضافة الى أنها الأقل فاعلية ضد الاكسدة في السلسلة. تساهم كل هذه النتائج إلى فهم أفضل لتباين معطيات النتائج بدلالة درجة نضج الثمار والتموضع الجغرافي للشجرة.

الكلمات المفتاحية : *Pistacia atlantica*, ثمار, زيت, الغير المتصين, سترول, توكوفيرول, مضاد للأكسدة, مرحلة النضج.

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A la pensée de mon père (que Dieu ait son âme), pour leur amour et leurs souvenirs.

A la mémoire de mes grands parents.

A ma très chère mère.

A mes proches et toute ma famille.

A mes amis et tous les gens qui m'aiment.

A tous ceux qui sont proches de mon cœur et dont je n'ai pas cité le nom.

Au bonheur des plus chers.

Yacine

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à Allah, qui m'a conduit et protégé tout au long des
mystérieux chemins de ma vie.*

A mes chers parents pour leurs soutiens et leurs amours.

A mes frères RACHID, LAMINE et ALLAL.

A mes sœurs FATI et HANNA.

A mes chers CHOMISSA, AICHA, BACHIR, MARWA et REGUIA.

J'adresse un clin d'œil à mon neveu HABIB pour tous les moments de joie.

*A tous les membres de ma famille et mes amis, petits et grands, Veuillez trouver
dans cet aboutissement le témoignage de mon affection.*

A mon binôme YACINE.

A tous ceux qui me sont chères.

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

Zineb

Remerciements

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de recherche des Sciences Fondamentales –Université Amar TELIDJI-Laghouat.

Nous remercions avant tout **ALLAH** le Tout puissant, de nous avoir guidées durant toutes les années d'études et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Nous remercions tout particulièrement **Mr. Guenane Hamide**, Enseignant- chercheur à l'Université Amar TELIDJI de Laghouat, pour avoir encadré durant notre travail en étant toujours disponible et encourageant, pour leur aide et ses conseils.

Que **Mr. Yousfi M.** Professeur à l'Université de Laghouat et le responsable de laboratoire de recherche, trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance et nos sincères remerciements, pour sa bonne humeur, son aide et ses encouragements.

Nous adressons encore nos remerciements à tous les doctorants et l'ingénieure du laboratoire de recherche qui contribuent par leur bonne humeur à créer un cadre de travail agréable, surtout **Bentireche Fatna, Fayza.**

Nous souhaitons aussi saluer et remercier nos collègues étudiants(es), avec qui nous avons eu le plaisir d'étudier durant ces années.

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe administrative et enseignante du département de Biologie de l'Université Amar TELIDJI.

Un grand merci à nos parents et à toutes nos familles pour leurs amours et leurs soutiens. Pour l'aide qu'ils nous ont apportée.

Enfin, merci à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin durant ces années d'études.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Structures des tocophérols et tocotrienol (Zielinska et al., 2014).	12
Tableau 2 : Exemples des ERO (Lecolly, 2007).	17
Tableau 3 : La description des échantillons.....	25
Tableau 4 : Les rendements est les couleurs d'huile des fruits de pistachier de l'Atlas	35
Tableau 5 : Teneur en stérols totaux dans les huiles de <i>Pistacia atlantica</i>	38
Tableau 6 : Teneur en tocophérol totaux dans les huiles de <i>Pistacia atlantica</i>	40
Tableau 7 : Les valeurs de l'EC50 calculé pour les différents extraits lipidiques des fruits de maturité différente lors de test DPPH	42
Tableau 8 : Matrice de corrélation de Pearson	45
Tableau 9 : Teneures en stérols et tocophérols totaux dans les fractions insaponifiables d'huile de fruit de <i>Pistacia atlantica</i>	50
Tableau 10 : Pourcentages des stérols et tocophérols dans les fractions insaponifiables d'huile de fruit de <i>Pistacia atlantica</i>	51

Liste des figures

Figure 1 : <i>Pistacia atlantica</i> est associé avec <i>Ziziphus lotus</i> (photo original, 2016)....	4
Figure 2 : Principaux constituants des huiles végétales.	7
Figure 3 : Formule semi-développée des triglycérides (Richard et al., 2010)	9
Figure 4 : Structure chimique de base des tocotrienols (T3) (Zielinska et al., 2014)	11
Figure 5 : Structure chimique de base des tocopherols (T) (Zielinska et al., 2014)	11
Figure 6 : les principaux stérols des huiles végétaux (Voet ; G.Voet, 1998)	12
Figure 7 : Structure générale d'un squalène (Richard et al., 2010)	13
Figure 8 : Structure chimique du β -carotène (Richard et al., 2010)	14
Figure 9 : Structure des trois molécules de chlorophylle (Richard et al., 2010)	14
Figure 10 : La réduction d'oxygène en eau (Daum-Badouard, 2006)	16
Figure 11 : La glutathion peroxydase (Borg etReeber, 2008)	19
Figure 12 : le stress oxydant : déficit en antioxydants, surproduction de radicaux libres (boissiere, 2006)	21
Figure 13 : Différentes catégories de lésions de l'ADN (Daum-Badouard, 2006)	24
Figure 14 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneux, 2004) ...	30
Figure 15 : Schéma d'extraction des fractions insaponifiables.	32
Figure 16 : Variation du rendement d'extraction des huiles à partir des fruits du pistachier de l'atlas en fonction de stade de maturité.....	34
Figure17 : Droite d'étalonnage du cholestérol.	37
Figure18 : Droite d'étalonnage de la vitamine E	39

Figure 19 : Graphe représentant l'activité antioxydant de la vitamine E par le test du DPPH.....	42
Figure 20 : Graphe représentant l'activité antioxydant des huiles de l'arbre 2 récolté en juillet 2015, par le test du DPPH.....	43
Figure 21 : Régression linéaire de la corrélation entre le taux de tocophérols et l'EC50 des extraits huileux.....	44
Figure 22 : Représentation graphique de la distribution des échantillons en fonction des 4 variables différentes.....	46
Figure 23 : Taux de la fraction insaponifiable des huiles de fruits de <i>Pistacia atlantica</i>	49
Figure 24 : graphe représentant l'activité antioxydant des fractions insaponifiables d'huile de l'arbre 2D (même cueillettes).....	52
Figure 25 : Graphe représentant l'activité antioxydant des fractions insaponifiables d'huile de l'arbre 3RN même couleur issus de deux cueillettes différentes.....	52
Figure 26 : Graphe représentant l'activité antioxydant des fractions insaponifiables d'huile de l'arbre 4V (même cueillettes)	53
Figure 27 : EC ₅₀ calculée pour les différentes fractions insaponifiables des fruits de maturité différente.....	53
Figure 28 : Régression linéaire de la corrélation entre le taux de tocophérols et l'EC50 des fractions insaponifiables.....	54

Liste des abréviations

(J) : Jaune.

(JR) : jaune rouge

(N) : noire

(RF) : rouge foncée

(RV) : Rouge vert

(V) : vert.

Abs: absorbance.

AG : Acide gras.

AGI : Acide gras insaturé.

AGMI : Acide gras mono insaturé.

AGPI : Acide gras polyinsaturé.

AGS : Acide gras saturé.

C : la concentration.

C° : Degré Celsius.

C14 :0 : Acide myristique.

C16 :1 : Acide palmitoléique.

C16 :0 : Acide palmitique.

C18 :0 : Acide stéarique.

C18 :3 : Acide linoléique.

C18 :1 : Acide oléique.

C18 :2 : Acide linoléique.

CAT : Catalase.

Chl : cholestérols.

Cu : Cuivre.

DPPH : diphenyl-2-picrylhydrazyl.

EC₅₀ : Efficient concentration.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

g : gramme.

GPH : Glutathion réduit.

GPX : Glutathion peroxydase.

h : heure.
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.
H₂SO₄: acide sulfurique.
HCl : acide chlorhydrique.
HO* : Radical Hydroxyl.
MeOH : méthanol.
mg : milligramme.
min : minute.
ml : millilitre.
N : normalité.
Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.
nm : nanometre.
O₂ : oxygène.
O₂' : Oxygène singulet.
O₂⁻ : Superoxyde
OH : Hydroxyle
ONOO* : Peroxynitrite
SOD : Super oxyde dismutase.
TG : Triglycéride.
UV : Ultraviolet.
V : Volume.
Vit E : vitamine E.

Sommaire

	Page
Résumé	
Dédicace	
Remerciement	
Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations.....	IV
Introduction générale.....	1
Première partie : Rappel bibliographique	
Chapitre 1 : Généralités sur le pistachier de l'Atlas.....	2
I-1-1 présentation du Bétoum	2
I-1-2 taxonomie et description	2
I-1-3 Répartition du pistachier en Algérie	3
I-1-4 Utilisation de l'arbre.....	4
I-1-4-1 Utilisation Médicinales	4
I-1-4-2 Utilisation comestible	4
I-1-4-3 Utilisation locales	5
Chapitre 2 : Les huiles végétales	6
I-2-1 Les fractions saponifiables	8
I-2-1-1 les acides gras.....	8
I-2-1-1-1 les acides gras saturés.....	8
I-2-1-1-2 les acides gras insaturés.....	8
I-2-1-2 les glycérides	9
I-2-1-2 -1 les triglycérides	9
I-2-1-2 -2 les glycérides partiels	9

I-2-2 les fractions insaponifiables	10
I-2-2-1 Les Tocophérols.....	10
I- 2-2-2 Les stérols.....	12
I- 2-2-3 Les hydrocarbures.....	13
I- 2-2-4 Les pigments colorants.....	13
I- 2-2-4-1 Les caroténoïdes.....	13
I- 2-2-4-2 Les chlorophylles.....	14
I-2-2-5 Les alcools triterpéniques.....	14
Chapitre 3 : L'oxydation et L'anti-oxydations.....	16
I-3-1 L'oxydation	16
I-3-1-1 Les espèces réactives d'oxygène (ERO).....	16
I-3-1-1-1 La formation des ERO.....	16
I-3-1-1-2 La nature des radicaux libres.....	17
I-3-1-1-3 Origine des espèces réactives d'oxygène (ERO).....	18
I-3-2 Les antioxydants	18
I-3-2-1 Prévention à plein temps	18
I-3-2-2 Détoxification active suite à une attaque oxydante.....	19
I-3-2-2-1 Super oxyde dismutase (SOD).....	19
I-3-2-2-2 Catalase.....	19
I-3-2-2-3 Glutathion peroxydase.....	20
I-3-2-3 Détoxification passive.....	20
I-3-2-3-1 Vitamine E (tocophérol).....	20
I-3-2-3-2 Vitamine C (acide ascorbique).....	20
I-3-2-3-3 Caroténoïde.....	20
I-3-2-3-4 Composés phénoliques	20
I-3-3 Le stress oxydatif.....	21
I-3-3-1 La peroxydation lipidique	21
I-3-3-2 L'oxydation des protéines	22
I-3-3-3 L'oxydation des acides nucléiques.....	23

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et méthodes.....	25
--	-----------

II-1-1 Matériel.....	25
II-1-1-1 Matériel végétal.....	25
II-1-1-1-1 La récolte des échantillons	25
II-1-1-2 Produits chimiques.....	27
II-1-1-3 Matériel et équipements.....	27
II-1-2 Méthodes.....	28
II-1-2-1 Tri et Extraction	28
II-1-2-2 Extraction par solvant (soxhlet).....	28
II-1-2-2-1 Détermination de la teneur en huile.....	28
II-1-2-3 Analyse quantitative des huiles	28
II-1-2-3-1 Dosage des sterols	28
II-1-2-3-2 Dosage des Tocophérols	29
II-1-2-3-3 test de piégeage d'un radical libre le DPPH.....	30
II-1-2-4 Etude de la feaction insaponifiable.....	31
II-1-2-4-1 Extraction et analyse de la fraction insaponifiable.....	31
II-1-2-5 Analyse quantitative des fractions insaponifiables	33
II-1-3 Analyse statistique.....	33
Chapitre 2 : Résultats et discussion.....	34
II-2 Résultats et discussion.....	34
II-2-1 Teneur en huiles	34
II-2-2 Taux des stérols totaux.....	37
II-2-3 Taux des tocophérols totaux	39
II-2-4 l'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles des fruits de Pistachier de l'atlas	41
II-2-4-1 Test de piégeage d'un radical libre le DPPH	41
II-2-4-2 Relation entre la teneur en tocophérols et le pouvoir anti-radicalaire ...	
II-2-5 Détermination des insaponifiables	44
II-2-6 Teneur en insaponifiables	45
II-2-6-1 Détermination des tocophérols	49
II-2-6-2 Détermination des stérols	49
II-2-6-3 Evaluation du pouvoir antioxydant des fractions insaponifiables d'huile des fruits de pistachier de l'atlas	51

Conclusion générale.....	55
Références bibliographiques.....	56

Introduction

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouvelles molécules. Elles sont considérées comme source pour la découverte de substances actives et nécessaires à la mise au point de futures utilisations.

L'Algérie compte parmi les pays d'Afrique qui recèle une flore très diversifiée. En effet, selon Quezel et Santa (1963), la flore algérienne est composée d'environ 3139 espèces différentes.

Une des espèces végétales les plus importantes dans l'Algérie est le Bétoum ou le Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*). Elle est très répandue notamment dans les régions semi-arides et arides (Belhadj, 2001). L'arbre a un intérêt économique et écologique exceptionnel. Il est connu par ses diverses utilisations. Ses fruits sont riches en huile qui est utilisée dans des domaines variés (alimentaire, cosmétique et pharmaceutique). **(Manjouze, 1980 ; Belhadj, 2001)**

De nombreux travaux expérimentaux ont mis l'accent sur la composition de l'huile de ses fruits ainsi que son activité antioxydante **(Yousfi et al., 2003 2005 ; Benhasseini et al., 2007 ; Guenane et al., 2015)**.

L'étude de l'huile extraite des fruits à différents degrés de maturation a révélé une variation de sa composition et son activité antioxydante **(Bentireche et Bellakhdar, 2013 ; Adila et Balboul, 2014 ; Guenane et al., 2015)**.

Notre travail se veut une continuité logique de ce qui a été entrepris précédemment. Il s'assigne l'objectif d'étudier certains paramètres tels que les stérols, les tocophérols ainsi que l'activité antioxydante par le test de DPPH dans les huiles de fruits de couleurs différentes et dans leurs fractions insaponifiables correspondantes. Une analyse des données est menée afin d'établir d'éventuels groupes distinctifs sur la base des paramètres étudiés.

Dans cette étude, nous avons travaillé pour la première fois sur des fruits cueillis en juillet et sur des fruits d'un arbre poussant dans une région montagneuse (El-Ghaicha à 1380 m d'altitude).

Les résultats obtenus pourraient apporter un surcroît de connaissance sur la variation des paramètres lipidiques des drupes de cette plante en vue d'une mise en valeur.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1
Généralités sur le pistachier de
l'Atlas

I-1-1 Présentation du *Bétoum*

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) encore appelé bétoum en arabe, iggh en berbère a été décrit pour la première fois par Desfontaine en 1789, c'est une essence très ancienne, elle appartient à la section *Butemella* (Monjauze, 1980).

Les espèces les plus importantes dans le monde du genre *Pistacia* sont :

- *Pistacia atlantica*
- *Pistacia chinensis*
- *Pistacia lentiscus* L. — pistachier lentisque
- *Pistacia terebinthus* L. — pistachier térébinthe
- *Pistacia vera* L. — pistachier vrai (qui donne la pistache)

Le pistachier de l'atlas est subdivisé en quatre sous espèces : *mutica*, *kurdica*, *kabulcia* et *atlantica*, cette dernière est la seule présente en Algérie. (Monjauze, 1980 ; Yaaqobi et al., 2009).

I-1-2 Taxonomie et description

Le pistachier de l'Atlas (ou bétoum) est un bel arbre à odeur simplement résineuse de la famille des Anacardiaceae. C'est un arbre puissant il peut atteindre 25 mètres de hauteur totale et un diamètre de 1 mètre. Les feuilles sont caduques, composées, imparipennées 3 à 5 folioles ovales acuminées.

Les Fruits sont appelés *El-khodiri* par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé à maturité. La floraison a lieu en été en panicule de petites fleurs apétales (1 à 3) et 1 à 5 sépales. (Harfouch et al., 2005 ; Belhadj, 2001).

Pistacia atlantica Desf. est classé selon « *International taxonomic information system* » de la façon suivante :

Règne : Végétal.

Sous-règne : Viridiaeplanate.

Embranchement : Phanérogames.

Sous embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Sapindales.

Famille : Anacardiacees

Espèce : *Pistacia atlantica* Desf. (In Harfouch *et al.*, 2005).

I-1-3 Répartition du pistachier en Algérie

Il existe à l'état disséminé dans toute l'Algérie : régions semi-arides et arides, dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussera, Messaad), Laghouat (partie sud) et Ghardaïa (dans l'oued M'Zab) (Belhadj, 2001 ; Monjauze, 1980).

Une enquête préliminaire a montré que plusieurs espèces endémiques se trouvent réparties comme suit sur le territoire :

- *Pistacia lentiscus*, dans le bassin de la Soumam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège.
- *Pistacia terebinthus*, dans le bassin de la Soumam, le versant Nord du Djurdjura et dans le bassin d'El Kseur, en association avec le pin d'Alep et le chêne vert.
- *Pistacia atlantica*, dans les hauts plateaux et l'Atlas saharien en association avec le *Ziziphus lotus* (Belhadj, 2001).

En général, *Pistacia atlantica* est trouvée en association avec *Ziziphus lotus* : (cedra en arab local) qui protège ces nouveaux plants contre les animaux et les vents violents (**Belhadj, 2001**).



Figure 1 : *Pistacia atlantica* est associé avec *Ziziphus lotus* (photo originale, 2016).

I-1-4 Utilisation de l'arbre

Cet arbre a plusieurs utilisations :

I-1-4-1 Utilisation médicinales

Des partie de l'arbre sont largement utilisées comme antiseptique, antifongique, anti diarrhée et aussi dans la tannerie des peaux. L'écorce produit une résine mastic utilisée en industrie agro-alimentaire. La résine est également utilisée dans la production de colle. (**Yousfi et al., 2003**).

I-1-4-2 Utilisation comestible

Les fruits donnent une excellente huile de table avec un rendement considérable de 55% (Maamri, 2008).

I-1-4-2 Utilisation locales

Les fruits de *Pistacia atlantica* (*El-khodiri*) sont riches en huile dense très énergétique. L'huile est souvent mélangée aux dattes écrasées et peut être consommée à toute heure de la journée avec du petit lait. Elle a un goût très proche de celui du beurre et elle est très appréciée dans la région. Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes (Belhadj, 2001)

Une huile végétale est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires, non volatiles : on parle alors «d'huile fixe ou graisse ».

Les triglycérides, triesters d'acides aliphatiques supérieurs ou acides gras, sont les constituants essentiels des huiles végétales. Ainsi d'autres constituants cellulaires liposolubles sont entraînés dans les huiles fixes. Ces constituants sont dits mineurs et sont toujours présents dans les corps gras bruts et raffinés. Parmi ces constituants on rencontre les stérols, les alcools gras, les pigments colorés, les tocophérols, les hydrocarbures (**Bereau, 2001**).

La composition de l'huile végétale change selon la variété, les conditions climatiques et l'origine géographique. Les composés peuvent être classés en deux grands groupes :

- Les substances **saponifiables** (de 96 à 98% de l'huile).
- Les substances **insaponifiables** (de 2 à 4% de l'huile).

La figure 2 montre les composants principaux de chaque fraction.

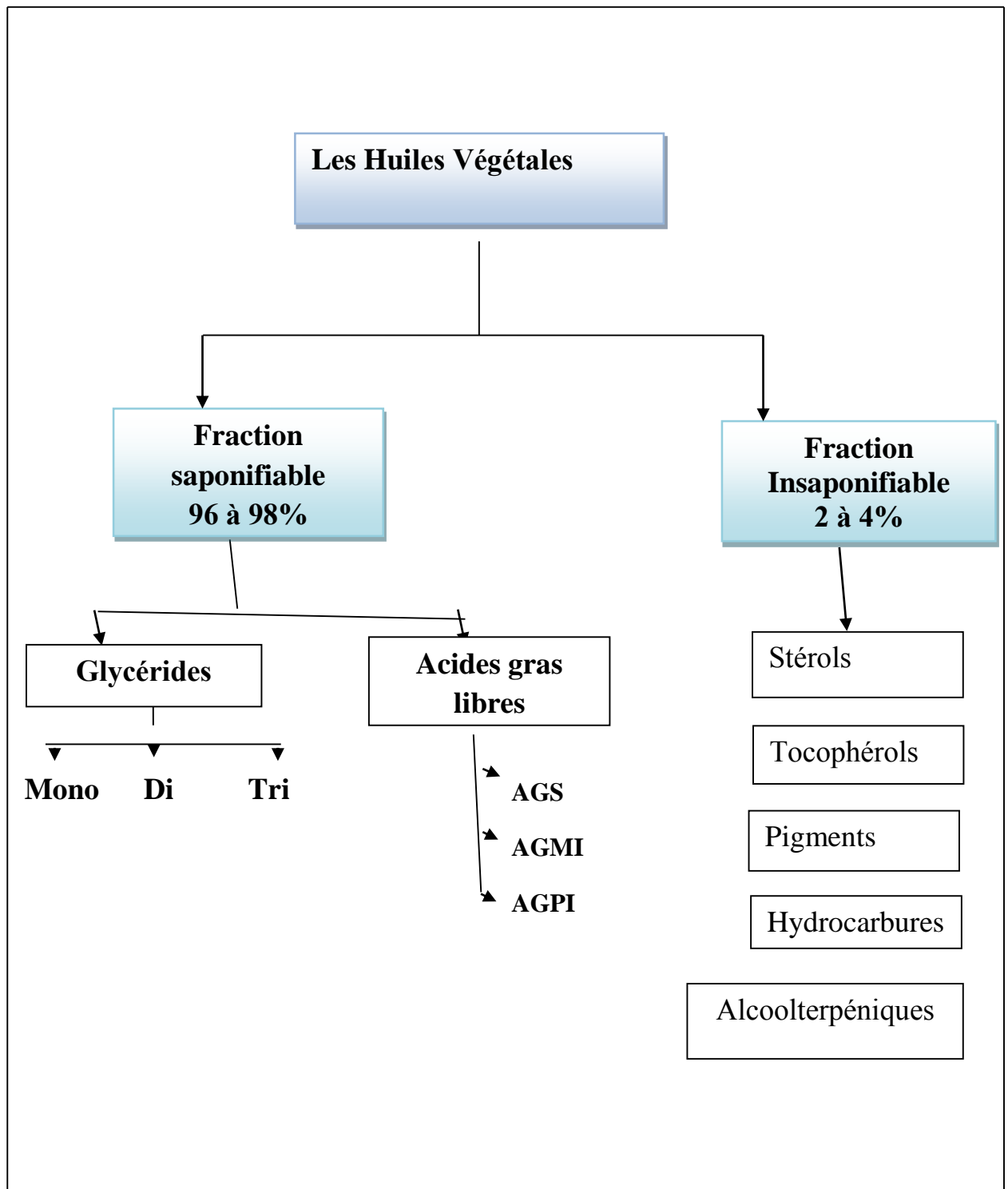


Figure 2 : Principaux constituants des huiles végétales.

I-2-1 Fraction saponifiable

Cette fraction est composée essentiellement de deux constituants : les acides gras et les glycérides

I-2-1-1 Les acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques avec des longues chaînes hydrocarbonées ils sont rarement à l'état libre dans la nature, et se trouvent essentiellement sous forme estérifiée comme constituants majeurs des différentes lipides. La plupart des acides gras naturels présentent les caractères communs suivants :

- chaîne linéaire avec un nombre pair de carbones
- saturés ou en partie insaturés avec un nombre de double liaisons maximal de 6 (**Voet et G.Voet, 1998**).

I-2-1-1-1 Les acides gras saturés (AGS)

Les acides gras saturés sont des molécules peuvent être construits à partir de l'acide acétique ($\text{CH}_3\text{-COOH}$) considéré comme première terme d'une série dans laquelle des $\text{-CH}_2\text{-}$ sont progressivement ajoutés entre les groupements terminaux $\text{CH}_3\text{-}$ et -COOH . Ils peuvent prendre des conformations variées en raison de leur liaison C-C (**Murray et al, 2013**).

Les principaux acides saturés dans les huiles végétales sont l'acide palmitique (C_{16}) et l'acide stéarique (C_{18}), accessoirement les acides myristiques (C_{14}) et lauriques (C_{12}) (**Kandji, 2001**).

I-2-1-1-2 Les Acides gras insaturés

Ils représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, possédant une ou plusieurs doubles liaisons. La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 carbones (**Voet et G.Voet, 1998**).

Les acides gras **mono-insaturés (AGMI)** sont relativement rares. Ce sont des monoacides aliphatiques dérivant des hydrocarbures mono-éthyléniques. L'existence d'une double liaison dans la chaîne hydrocarbonée donne lieu à deux types d'isomères : l'isomère cis et l'isomère trans (**Kandji, 2001**).

Les acides gras **polyinsaturés (AGPI)** sont beaucoup plus répandus. Ce sont des acides gras à 2, 3 ou 4 doubles liaisons tels que l'acide oléique C18 :1, l'acide linoléique C18 :2 et l'acide linoléique C18 :3, qui se trouvent dans les huiles végétales avec des proportions variables (**Murray *et al.*, 2013**).

I-2-1-2 Les glycérides

I-2-1-2 -1 Les triglycérides

Les graisses et les huiles que l'on trouve dans les plantes et les animaux sont essentiellement des **triglycérides** (appelés également **triacylglycérols** ou **lipides neutres**). Ces substances non polaires, insolubles dans l'eau sont des triesters d'acide gras et glycérol.

Selon l'identité des trois acides gras qui estérifient le glycérol, on obtient différents types de TAG :

- Les triglycérides simples (homogènes), où les fonctions alcools du glycérol sont estérifiées par des AG identiques.
- Les triglycérides mixtes (hétérogènes), où les fonctions alcools du glycérol sont estérifiées par deux ou trois AG différents (**Voet et G.Voet, 1998**).

Les triglycérides (TG) représentent 95 à 98 % des graisses alimentaires. Par simplification, la formule chimique d'un triglycéride peut être présentée comme celle indiquée dans la figure 3.

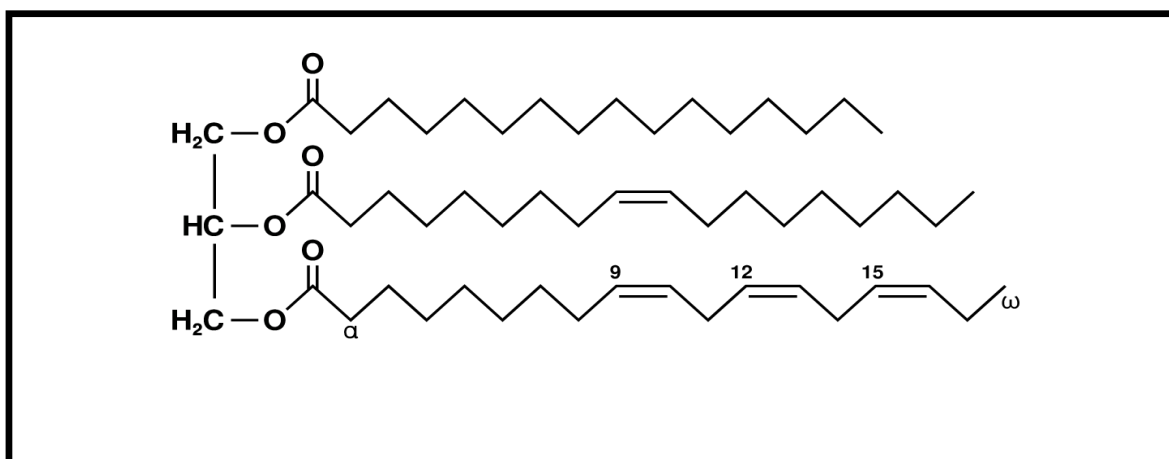


Figure 3 : Formule semi-développée des triglycérides (**Richard *et al.*, 2010**).

I-2-1-2-2 Glycérides partiels

L'acylation du glycérol par une ou deux chaînes grasses seulement conduit aux Glycérides partiels : monoglycéride et/ou diglycéride.

Les monoglycérides, résultant de l'estérification d'une molécule de glycérol par une seule molécule d'acides gras. L'estérification d'une molécule de glycérol par deux molécules d'un même acide gras entraîne la formation d'une diglycéride.

Les glycérides partielles ne sont pas des composants naturels des corps gras. Ils existent uniquement dans les corps gras ayant subi une hydrolyse partielle des triglycérides (**Murray *et al.*, 2013**).

I-2-2 Fraction insaponifiables

La fraction insaponifiable ou partie non glycéridique est par définition l'ensemble des constituants d'une huile ou d'une graisse qui, après action d'un hydroxyde basique (saponification), sont très peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques tels que l'éther, chloroforme, hexane, etc.

Elle comprend de nombreux constituants mineurs. Parmi ces constituants, on peut nommer les hydrocarbures aliphatiques, les stérols, les alcools terpéniques, les pigments (carotènes et chlorophylles) et les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E) (**Loemba et Silou, 2006**).

I-2-2-1 Tocophérols

Les tocophérols sont des composés minoritaires des lipides qui jouent un double rôle. Ils disposent d'un pouvoir vitaminique important et possèdent également des propriétés antioxydants.

I-2-2-1-1 Structure chimique

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, nom proposé pour la première fois en 1936 par Evans et collaborateurs. Ce nom provient du grec *tokos* pour progéniture et *pherein* pour porter. Cette famille comprend 4 substances (α -tocophérol, β -tocophérol, γ -

tocophérol et δ -tocophérol). Ces composés avec beaucoup de similitudes structurelles avec 4 autres molécules appartenant à la famille des tocotriénols : l' α -tocotriénol, le β -tocotriénol, le γ -tocotriénol et le δ tocotriénol (Zielinska *et al.*, 2014).

Sur le plan structural, les tocophérols sont des dérivés méthyliques du tocol (2-methyl-2-(4',8',12'trimethyl tridecyl)- chroman-6-ol).

La structure chimique des tocophérols se compose d'un cycle chromanol mono-, di-, ou tri-méthylé auquel se trouve rattachée une chaîne carbonée latérale (chaîne phytyle) saturée de 16 carbones, les tocophérols diffèrent entre eux seulement par le nombre et l'arrangement des groupements méthyles autour du cycle benzène du noyau chromanol.

La structure chimique des tocotriénols se compose également d'un cycle chromanol mono-, di- ou tri méthyle avec chaîne carbonée latérale, mais celle-ci contient 3 doubles liaisons en position 3', 7' et 11' (Cuvellier *et al.*, 2003 ; Zielinska *et al.*, 2014).

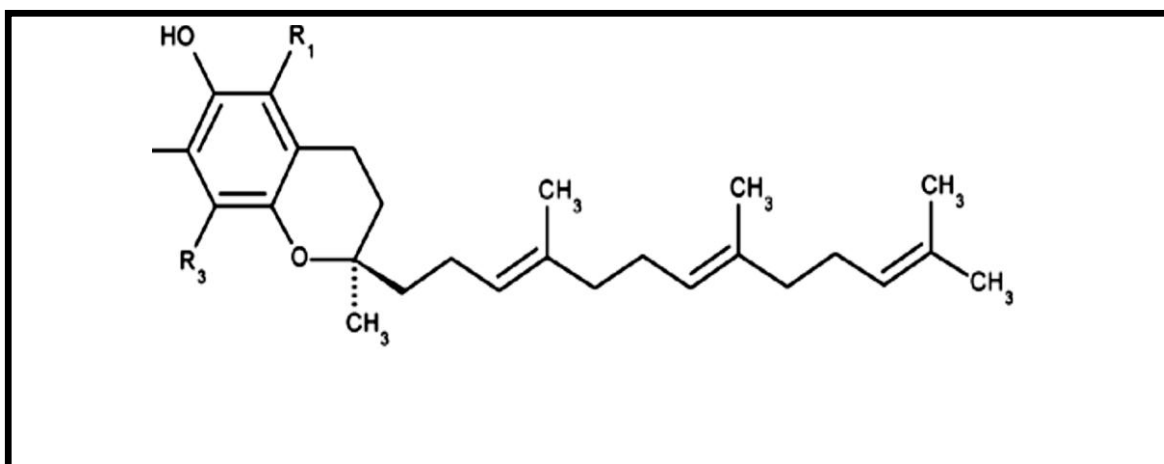


Figure 4 : Structure chimique de base des tocotrienols (T3) (Zielinska *et al.*, 2014).

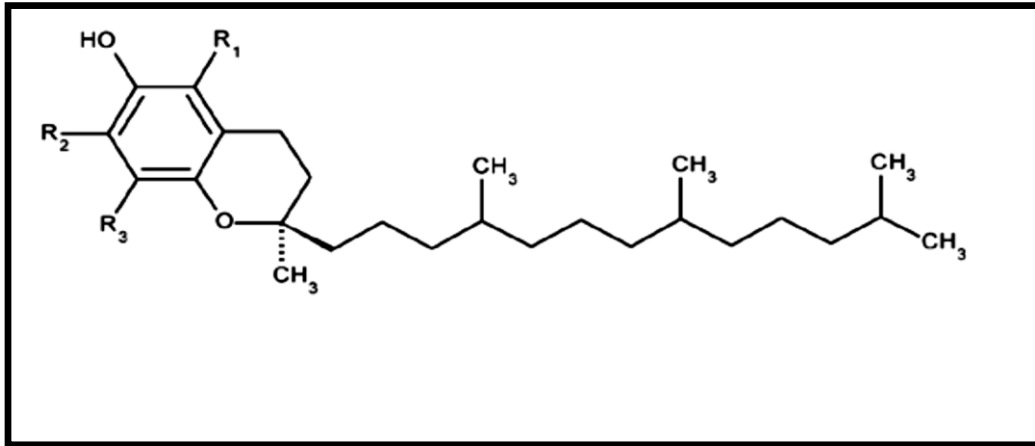


Figure 5 : Structure chimique de base des tocophérols (T) (Zielinska *et al.*, 2014).

Tableau 1 : Structures des tocophérols et tocotrienol (Zielinska *et al.*, 2014).

Nom	position		
	R1	R2	R3
tocol	H	H	H
α	CH3	CH3	CH3
β	CH3	H	CH3
γ	H	CH3	CH3
δ	H	H	CH3

I-2-2-2 Les stérols

Les stérols sont des alcools tétra cycliques en C₂₇, C₂₈ et C₂₉ possédant un groupe OH en C3 et une chaîne aliphatique greffée en C11. Selon l'origine biologique, on peut classer les stérols en quatre répartitions, les stérols animaux (Zoo stérols), stérols végétaux (Phytostérols), stérols des champignons inférieurs (Mycostérols) et les stérols des algues (Mesellem, 2010).

I-2-2-2-1 Les phytostérols

Les phytostérols sont des composés naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes supérieures et apparaissent ainsi comme des graisses végétales identiques en structure au cholestérol (graisse animale). Ils occupent la plus grande partie de la matière

insaponifiable des huiles et représentent en poids environ 50% de l'insaponifiable. Les phytostérols les plus abondants sont les sitostérols, les campestérols et les stigmastérols (Lecerf, 2007 ; Xiangfeng *et al.*, 2013)

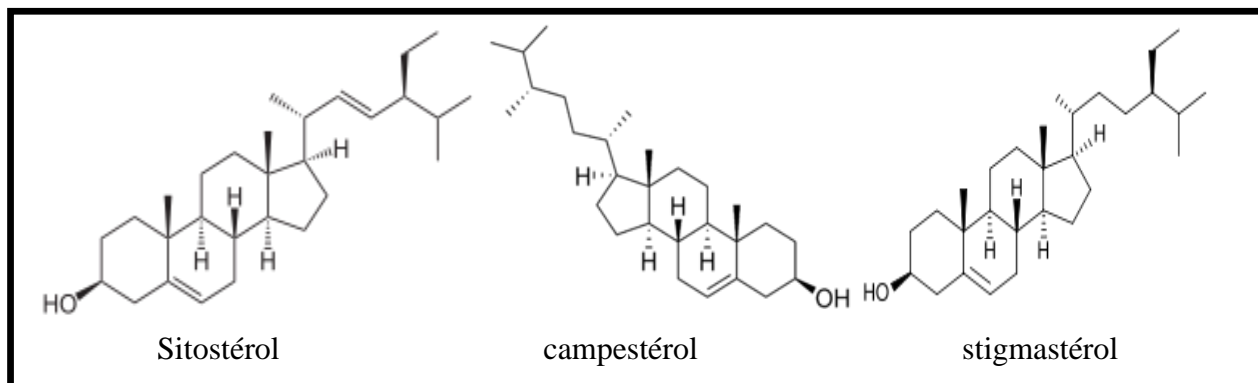


Figure 6 : les principaux stérols des huiles végétales (Voet et G.Voet, 1998).

I-2-2-3 Les hydrocarbures

Les hydrocarbures présents dans les huiles végétales sont à chaînes linéaires ou cycliques, saturées ou insaturées. Ce sont quantitativement, d'une manière générale, les principaux composants de la fraction insaponifiable. L'élément majeur est le **squalène** ($C_{30}H_{50}$) (polyterpène) qui constitue 30 à 50 % de cette fraction. On distingue aussi parmi les hydrocarbures insaturés les caroténoïdes dont les α , β et γ -carotènes (Samaniego *et al.*, 2010 *in* Benrachou, 2012)

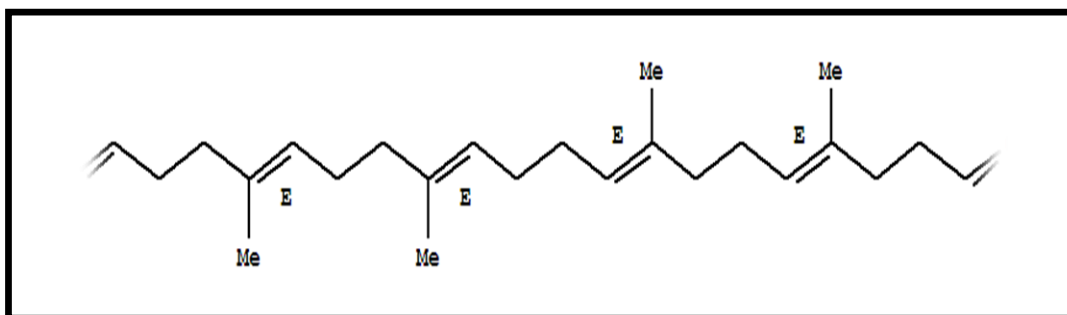


Figure 7 : Structure générale d'un squalène (Richard *et al.*, 2010).

I-2-2-4 Les pigments colorants

La coloration de l'huile végétale est due essentiellement à la présence de pigments colorants appartenant à la famille des caroténoïdes et chlorophylle.

I-2-2-4-1 Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont jaunes ou orangées et sont extraits par des solvants organiques. Ils sont des composés terpéniques très conjugués, de formule brute $C_{40}H_{56}$. Ces composés sont représentés essentiellement par les xanthophylles qui constituent 6,5 % de l'insaponifiable (500 mg / kg). Ce groupe comprend aussi le β carotène qui est le précurseur de la vitamine A.

Le β -carotène présente une action vitaminique et antioxydante. Ce composé est bien connu comme étant un désactivant de l'oxygène et de ce fait il est considéré parmi les inhibiteurs les plus efficaces de la photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens (Richard *et al.*, 2010 ; Noui, 2012).

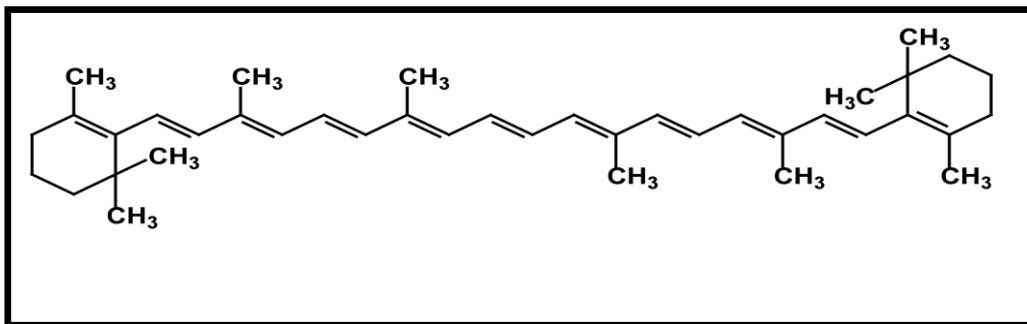


Figure 8 : Structure chimique du β -carotène (Richard *et al.*, 2010).

I-2-2-4-2 Les chlorophylles

Ce sont les pigments verts des végétaux. Elles jouent un rôle fondamental dans la photosynthèse. Elles sont constituées de quatre noyaux pyrroliques formant un système cyclique plan chélatant un atome de magnésium (Richard *et al.*, 2010).

Il existe trois molécules de chlorophylle : **a.b.et d.**

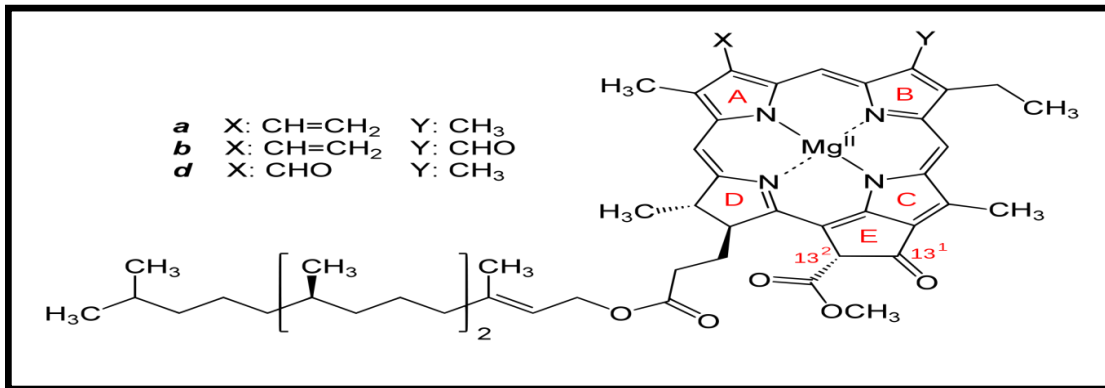


Figure 9 : Structure des trois molécules de chlorophylle (**Richard et al., 2010**).

I-2-2-5 Alcools triterpéniques

Les alcools triterpéniques forment une très grande famille des composés naturels, très largement représentés dans le monde végétal. Leur squelette chimique contient 30 ou 31 atomes de carbone pour les plus courants. Ils proviennent tous de la cyclisation de l'époxysqualène.

On distingue plus particulièrement :

- ✓ Les alcools triterpéniques tétracycliques comprennent toujours trois cycles à six éléments ;
- ✓ Les alcools triterpéniques pentacycliques comprennent cinq cycles à six éléments (**Loemba et Silou, 2006**).

Les alcools tri terpéniques ou triterpénols représentent environ 20 % de la fraction insaponifiable. Ces molécules sont synthétisées à partir du squalène. Les triterpénols peuvent être utilisés pour caractériser les huiles et les graisses végétales.

La fraction d'alcools triterpéniques de l'insaponifiable permet d'identifier quatre alcools triterpéniques. Il s'agit du tirucallol, de l' α -amyrine, du cycloarténol et du glutinol (**Loemba et Silou, 2006 ; Noui ,2012**).

Chapitre 3
L'oxydation et l'Anti oxydation

I-3-1 L'oxydation

L'oxydation des composés organiques est un phénomène à une importance dans la nature et la vie.

En chimie, l'oxydation est définie comme une perte d'électrons. Le processus d'oxydation liée à l'activité des espèces d'oxygène réactif ERO, ces derniers assurent deux fonctions. La première est le rôle physiologique : qui déroule dans les conditions normales comme la signalisation cellulaire et immunitaire (phagocytoses, chimiotactismes) et pour la deuxième c'est l'action négative de ces espèces telle que l'altération lipidique et la destruction des biomolécules (Murray *et al.*, 2008 ; Denisov et Afanas'ev 2005).

Pour régler et éviter ces altérations un énorme système de défense est en permanence en place, avec des systèmes enzymatiques et/ou des systèmes dégénératifs de complexe mettant en jeu par exemple les vitamines et le glutathion mais ce système de défense est parfois débordé, surtout quand les agressions sont multipliées, donc on parle de stress oxydatif (Denisov et Afanas'ev 2005).

I-3-1-1 Les espèces réactives d'oxygène ERO

I-3-1-1-1 La formation des ERO

La réduction d'oxygène par l'ajout progressive des électrons pour devenir H₂O peut donner des molécules intermédiaires qui sont les espèces réactives d'oxygène radicalaires telles que l'hydroxyle et non radicalaires comme le superoxyde, le peroxyde. La figure 10 représente les étapes de réduction d'oxygène.

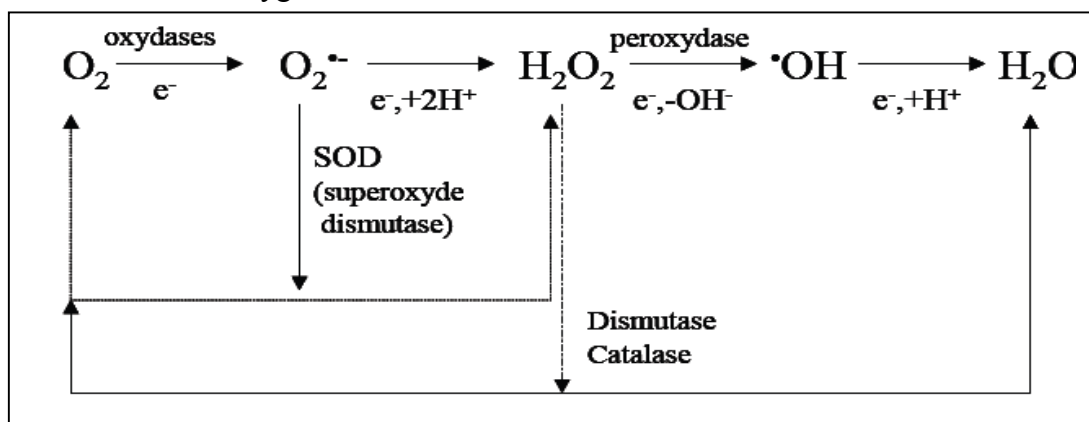


Figure 10 : La réduction d'oxygène en eau (Daum-Badouard, 2006).

I-3-1-1-2 La nature des radicaux libres

Un radical libre est défini comme une molécule possédant un ou plusieurs électrons libres. Le plus souvent l'électron non apparié se trouve sur l'orbitale externe de la molécule. Cet électron libre la rend très réactive et instable sur le plan énergétique (**Borg et Reeber, 2008 ; Afavier, 2010**)

Au point de vue énergétique : pour retrouver un état stable, les radicaux libres tendent à ne plus avoir d'électrons célibataires dans leurs cortège électronique. Ce résultat peut être atteint par soit la perte d'un électron, le radical est alors réducteur, soit par le gain d'un électron, le radical est alors oxydant (**Borg et Reeber, 2008**).

Il convient de ne pas confondre radical libre et ion. L'oxydation d'une molécule A-B peut produire les composés A^+ et B^- qui sont chargés et appelés ions, ou bien les composés A° et B° qui possèdent un électron libre (représenté par un point) et appelés radical libre. Cependant, il est possible qu'un radical soit également chargé (**Borg et Reeber, 2008**).

Les radicaux libres ont une activité chimique variable selon la molécule considérée, mais ce sont pour la plupart de puissants oxydants. Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyle, en particulier le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde d'azote. C'est pourquoi le terme d'espèce réactive de l'oxygène est préféré à celui de radicaux libres puisque le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre (**Borg et Reeber 2008 ; Lecolly, 2007**).

Tableau 2 : Exemples des ERO (Lecolly, 2007).

NOM	FORMULE	COMMENTAIRES
L'oxygène singulet	O_2^*	Molécule instable d'oxygène
Superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Un électron en plus
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Espèce réactif non radicalaire
Hydroxyle	OH^\cdot	Un radical hautement réactive
Peroxyde d'azote	$ONOO^\cdot$	Une espèce potentiellement toxique.

I-3-1-1-3 Origines des espèces réactives d'oxygène ERO.

❖ Sources exogènes.

La formation des ERO peut être à la suite de :

- ✓ Fumée de cigarettes.
- ✓ Radiation ionisante (Les rayonnements ionisants(x , γ) produisent des RL par la radiolyse de l'eau contenue dans les tissus exposés).
- ✓ Pollution de l'air, la pollution alimentaire.
- ✓ Additifs synthétiques.
- ✓ Métaux lourds (**Borg et Reeber 2008 ; Karp 1997**).

❖ Sources endogènes.

- ✓ Division cellulaire normale.
- ✓ Système de défense.
- ✓ Système de détoxification.
- ✓ Métabolisme cellulaire (**Borg et Reeber 2008 ; Karp 1997**).

I-3-2 Les antioxydants

La protection contre les lésions radicalaires est assurée par les enzymes et les molécules qui ont la capacité antioxydant qui sont appelées Les antioxydants. Ils sont des composés réducteurs capables de piéger des radicaux libres. L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation (**Murray *et al*, 2013**).

Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés en 3 catégories :

- la prévention à temps plein (la prévention passive).
- la détoxification active suite à une attaque oxydante.
- la détoxification passive (**Viro, 2004 in Benhamou, 2011**).

I-3-2-1 Prévention à plein temps

Ce type est un système qui agit en permanence pour but de prévenir la surproduction de radicaux libres de l'oxygène en inactivant les molécules endogènes (Fe, Cu) ou exogènes (quinone) susceptibles de les générer. Par exemple, la liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH physiologique rend ce métal

incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres (Virot, 2004 in Benhamou, 2011).

I-3-2-2 Détoxification active suite à une attaque oxydante

Ce système de défense repose principalement sur 3 enzymes (valko *et al.*, 2006).

I-3-2-2-1 Super oxyde dismutase (SOD)

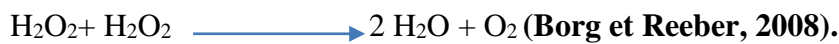
Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H₂O₂) et en oxygène.



Dans l'être humain, il y a 3 isoformes des SOD à cofacteurs métallique (Cu, Zn-SOD, Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie (Denisov et Afanas'ev, 2005).

I-3-2-2-2 Catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes, elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂ (Denisov et Afanas'ev, 2005).



I-3-2-2-3 Glutathion peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Murray *et al.*, 2013).

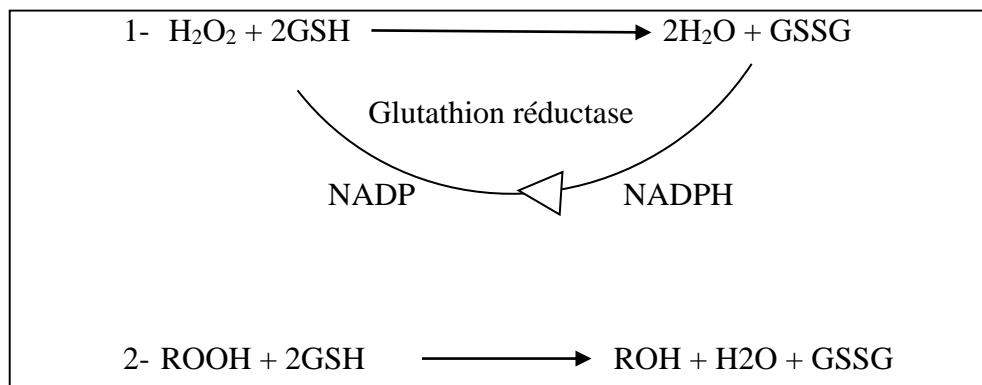


Figure 11 : La glutathion peroxydase (Borg et Reeber, 2008).

I-3-2-3 Détoxification passive

➤ Elle permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle inclue tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser seulement un radical libre par molécule tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, etc.... (**Virot, 2004 In Benhamou, 2011**).

I-3-2-3-1 Vitamine E (tocophérol)

La vitamine E est reconnue comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour protéger les acides gras insaturés, grâce à sa capacité à inhiber la peroxydation lipidique (**Cuvelier *et al.*, 2003 ; Weinman et Méhul, 2004**).

I-3-2-3-2 Vitamine C (acide ascorbique)

Il est un destructeur des radicaux libres très efficace. Ses propriétés antioxydants sont attribuées à sa capacité d'être réduit en radical ascorbyle après la perte d'un électron ou d'un proton. Il exerce son rôle protecteur en réduisant les ions métalliques qui ne peuvent donc plus déclencher des réactions de Fenton. Il est un réducteur très réactif qui réduit les ions ferrique à des ions ferreux, les catalyseurs de la réaction de Fenton (**Denisov et Afanas'ev, 2005 ; Borg et Reeber, 2008**)

I-3-2-3-3 Caroténoïdes

L'activité antioxydant de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure. Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres (ROO·, R·) (**Guignard, 2004**).

I-3-2-3-4 Composés phénoliques

Ces substances sont très utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne pour leurs activités antioxydants. Vu leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (**Guignard, 2004**).

I-3-3 Le stress oxydatif

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes figures 12, d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Boissiere, 2006).

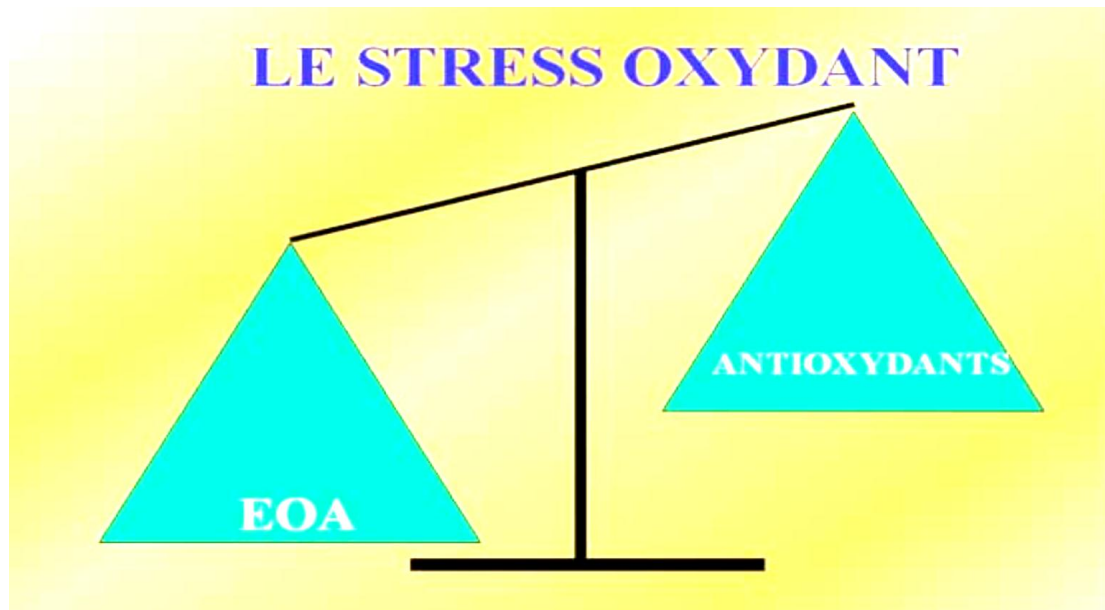


Figure 12 : Le stress oxydant : déficit en antioxydants, surproduction de radicaux libres (Boissiere, 2006).

Les lésions tissulaires et les altérations moléculaires causées par les EROs sont souvent appelées dommages oxydatifs. Ces interactions génèrent des composants malformés, des enzymes dysfonctionnelles, des coupures des brins d'ADN, des mutations et peuvent perturber considérablement les mécanismes cellulaires (la signalisation, la maturation, la croissance et la prolifération cellulaire....), avec apparition des maladies majeurs (le diabète, Alzheimer, cancer...).

I-3-3-1 La peroxydation lipidique

Les membranes cellulaires constituent les premières cibles pour les radicaux libres circulants. Elles y sont particulièrement sensibles à cause de leur richesse en acide gras et la susceptibilité est proportionnelle à leur degré d'insaturation. Le système nerveux central est particulièrement sensible aux radicaux libres à cause de sa grande consommation d'oxygène, de la grande concentration en lipides et de sa faiblesse relative en enzyme antioxydants

ces conditions conduisent à la dégénération des neurones et provoque l'apparition des troubles en mémoire et des fois couplés avec les maladies neurodégénératives telle que l'alzheimer **(Borg et Reeber, 2008)**.

La peroxydation lipidique peut se dérouler par deux voies : enzymatique et non-enzymatique.

La peroxydation lipidique est considérée comme normale quand elle reste contrôlée par des enzymes, comme la prostaglandine synthase, la cycloxygénase ou la thromboxanesynthase. Elle devient pathologique quand son mécanisme est non enzymatique. Elle peut se propager alors aux molécules voisines et donner naissance à des pontages entre les molécules ou à de nouvelles molécules qui peuvent jouer un rôle important dans différentes pathologies. Elle est catalysée par les ions ferriques, dans ce cas les initiateurs sont les radicaux libres OH \cdot , O $^{2-}$ qui sont produits par la réaction de Fenton, l'oxydation de NADPH par le cytochrome p-450 NADPH réductase ou par la xanthine oxydase **(Borg et Reeber, 2008 ; Murray *et al.*, 2013)**

La réaction non enzymatique se déroule en plusieurs étapes :

-L'initiation : un acide gras polydésaturé est attaqué au niveau d'un carbone situé entre deux doubles liaisons par un radical hydroxyle avec arrachement d'un atome d'hydrogène qui laisse un électron non apparié. L'acide gras subira alors une suite de réarrangements des doubles liaisons.

- La stabilisation : il y a formation d'un diène conjugué RO $2\cdot$ par coordination avec molécule d'oxygène.

- La propagation : les alkoxy- et peroxy-radicaux propagent l'oxydation par l'intermédiaire de RO $2\cdot$.

- La terminaison : la réaction en chaîne se termine au moment de la recombinaison de 2 diènes ou s'il y a réduction des hydroperoxydes par la glutathion peroxydase ou la vitamine E. Le glutathion intervient sur les radicaux peroxy de façon analogue à son action sur le peroxyde d'hydrogène. De même la vitamine E transforme les radicaux peroxy en hydroperoxydes **(Voet et G.Voet, 1998)**.

I-3-3-2 L'oxydation des protéines

Les radicaux libres touchent les acides aminés et provoquent la protéolyse des enzymes et des protéines. Cette protéolyse peut modifier et donner naissance à de nouvelles structures et des conformations protéiques différentes et par conséquent changement de fonction ou des protéines dysfonctionnelles (activité enzymatique, transduction d'un signal ou système de transport). Ces modifications sont remarquées par la formation de ponts disulfures et des liaisons carbonyles. On peut aussi trouver l'oxydation des protéines par les produits de peroxydation qui se conjuguent avec les acides aminés (histidine, cystéine, lysine) des protéines natives (**Petropoulos, 2009**).

Les radicaux libres peuvent également entrer dans la signalisation cellulaire comme un second messenger ou par la modification de l'activité enzymatique de tyrosine kinase ou sérine/thréonine kinase (tel que MAPK). Le changement de cette enzyme perturbe la cascade de signalisation et par conséquent blocage de cycle cellulaire (prolifération) ou la production des fausses molécules (**Afavier, 2010**).

La glycation est une autre forme d'expression des effets des radicaux libres par la fixation non enzymatique des oses sur des acides aminés (lysines et l'arginine) des protéines qui ont une durée de vie très longue comme les protéines de la matrice extracellulaire (**Afavier, 2010 ; Boissiere, 2006**).

Les modifications chimiques des acides aminés des protéines, soit par l'action directe des radicaux soit à la suite d'une réaction avec le produit de la peroxydation lipidique induite par un radical, produisent des protéines qui sont reconnues comme étrangères par le système immunitaire. Les anticorps qui vont être alors produits vont être capables de réaction croisée avec les protéines tissulaires normales et seront à l'origine d'une maladie auto-immune (**Murray et al., 2013**).

I-3-3-3 L'oxydation des acides nucléiques

Les espèces réactives H_2O_2 et $O^{\bullet-}$ peuvent générer le radical $\bullet OH$. C'est l'espèce la plus réactive de l'oxygène. Sa réaction avec l'ADN est susceptible de conduire à divers processus, tels que l'oxydation des bases et des résidus des sucres ou la formation de cassures de chaîne par arrachement d'un atome d'hydrogène du 2-désoxyribose. De plus, le radical $\bullet OH$ est responsable de la formation de pontages ADN-protéines dans les nucléoprotéines ces dommages sont indiqués dans la (figure 13) (**Daum-Badouard, 2006**).

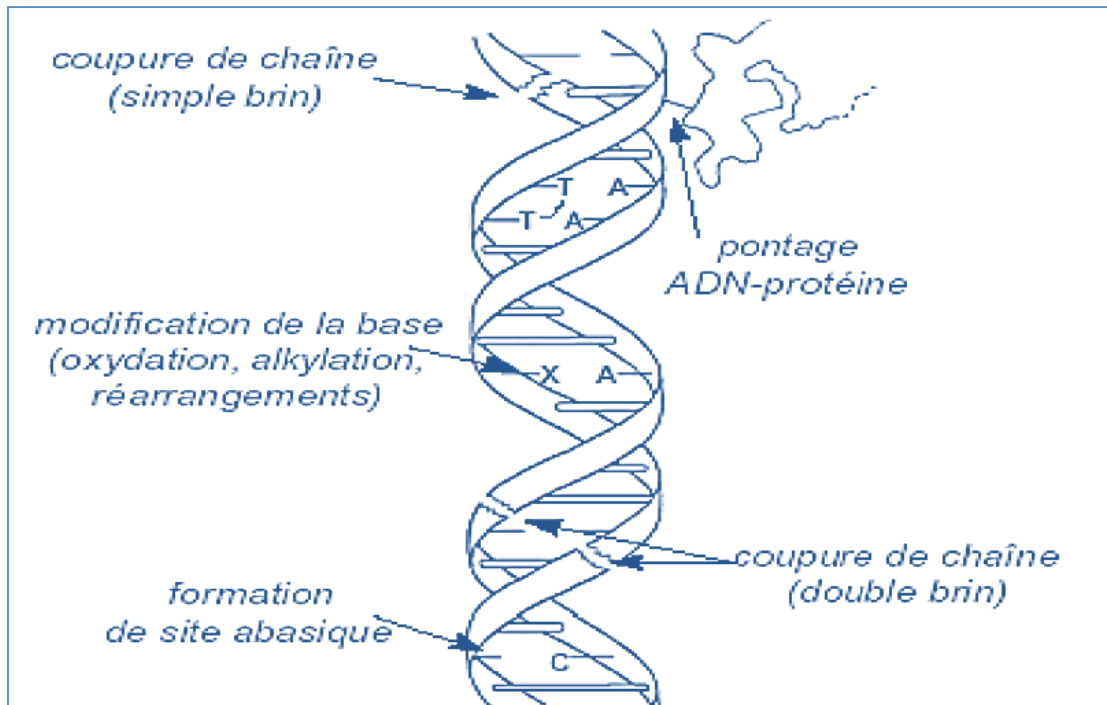


Figure 13 : Différentes catégories de lésions de l'ADN (Daum-Badouard, 2006)

Les cassures d'ADN conduisent à des mutations aux niveaux des différents gènes qui deviennent inactifs ou exprimés en des protéines anormales. Ces modifications peuvent être à l'origine de l'initiation d'un cancer ou générer des mutations héréditaires si l'altération est touchée les cellules germinales (Murray *et al.*, 2013).

Etude expérimentale

Chapitre 1
Matériels et Méthodes

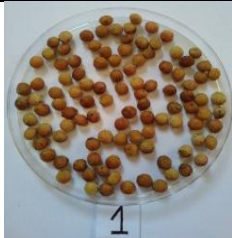



II-1-1 Matériel



II-1-1-1 Matériel biologique




II-1-1-1-1 La récolte des échantillons

Les échantillons utilisés sont récoltés, sur une période de deux mois, à partir des sites divers dans la wilaya de Laghouat. Ils sont en différents stades de maturité. Les informations de récolte et les données géographiques des sites sont représentées dans le tableau.

Tableau 3 : Description des échantillons.

Arbre	La date et l'heure de la cueillette	La région	Données géographiques ^{xx}	Code*	Photos
1	22/07/2015 9h45	ضاية النص Dayet Ennous	Latitude : 33°41'23.50"E Longitude : 2°39'44.19"E Altitude : 836m	1D(J)	
				1D(RF)	
				1D(N)	
2	22/07/2015	ضاية النص		2D(J)	

	10h00	Dayet Ennous	Latitude : 33°41'23.50"E Longitude : 2°39'44.19"E Altitude : 836m	2D(RF)	
				2D(V)	
				2D(N)	
3	22/07/2015 11h00 Cueillette1	Route National 1	Latitude : 33°38'42.79"N Longitude : 2°55'42.70"E Altitude : 812m	3RN(JR)	
3'	23/08/2015 19h10 cueillette 2			3'RN(JR)	
				3'RN(V)	
4	29/08/2015	Laghouat (Ville)	Latitude : 33°48'07.38"N Longitude : 2°53'20.06"N Altitude : 761m	4V(J)	
				4V(JR)	

				4V(RV)	
5	19/09/2015 12hh00	El- Ghaicha	Latitude : 33°59'15.80"N Longitude : 2°01'45.39"E Altitude : 1380m	5G(JR)	
				5G(V)	

*: A chaque échantillon est attribué un code comprenant un chiffre indiquant l'arbre et une première lettre indiquant l'initial du nom du site et des lettres (entre parenthèse) indiquant la couleur du fruit. Dans le cas où une deuxième cueillette concernant le même arbre est effectuée, un signe supplémentaire est ajouté.

☒ : Les caractères géographiques sont obtenues à l'aide de *Google Earth* 2016.

Exemple :

- **3RN(JR)** : 3 : arbre 3, RN : Route National, (JR) : jaune rouge.
- **3'RN (V)** : 3 : arbre 3, ' : 2^{ème} cueillette, RN : Route National, (V) : vert.

II-1-1-2- produits chimiques

La liste des produits chimiques utilisés est présentée en annexe 1.

II-1-1-3- matériel et équipements

Le matériel et les équipements utilisés sont motionnés en annexe 2.

II-1-2- Méthodes

II-1-2-1- Tri et extraction

L'extraction des huiles des fruits de *Pistacia atlantica* est effectuée après le tri, selon la couleur des drupes, pour chaque récolte. (Tableau 3).

II-1-2-2- Extraction par solvant (Soxhlet)

Nous avons choisi la méthode de l'extraction par soxhlet. Cette méthode est basée sur l'extraction solide liquide par soxhlet en utilisant l'hexane comme phase liquide pendant 8 heures.

Une cartouche pleine de 100 grammes d'échantillon est placée dans le soxhlet. Le ballon vide est préalablement pesé. Dans ce dernier, un volume de 300ml d'hexane est mis. Après quoi le système monté est mis à reflux.

Une fois l'opération terminée, et après déshydratation (par sulfate de sodium anhydre) et filtration, le solvant est évaporé à 40°C sous pression réduite. L'extrait obtenu est un extrait lipidique brut (huile).

II-1-2-2-1- Détermination de la teneur en huile

Nous avons calculé la teneur en huile de chaque échantillon en se basant sur la formule suivante :

$$\text{Teneur en huiles} = \frac{H}{A} \times 100$$

H : quantité, en gramme d'huile.

A : prise d'essai, en gramme, matière végétale broyée.

II-1-2-3- Analyse quantitative des huiles

II-1-2-3-1-Dosage des stérols

a) Principe

Il s'agit d'une absorption spectrophotométrique suivant le test de Liebermann-Burchard, basé sur une réaction colorée spécifique des 3 -hydroxystéroïdes possédant une double liaison en position 5-6. Le dosage de stérol est réalisée par la formation d'un complexe stable avec l'anhydride acétique en milieu acide qui absorbe dans le visible à une longueur d'ondes de 550 nm. (Le réactif spectral de Liebermann est constitué par 60 ml d'anhydride acétique et 10 ml d'acide sulfurique concentré et 30 ml d'acide acétique) (**Burck et al., 1974**).

b) protocole

A partir d'une solution chloroformique de cholestérol de concentration 1mg/ml, nous avons préparé une série de gamme de solutions afin de tracer une courbe d'étalonnage liant la densité optique en fonction de la concentration. 1ml de chaque solution est mis avec 2 ml du réactif de Liebermann. Les préparations sont incubées pendant 25 min à l'obscurité pour que la coloration se développe et se stabilise.

L'absorbance de chaque solution est lue à 550 nm.

Le test est effectué deux fois.

La concentration des stérols dans chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec le cholestérol et exprimée en milligramme équivalents de cholestérol par gramme d'huile (mg chol /g d'H).

II-1-2-3-2- Dosage des tocophérols

a) Principe

Nous avons adopté la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel (1939). Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les tocophérols et le fer ferrique (Fe^{3+}) qui est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}).

Ce dernier, en présence de réactifs spécifiques comme phénantroline, forme un complexe rouge-orange stable dont le coefficient d'extinction molaire à 510 nm et est très élevé.

b) protocole

Une droite d'étalonnage tracée à partir d' α -tocophérol commercial, permet de relier la densité optique et la concentration de tocophérol exprimée en g/l. A partir d'une solution commerciale de la vitamine E, nous avons préparé dans le butanol des solutions ayant des concentrations bien déterminées. 1ml de chaque solution fille est mélangé avec 1ml de réactif (phénantroline 0,4%) et 0.5ml FeCl_3 de 0,12 % (solutions éthanoïques). Après 5min, l'absorbance est lue à 510nm.

Le test est effectué deux fois.

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

II-1-2-3-3- Test de piégeage d'un radical libre le DPPH

a) principe

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir antioxydant (anti-radicalaire) des extraits. Les antioxydants réduisent le DPPH de couleur violette en un diphényl-picryl-hydrazine de couleur jaune dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Molyneux, 2004).

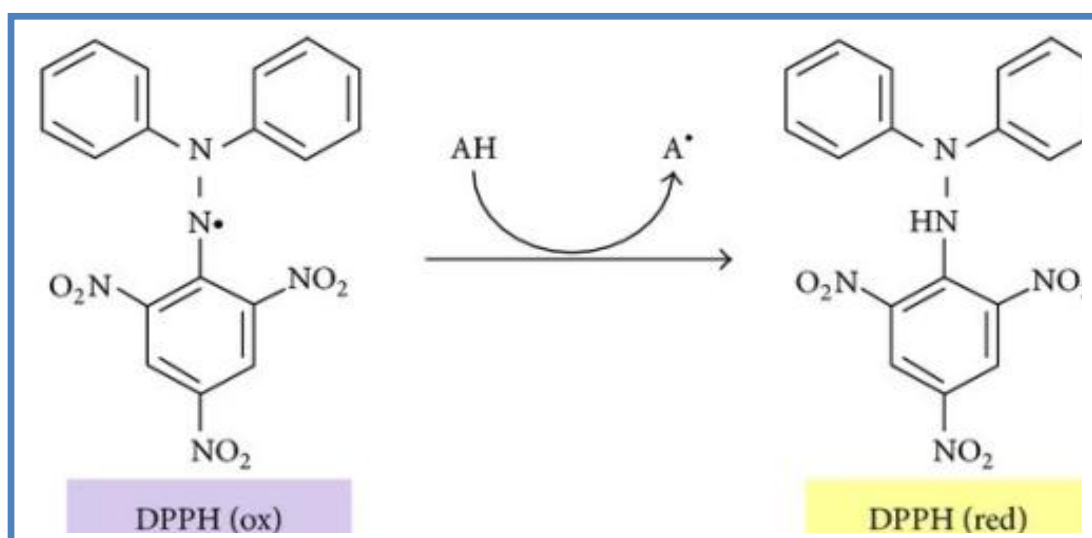


Figure 14 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneux, 2004).

b) Protocole

Nous avons préparé une gamme des dilutions à partir d'une solution mère de concentration initiale 0,05 g /ml de notre extraits.

Dans un volume de 1 ml, nous avons ajoutée 1ml de DPPH et incubée pendant 30 min à l'obscurité, nous avons lu l'absorbance à 517 nm. L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH selon l'équation suivant :

$$\text{Activité anti-radicalaire(\%)} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition permet de calculer l' EC_{50} . Elle est définie comme étant la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH.

II-1-2- 5- Etude de la fraction insaponifiable

L'étude de la fraction insaponifiable n'a été menée pour dix échantillons représentatifs 2D(J) ,2D(RF), 2D(V), 2D(N) ,3RN(JR), 3'RN(JR) ,3'RN (V) et 4V(J),4V(JR) et 4V(RV).

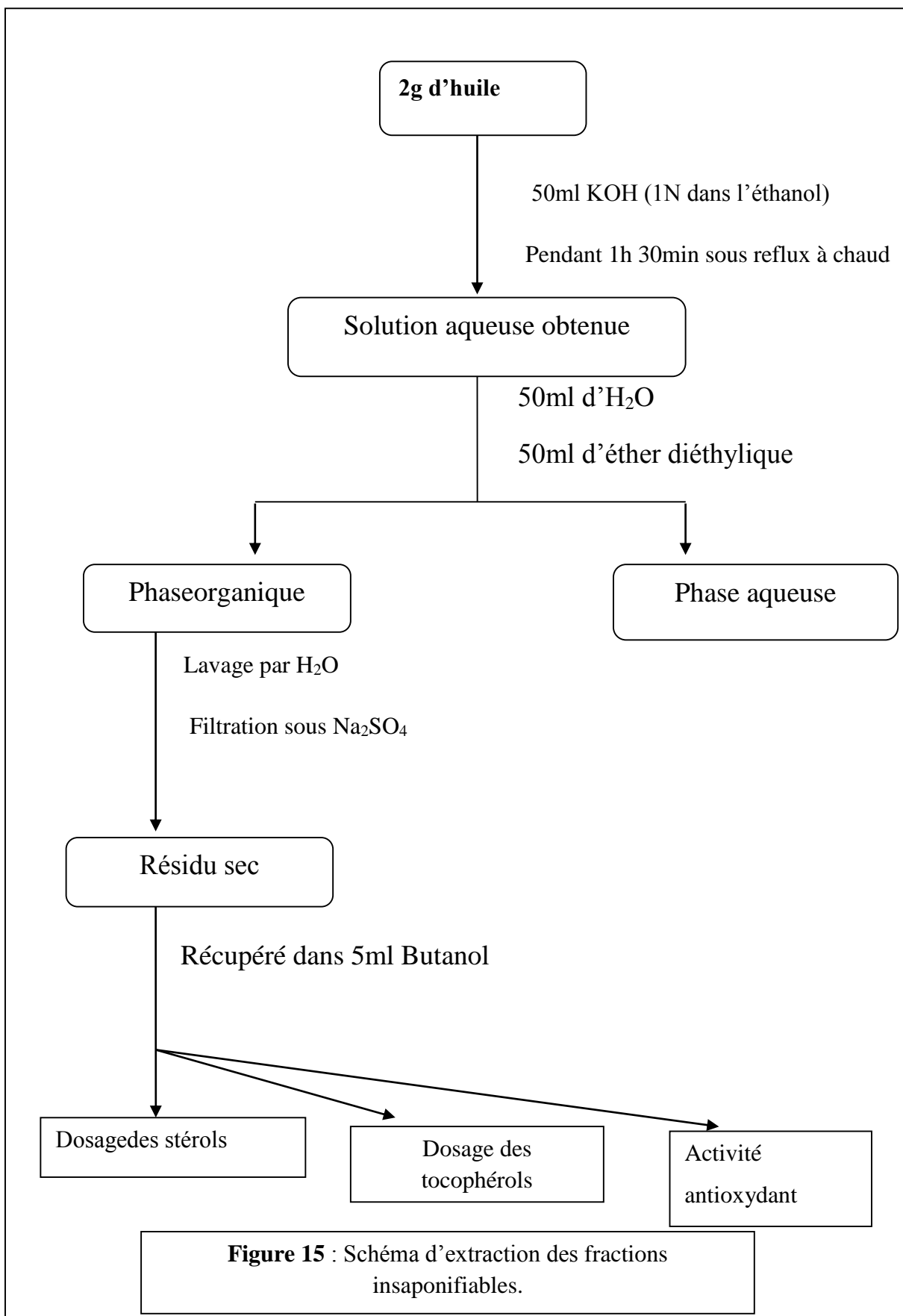
II-1-2- 5-1-Extraction et analyse de la fraction insaponifiable

a) Principe

L'insaponifiable d'un corps gras correspond à l'ensemble des constituants qui, après hydrolyse basique (saponification), sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques (**Bereau, 2001**).

a) protocole

L'extraction de l'insaponifiable repose sur la saponification d'une masse de 2 g d'huile par 50 ml d'une solution hydro alcoolique de potasse (1N) à chaud sous reflux pendant 1h 30 min. Après l'ajout de 50 ml d'eau distillée et 50 ml dediéthyl-éther (double extraction) suivi d'un lavage avec l'eau distillée jusqu'à neutralisation, la phase organique est séchée par le sulfate de sodium anhydre, filtrée puis évaporée sous pression réduite.



II-1-2- 6- Analyse quantitative des Fractions insaponifiables

Les résidus secs de la fraction insaponifiable sont solubilisés dans 5ml du butanol. Pour le calcul du rendement, le dosage des stérols et tocophérols totaux et l'évaluation de l'activité antioxydant, la même démarche expérimentale adoptée pour les huiles a été suivie.

II-1-3 - Analyse statistique

L'analyse de données (par ACP) est réalisée par le logiciel XL-STAT.2014 pour les extraits huileux. Nous avons calculé pour chaque groupe d'échantillons la moyenne et son écart type. Le test de Student est utilisé pour la comparaison des moyennes. Nous avons également calculé le coefficient de corrélation pour certains paramètres par Excel.

Chapitre 2
Résultats et discussion

II-2 Résultats et discussion

II-2-1 Teneur en huiles

Les extraits huileux des fruits jaunes (considérés comme immatures) de *Pistacia atlantica* ont une couleur verte foncée associée à une odeur très agréable. Par contre, l'huile des fruits verts (considérés comme matures) ont une couleur jaune claire avec une odeur agréable et très limpide. Tous les extraits ont un aspect liquide à température ambiante. (Tableau 4)

La teneur en huile (allant de 7,8 % à 41,84%) varie considérablement selon notamment la couleur des fruits qui indique en grande partie leur degré de maturité (Figure 16). La date de la cueillette est un autre indicateur du stade de maturation à prendre en considération. Ainsi, les rendements d'extraction les plus faibles sont obtenus pour les fruits de couleur jaune et ils augmentent au fur et à mesure que la couleur se transforme en vert ou noir.

Nos résultats pour les fruits matures sont légèrement en baisse par rapport à ceux obtenus par Pr Yousfi et ses collaborateurs (Yousfi *et al.*, 2003) où un rendement d'extraction de 52% était atteint pour les fruits matures de couleur verte. Cette légère différence pourrait être expliquée par des facteurs inhérents à la saison, le mois où les drupes sont cueillies,...

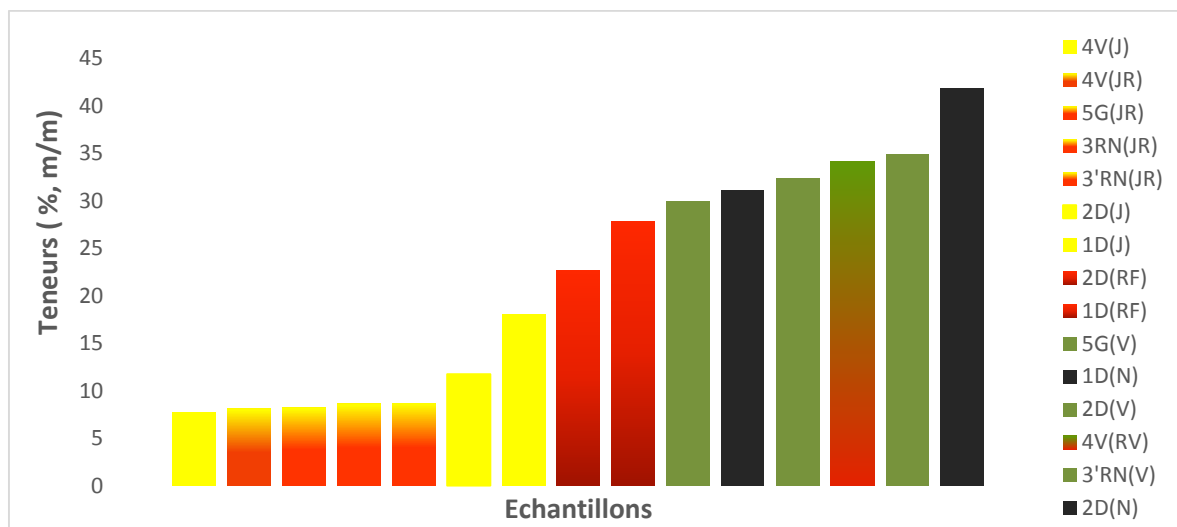

















Figure 16 : Variation du rendement d'extraction des huiles à partir des fruits du *Pistacia atlantica* en fonction de leur stade de maturité. Les échantillons 1D, 2D et 3RN sont récoltés en Juill et; 3'RN et 4V sont récoltés en Aout et 5G est récolté en Septembre.

Tableau 4 : Les rendements est les couleurs d'huile des fruits de pistachier de l'Atlas.

Échantillons	1			2				3
	D(J)	D(RF)	D(N)	D(J)	D(RF)	D(V)	D(N)	RN(JR)
Masse de l'échantillon (g)	97	98	88	100	108	83.43	69.5	224
Masse d'huile extraite (g)	35.59	55.17	27.31	23.44	24.56	26.99	29.08	19.22
Huile								
Rendement % (m/m)	18.1	27.8	31.1	11.72	22.64	32.35	41.84	8.6

Échantillons	3'		4			5	
	RN(JR)	RN(V)	V(J)	V(JR)	V(RV)	G(JR)	G(V)
Masse de l'échantillon (g)	164	114	177	179	134	100	132
Masse d'huile extraite (g)	14.31	39.58	13.84	13.99	45.65	8.2	39
Huile							
Rendement % (m/m)	8.7	34.85	7.8	8.1	34.1	8.22	30

II-2-2 Teneur des stérols totaux

La teneur en stérols totaux dans les échantillons d'huile a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage du cholestérol (Figure17). Elle est exprimée en milligrammes équivalents de cholestérol par gramme d'huile.

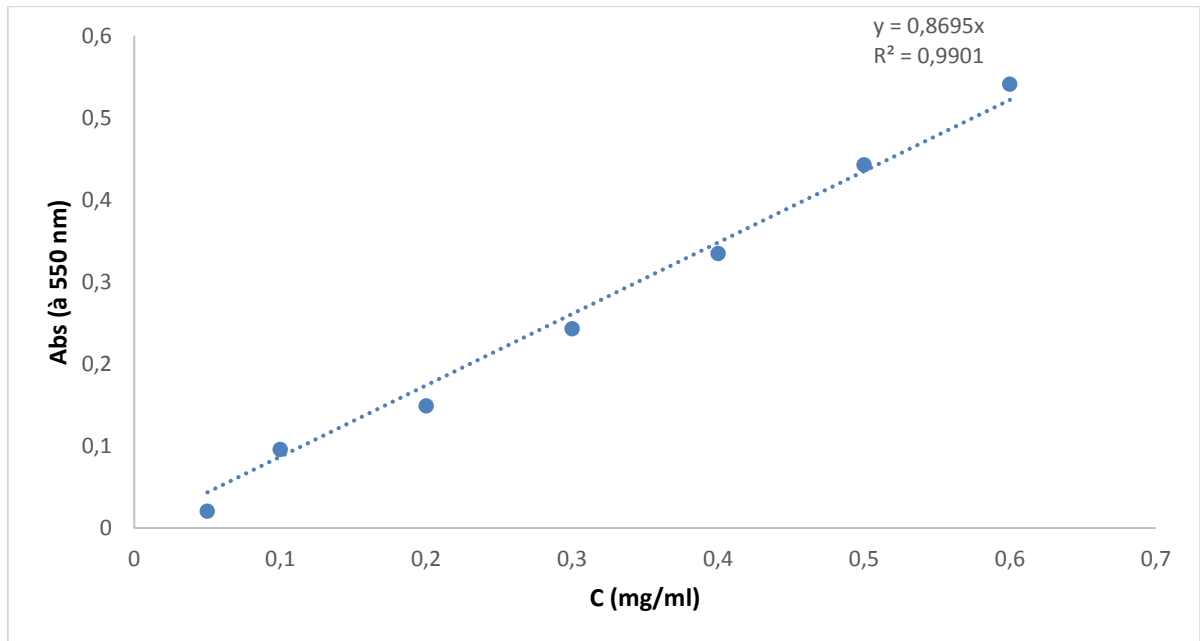


Figure17 : Droite d'étalonnage du cholestérol.

Les résultats montrent que les huiles étudiées contiennent des quantités très importantes et variables en stérols (Tableau5).

Tableau 5 : Teneur en stérols totaux dans les huiles de *Pistacia atlantica*

Echantillons immatures (selon la couleur)	Teneur (mg/g)	Echantillon intermédiaire (selon la couleur)	Teneur (mg/g)	Echantillons matures (selon la couleur)	Teneur (mg/g)
1D(J)	130,24	1D(RF)	94,53	1D(N)	80,50
2D(J)	145,42	2D(RF)	88,67	2D(V)	78,89
3RN(JR)	338,31			2D(N)	65,55
3'RN(JR)	270,65			3'RN(V)	135,32
4V(J)	250,52			4V(RV)	29,22
4V(JR)	207,97			5G(V)	40,44
5G(JR)	248,22			-	-
Moyenne	227 ,33			Moyenne	71 ,65
Ecart type	72,66			Ecart type	37,40

Nous remarquons que la teneur en stérol totaux est très variable avec une étendu large de 309.09 mg/g pour l'ensemble des échantillons. Cette dernière est de 208,069mg/g pour les échantillons immatures et de 106,09 mg/g pour les échantillons matures.

Il en ressort que les fruits immatures (jaunes ou rouge) sont significativement plus riches en stérol par apport aux fruits matures ($p < 0,001$).

Nous notons avec intérêt une teneur en stérols substantiellement élevée pour l'échantillon pour 3RN(JR) par rapport à l'échantillon 3'RN(JR) bien qu'ils soient issus du même arbre et ayant la même couleur. Cependant, leurs cueillettes sont espacées d'un mois. Ceci montre clairement l'importance du timing de la récolte dont l'effet sur le degré de maturation de la drupe n'est à négliger. D'une manière générale, l'huile extraite des fruits de l'arbre 3RN sont les plus riches en stérols totaux.

Les échantillons immatures collectés à Dayet Ennous (1DJ et 2DJ), se montrent moins riches en stérols par rapport à leurs paires. Ces valeurs pourraient être dues de l'effet anthropique probable dans la variation de la composition biochimique de l'arbre.

L'échantillon 5G(V), bien qu'il soit de couleur verte et cueillis à la fin septembre c'est-à-dire à maturité complète, semble contenir une teneur assez importante en stérols par rapport

aux fruits matures ordinairement récoltés en cette période (**Maamri, 2008**). Ce cas particulier pourrait être expliqué en partie par l'effet de l'altitude (1300 m). Nous insistons sur le fait que des échantillons de régions montagneuses telles qu'ElGhaicha sont étudiés, à travers ce modeste mémoire, pour la première fois. Des études complémentaires sont ainsi nécessaires pour en apporter le maximum d'information.

Globalement, il ressort de nos résultats, comparés à ceux rapportés par (**Bellakhdar et Bentireche, 2013 ; Maameri, 2008**), que nos échantillons cueillis très précocement (pour la première fois en juillet) sont très riches en stérols totaux, ce qui indique la très grande variation de leur teneur au cours de la maturation des fruits. Il ne faut pas omettre l'effet de variation de saisons des cueillettes (entre 2005 et 2015).

Il est à relever que notre étude a montré la richesse en stérols des drupes de *Pistacia atlantica*, notamment à des stades très précoces de maturation, par rapport à des huiles de fruits issus d'autres espèces telles que *Pistacia vera* (1,18 mg/g) (**Ghalem et Bnhassani, 2007**) notre huile a une bonne qualité par rapport l'huile de *l'Argania spinosa*(5,91mg/g) (**Hamia, 2007**).

II-2-3 Teneur des tocophérols totaux

La teneur en tocophérol totaux dans les échantillons d'huiles a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure 18). Elle est exprimée en milligrammes équivalents de vitamine E par 100 gramme d'huile.

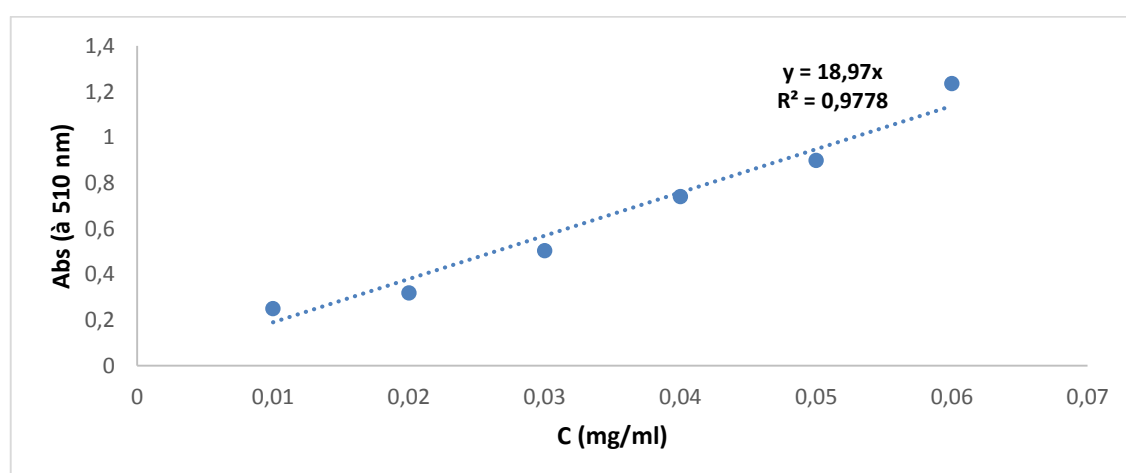


Figure18 : Droite d'étalonnage de la vitamine E.

Les teneurs en tocophérols totaux, présentées dans le tableau 6, sont extrêmement élevées pour l'ensemble des échantillons par rapport aux études précédentes pour la même espèce Bentireche et Bellakhdar (2013) ; Adila et Belboul (2014). Néanmoins, une différence significative ($p < 0,05$) est décelée entre les échantillons de couleur jaune ou jauneroche considérés comme immatures et ceux de couleur verte ou noire considérés comme matures.

Tableau 6: teneur en tocophérol totaux dans les huiles de *Pistacia atlantica*.

Echantillons immatures	Teneur (mg/100g)	Echantillon intermédiaire	Teneur (mg/100g)	Echantillons matures	Teneur (mg/100g)
1D(J)	505,02	1D(RF)	425,55	1D(N)	214,55
2D(J)	702,59	2D(RF)	494,26	2D(V)	481,72
3RN(JR)	804,8			2D(N)	394,31
3'RN(JR)	519,27			3'RN(V)	309,09
4V(J)	825,48			4V(RV)	550,43
4V(JR)	808,01			5G(V)	192,49
5G(JR)	200,03			-	-
Moyenne	623,60			Moyenne	357,09
Ecart type	230,28			Ecart type	144,23

Nos valeurs sont comprises entre 200,03 et 825,48 mg/100g pour les fruits immatures et entre 192,49 et 550,43 mg/100g pour les fruits matures.

Les échantillons de couleur rouge foncée (considérés comme drupes à maturité intermédiaire) ont des valeurs pratiquement intermédiaires entre celles des échantillons matures et immatures.

A l'instar des stérols totaux, nous remarquons des niveaux élevés en tocophérols totaux pour l'échantillon 3RN(JR) par rapport à 3'RN(JR) bien qu'ils soient issus du même arbre et ayant la même couleur mais à un mois d'intervalle. Encore une fois, l'importance du timing de la récolte est mise en avant.

Il est également à noter que les échantillons de l'arbre 5G d'El-Ghaicha (verts et jaunes), se révèlent les moins riches en tocophérols avec des valeurs très proches (192,49 et 200,03 mg/100g). Cette distinction qui mérite une étude complémentaire pourrait être due encore une fois à l'effet de l'altitude.

La comparaison de nos résultats à ceux rapportés par la littérature pour d'autres huiles montre que les huiles des fruits de *Pistacia atlantica* particulièrement aux stades très précoces de maturation sont extrêmement riches en tocophérols. Les données publiées concernent l'huile d'olive et l'huile de tournesol (respectivement, 20 et 67 mg/100g Karleskind, 1992), l'huile des fruits noirs et de fruits rouges de *Pistacia lentiscus* (respectivement, 15,24 et 58,5 mg/100g. Charef, 2011) et l'huile d'*Argania spinosa* (102,7 mg/100g, Hamia, 2007).

Il y a lieu de préciser que le dosage colorimétrique des tocophérols totaux a généralement ses limites par rapport à celui par HPLC.

II-2-4 L'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles des fruits des *Pistacia atlantica*

II-2-4-1 Test de piégeage d'un radical libre le DPPH

Nous avons utilisé la Vitamine E commerciale (α -tocophérol) comme antioxydant de référence pour tracer le graphe représentant le pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration en antioxydant (Figure 19).

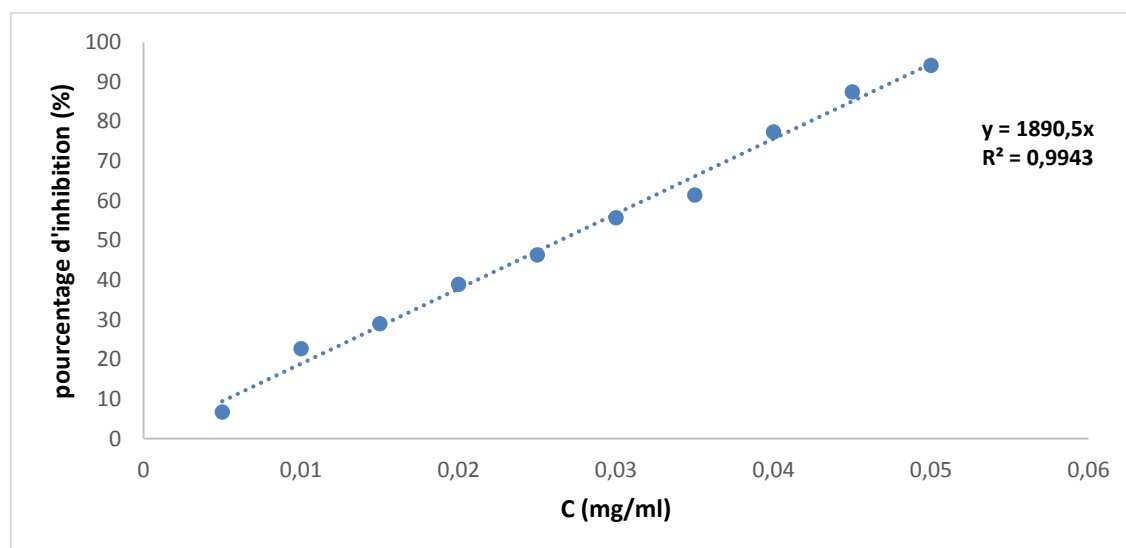


Figure 19 : Graphe représentant l'activité antioxydant de la vitamine E par le test du DPPH.

Nous avons procédé de la même manière pour l'ensemble des échantillons (graphes en annexe 4). Les valeurs de l'EC₅₀ déterminées sont résumées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Les valeurs de l'EC₅₀ calculé pour les différents extraits lipidiques des fruits de maturité différente lors de test DPPH.

Standard	EC ₅₀ (mg/ml)	Echantillons immatures	EC ₅₀ (mg/ml)	Echantillons intermédiaire	EC ₅₀ (mg/ml)	Echantillons matures	EC ₅₀ (mg/ml)
Vit E	0.0264	2D(J)	2,7	2D(RF)	5,3	2D(V)	15.1
		3'RN(JR)	5,6	1D(RF)	28	4V(RV)	21.4
		4V(J)	6,4			2D(N)	23.8
		3RN (JR)	8,6			1D(N)	30,0
		1D(J)	11,1			3'RN(V)	31.9
		4V(JR)	12,4			-	-
		moyenne	7,8			moyenne	24,44
		Ecartype	3,61			Ecartype	6,94
		5G(JR)*	44,4			5G(V)*	74.1

*: Etant donné qu'elles émergent, ces valeurs n'ont pas été incluses dans le calcul des moyennes.

D'après ces résultats, nous remarquons que l'huile extraite des fruits immatures a une activité antioxydante significativement plus importante par rapport à celle obtenue à partir des drupes matures ($7,8 \pm 3,61$ contre $24,44 \pm 6,94$ mg/ml, $p < 0,001$).

La variation de l'EC₅₀ pour des drupes issus du même arbre et de la même cueillette mais ayant des couleurs différentes est clairement établie (Figure 20). Ainsi, l'extrait huileux des fruits jaunes étant le plus actif (EC₅₀ : 2,7 mg/ml). Par contre, celui des fruits noirs (EC₅₀: 23,8 mg/ml) est le moins actif. Ces observations indiquent que la couleur du fruit est un bon indicateur du degré de maturité des fruits mais il n'en est pas le seul.

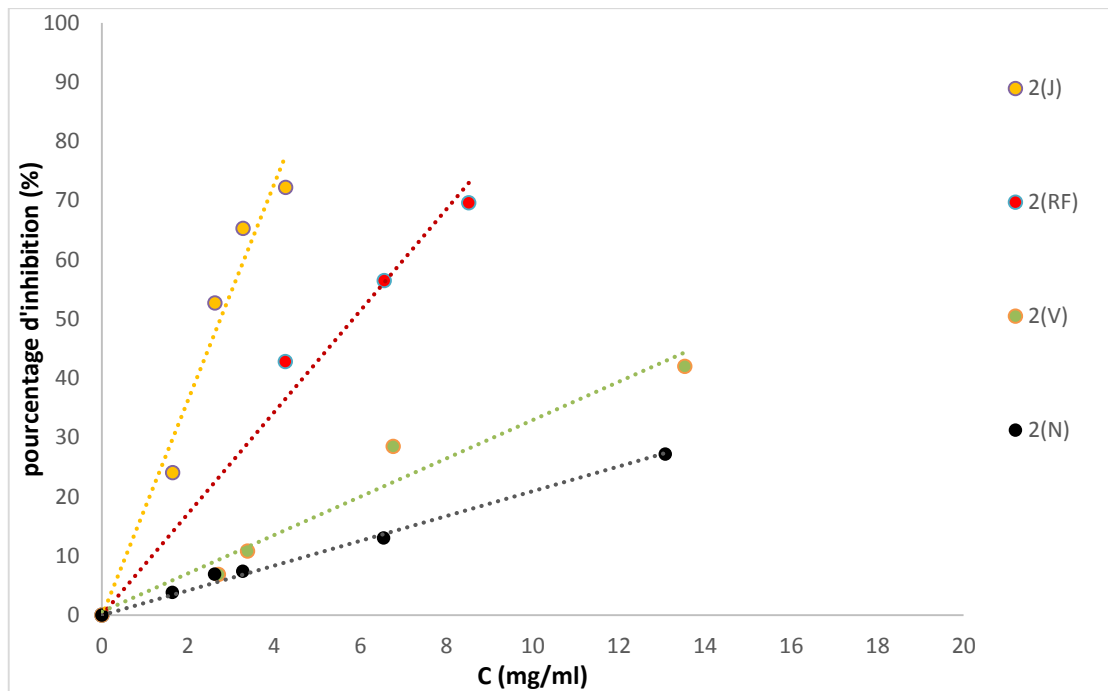


Figure 20 : Graphe représentant l'activité antioxydant des huiles de l'arbre 2 récolté en juillet 2015, par le test du DPPH.

La comparaison de nos valeurs de l'EC50 par rapport à celles obtenues par Bentireche et Bellakhdar (2013) et Adila et Belboul (2014) montre que les nôtres sont les plus basses d'où l'activité antioxydante la plus élevée. Cette observation va de pair avec celles concernant les stérols et les tocophérols totaux et indique que plus les fruits sont cueillis précocement (les nôtres en juillet) plus ils sont actifs.

Il est capital de relever qu'encore une fois, les drupes récoltées de l'arbre d'ElGhaicha se distinguent. En effet, leurs extraits huileux se montrent les moins actifs. Sans doute, l'effet de l'altitude, du climat et du sol serait prépondérant.

II-2-4-2 Relation entre la teneur en tocophérols et le pouvoir anti-radicalaire

Nous avons essayé de trouver une relation entre les teneurs en tocophérols totaux et l'EC50 pour l'ensemble de la série d'étude et ce en traçant une régression linéaire reliant ces deux paramètres avec calcul du coefficient de corrélation r (Figure 21).

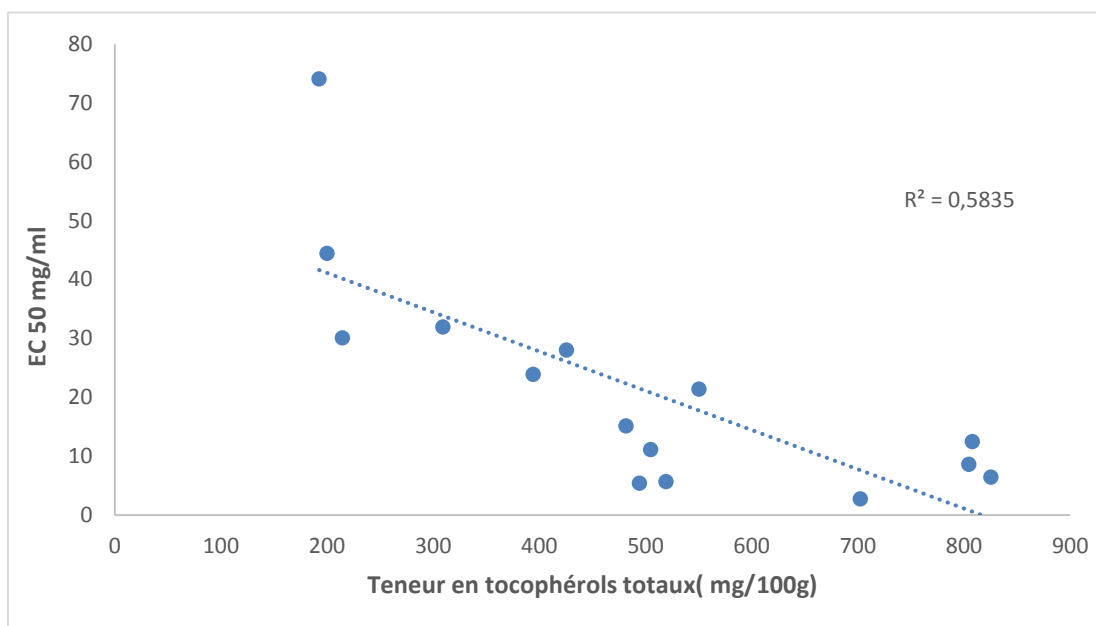


Figure 21 : Régression linéaire de la corrélation entre le taux de tocophérols et l'EC50 des extraits huileux.

Le coefficient de corrélation obtenue est -0,76 (corrélation négative). C'est une valeur assez importante montrant l'existence d'une relation entre le taux de tocophérols et l'EC50. Ainsi, plus l'extrait est riche en tocophérol, plus son pouvoir antioxydant est important.

II-2-5 Analyse de données concernant les paramètres étudiés

L'analyse des composantes principales a abouti aux résultats mentionnés dans le tableau 8 et la figure23. La matrice de corrélation de Pearson indique qu'en plus de la corrélation négative significative obtenue entre la teneur en tocophérols et l'EC50, il y a une très forte

corrélation négative ($r = -0,84$) entre le rendement d'extraction huileuse et la teneur en stérols totaux signifiant que plus le rendement augmente moins l'extrait est riche en stérols.

Tableau 8 : Matrice de corrélation de Pearson:

Variabes	tocophérol	stérol	rendement	EC 50
tocophérol	1	0,506	-0,568	-0,764
stérol	0,506	1	-0,848	-0,379
rendement	-0,568	-0,848	1	0,399
EC 50	-0,764	-0,379	0,399	1

La distribution des différents échantillons par rapport aux quatre paramètres étudiés montre leur caractère distinctif (Figure 22). Ainsi, deux groupes distincts sont obtenus. Le premier englobe les échantillons de couleur jaune et jaune rouge (immatures) caractérisé par un rendement faible mais une richesse en stérols et tocophérols totaux associée à une très forte activité antioxydante. Le deuxième est dominé largement par les fruits matures de couleur verte ou noire où le rendement d'extraction est le plus élevé mais avec des niveaux en tocophérols et stérols totaux largement inférieurs. Ils sont également caractérisés par des EC50 élevés d'où leur faible activité antioxydante.

Partant de ces résultats, nous pouvons considérer les paramètres testés comme indicateurs du degré de maturités des drupes.

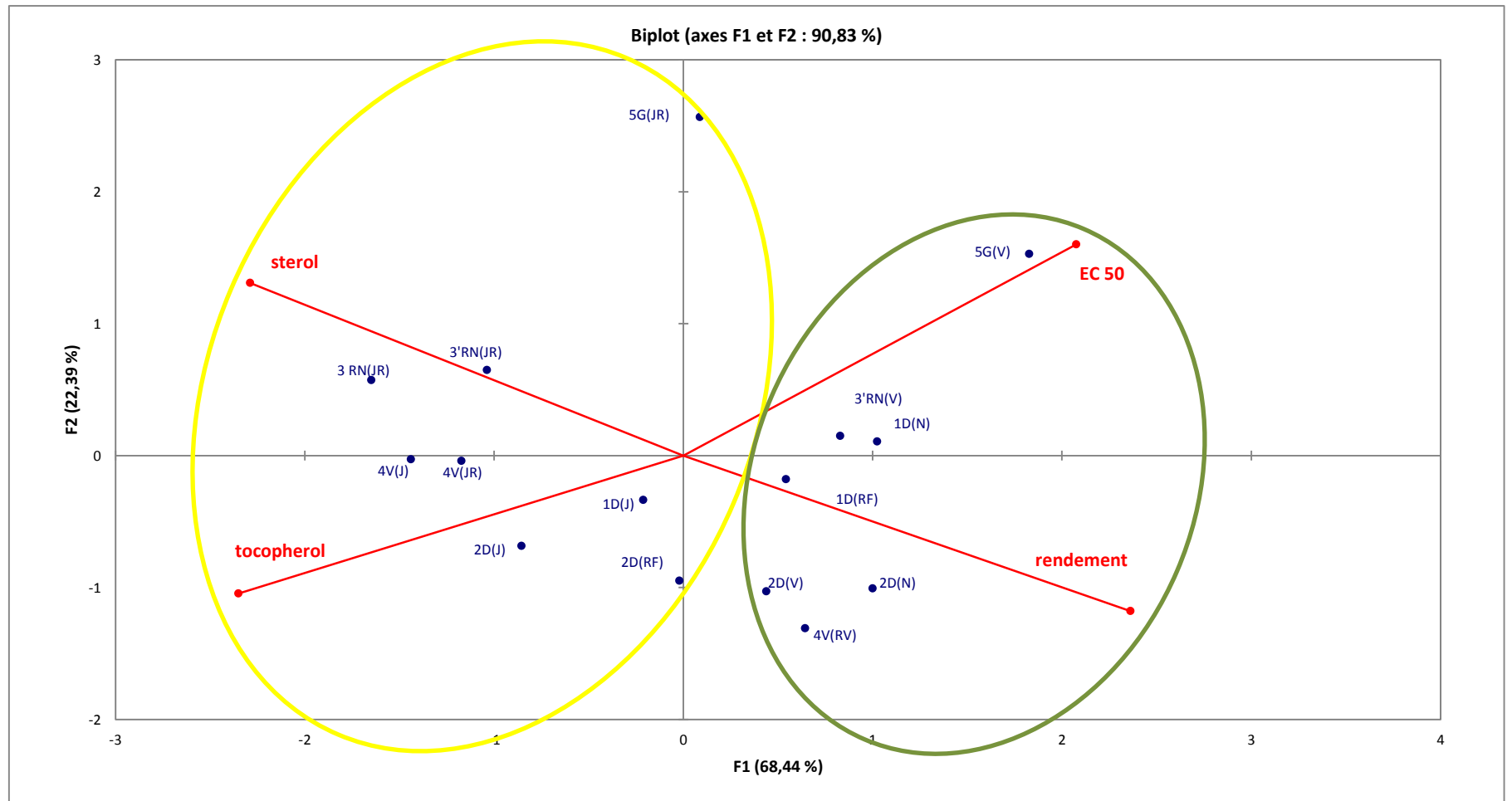


Figure 22 : Représentation graphique de la distribution des échantillons en fonction des 4 variables différentes.

II-2-6 Analyse quantitative des fractions insaponifiables

II-2-6-1 Taux de la fraction insaponifiable

Le taux de la fraction insaponifiable des huiles végétales est, généralement, faible. Il revêt une importance capitale à cause des composés essentiels (tocophérols, stérols, pigments, tri terpènes,...).

Concernant nos échantillons, les taux en insaponifiables les plus élevés obtenus sont 8,61%, 7,97 % et 7,11 % pour respectivement les échantillons 3'RN(JR) ,4V(JR) et 2D(J) (figure 23). Les autres échantillons ont des valeurs comprises entre 0,9 % et 5,6 %.

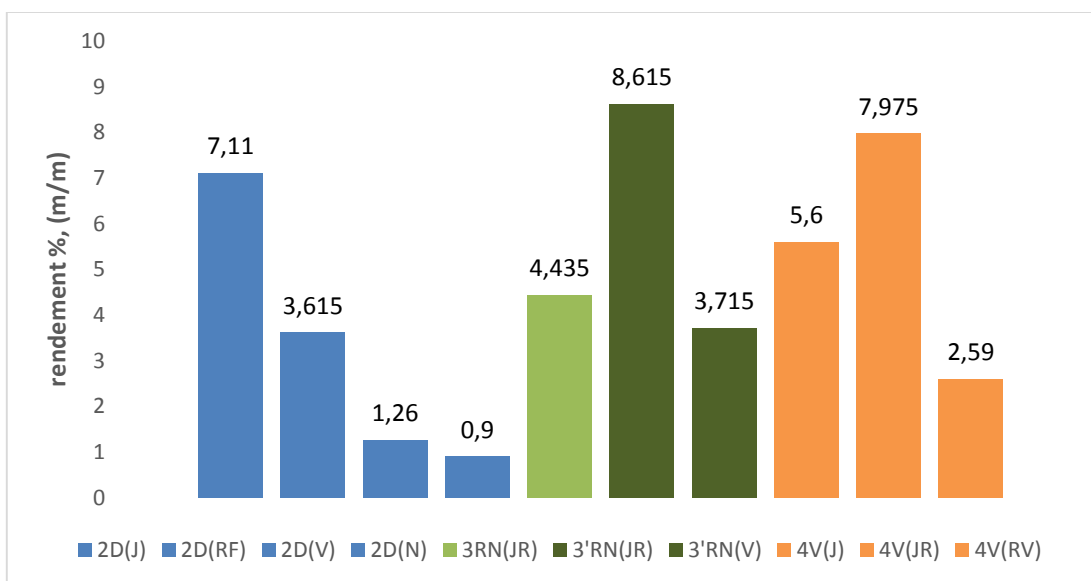
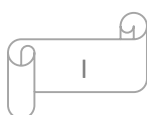


Figure 23 : Taux de la fraction insaponifiable des huiles de fruits de *Pistacia atlantica*.

Nos résultats indiquent globalement une variation du taux de la fraction insaponifiable selon la couleur des fruits et partant leur degré de maturité. Il semble que ce taux diminue avec la maturation des drupes. Ces données sont similaires à celles obtenues par Yousfi *et al.*, (2003) et Bentireche et Bellakhdar (2013).



II-2-6-2 Teneur des stérols et tocophérols totaux

Le tableau 9 résume les teneurs en stérols et en tocophérols totaux au niveau de la fraction insaponifiable. Les résultats sont exprimés respectivement en milligrammes équivalents de cholestérol et en milligrammes équivalents de vitamine E par gramme de matières insaponifiable.

Tableau 9 : Teneurs en stérols et en tocophérols totaux dans la fraction insaponifiable d'huile de fruits de *Pistacia atlantica*.

Echantillons immatures	Teneur (mg/g)	Echantillons matures	Teneur (mg/g)
Stérols			
2D(J)	98.26	2D(V)	225.9
3RN(JR)	287.52	2D(N)	169.31
3'RN(JR)	148.34	3'RN(V)	78.94
4V(J)	141.7	4V(RV)	112.12
4V(JR)	154.66	-	-
2D(RF)	81.92	-	-
Tocophérols			
2D(J)	6,61	2D(V)	12,18
3RN(JR)	28,05	2D(N)	10,03
3'RN(JR)	12,16	3'RN(V)	11,95
4V(J)	7,6	4V(RV)	19,13
4V(JR)	7,75		
2D(RF)	8,33		

D'une manière globale, nous ne constatons pas de variation significative de ces deux paramètres selon la couleur des fruits ou la date de cueillette encore moins selon l'emplacement géographique. Cette étude très préliminaire devrait être complétée ultérieurement.

Nous avons déterminé la proportion de l'ensemble stérols/tocophérols par rapport à la matière insaponifiable (Tableau 10) afin de déceler une éventuelle variation.

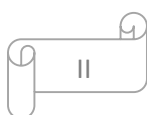


Tableau 10 : Pourcentages des stérols et tocophérols dans la fraction insaponifiable d'huile de fruits de *Pistacia atlantica*

Echantillon	Taux Stérols/Tocophérols (%)	Autre (%)
2D(J)	10,48	89,51
2D(RF)	9,03	90,96
2D(V)	23,80	76,19
2D(N)	17,93	82,06
3RN(JR)	31,55	68,44
3'RN(JR)	16,05	83,94
3'RN(V)	9,08	90,91
4V(J)	14,93	85,06
4V(JR)	16,24	83,75
4V(RV)	13,12	86,87

Nous remarquons une variation selon la couleur des fruits au niveau de deux arbres (2D et 3RN), mais elle n'est pas dans le même sens. Ceci pourrait refléter l'effet de facteurs propres à chaque arbre qui méritent des investigations plus approfondies. Les autres constituants de la fraction insaponifiable (pigments, hydrocarbures, alcools tri terpéniques,...) sembleraient être majoritaires. Ces constatations devraient être confirmées ou infirmées par des études complémentaires plus poussées.

II-2-6-3 Evaluation du pouvoir antioxydant des fractions insaponifiables des huiles de fruits de *Pistacia atlantica* par le test DPPH

Les graphes représentant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de la matière insaponifiable pour les trois arbres 2D, 3RN et 4V sont indiqués dans les figures respectives 24, 25 et 26.



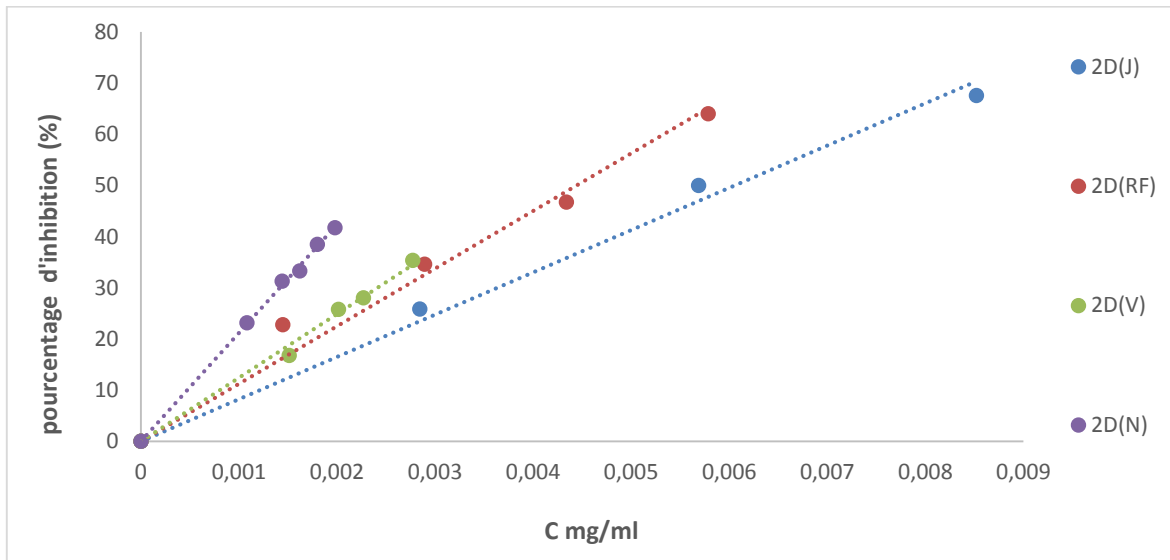


Figure 24 : Graphe représentant l'activité antioxydante des fractions insaponifiables des huiles de fruits de l'arbre 2D (même cueillette).

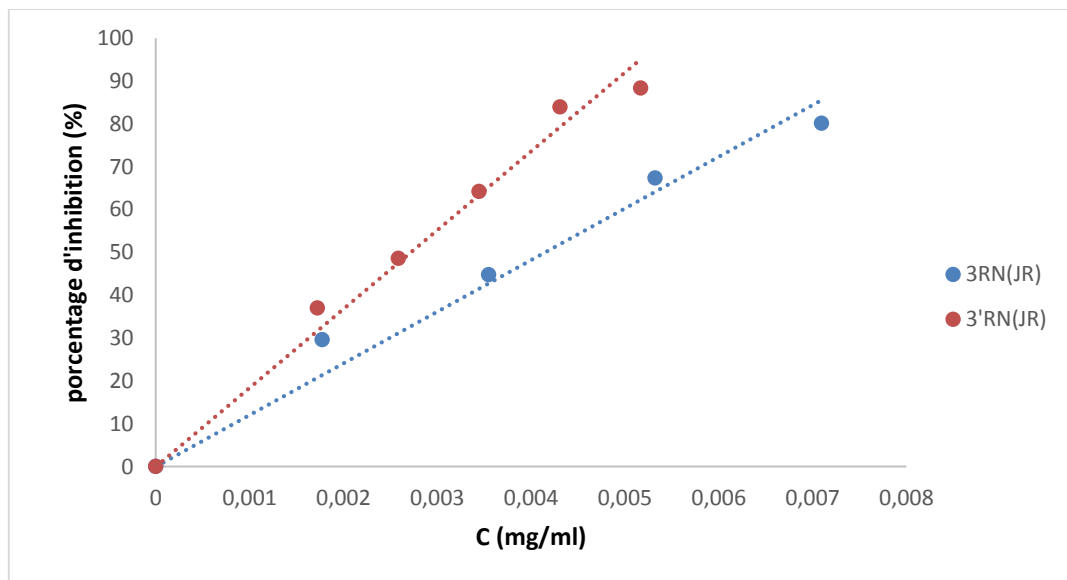


Figure 25 : Graphe représentant l'activité antioxydante des fractions insaponifiables des huiles de fruits de l'arbre 3RN de même couleur issus de deux cueillettes différentes.

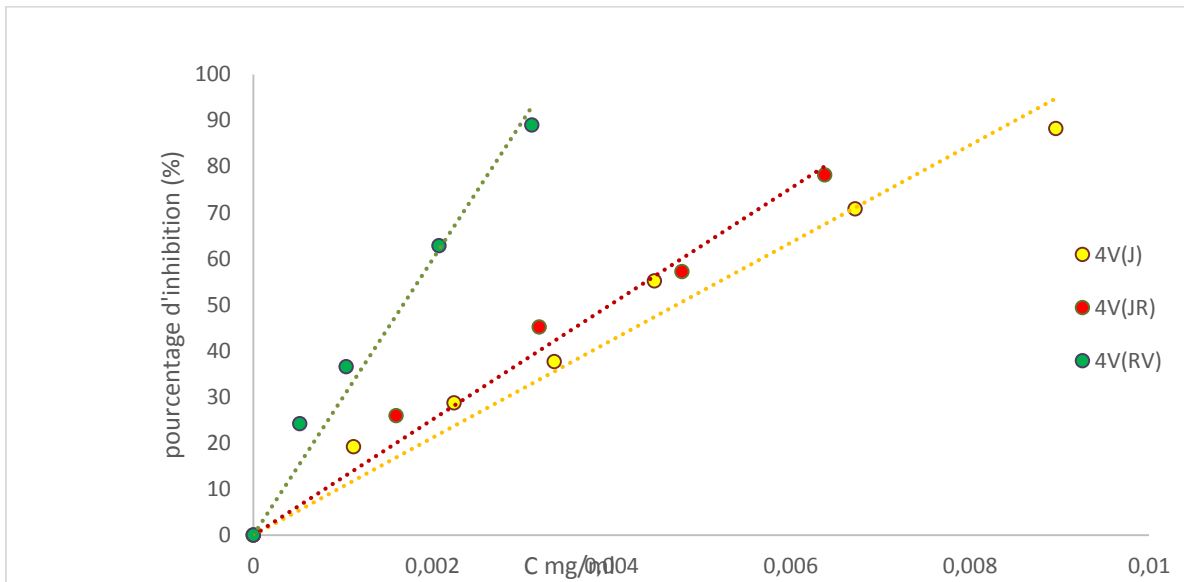


Figure 26 : Graphe représentant l'activité antioxydant des fractions insaponifiables des huiles de fruits de l'arbre 4V (même cueillette).

Ces figures montrent clairement que les fractions insaponifiables des échantillons matures ont le pouvoir antioxydant le plus élevé. Ceci est étayé par les valeurs de l'EC₅₀ (Figure 27) qui varient de 0,43±0,12 pour les drupes immatures à 0,27±0,1 mg/ml pour les drupes matures ($p < 0,05$).

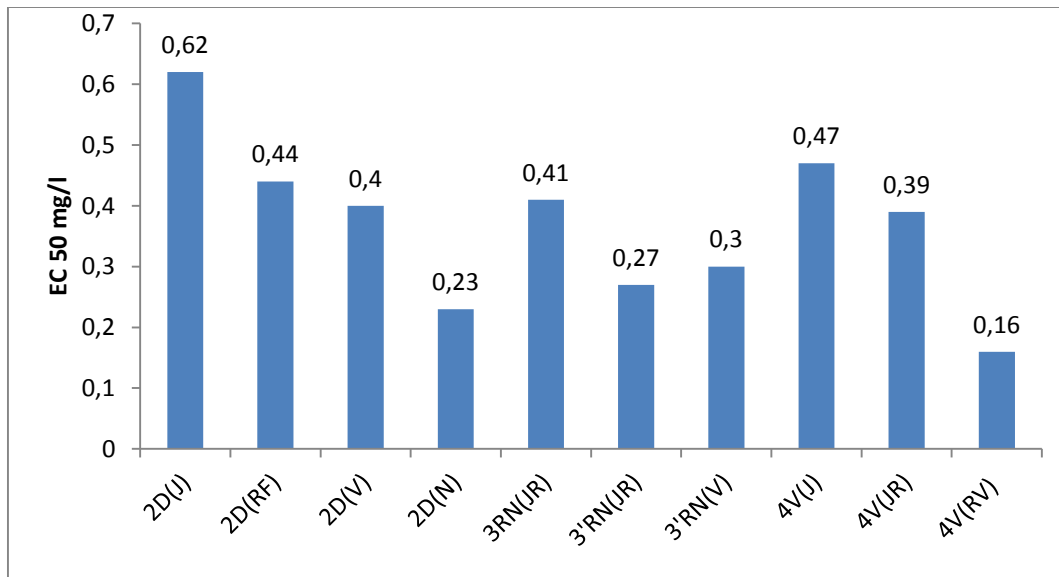


Figure 27 : EC₅₀ calculée pour les différentes fractions insaponifiables des huiles de fruits de maturité différente.

La régression linéaire entre les teneurs en tocophérols et les valeurs d'EC₅₀ pour les fractions insaponifiables est donnée en figure 28. Le coefficient de corrélation calculé est assez

appréciable ($r = -0,79$) indiquant un rôle des tocophérols dans l'activité antioxydante de la matière insaponifiable.

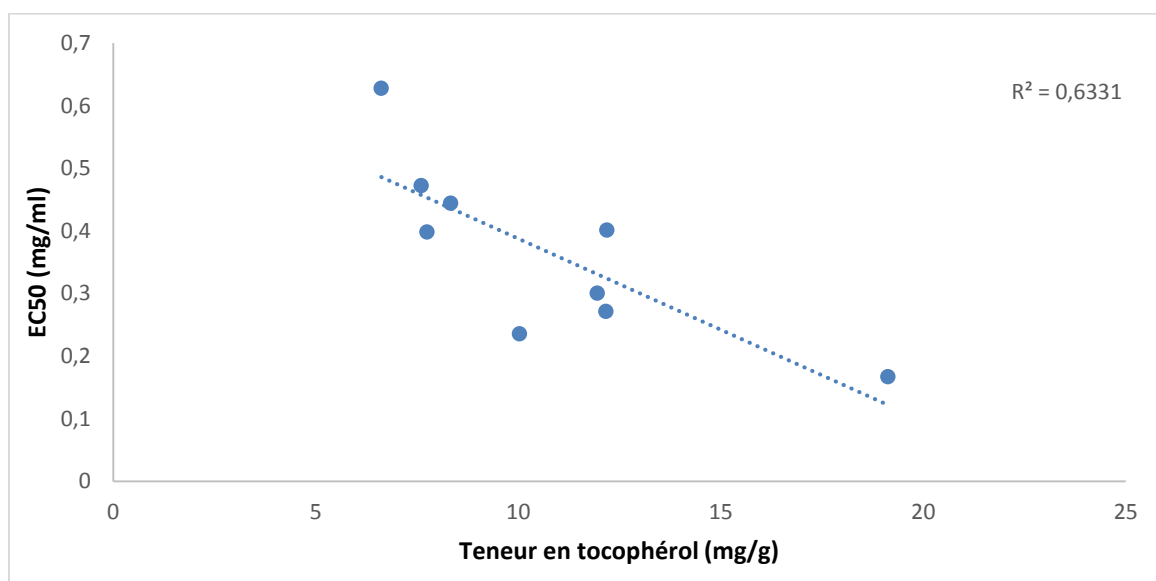


Figure 28 : Régression linéaire entre le taux de tocophérols et l'EC50 des différentes fractions insaponifiables.

En dernier lieu, nous notons avec un grand intérêt l'augmentation de l'activité antioxydante de la fraction insaponifiable en fonction de la maturation des fruits. Cette observation est à l'opposé de ce qui a été indiqué pour les huiles (coefficient de la corrélation négative entre EC50 de l'insaponifiable et EC50 de l'huile : $-0,67$). Ce constat extrêmement intéressant pourrait indiquer la présence de molécules très actives, qui restent à déterminer, dans l'insaponifiable de l'huile des fruits matures (couleur verte ou noir ou bien cueillis très tardivement).

Conclusion générale
Et Perspectives

Au terme de ce modeste travail, les conclusions suivantes peuvent tirées:

- ✓ Le rendement d'extraction de l'huile est faible pour les fruits immatures et il augmente au fur et à mesure de la maturation. Ainsi, plus les fruits sont matures plus le rendement d'extraction de l'huile est grand.
- ✓ La teneur en stérols et tocophérols totaux est plus marquée au niveau des fruits immatures par rapport aux fruits matures. En effet, plus les fruits sont cueillis précocement plus ils sont riches en stérols et tocophérols.
- ✓ L'étude de l'activité antioxydante, par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, des extraits huileux a montré que toutes nos huiles immatures possèdent un pouvoir antioxydant élevée par rapports aux huiles matures. Les huiles des fruits de la récolte précoce en mois de juillet ont les valeurs d'EC50 les plus petits d'où un pouvoir plus grand.
- ✓ L'étude de l'huile des fruits d'un arbre montagneux (région d'El-Ghaicha à 1380 m d'altitude) a montré des teneurs relativement basses en tocophérols et en stérols associées à une l'activité antioxydante la plus faible de la série. Ce résultat est rapporté pour la première fois.
- ✓ L'analyse des données par ACP établie sur la base de quatre variables (rendement, taux en stérols et en tocophérols totaux et l'EC50) a abouti à deux groupes distincts, mature et immature.
- ✓ Le taux de la fraction insaponifiable est en générale élevé dans les huiles extraites de fruits immatures et il diminue en fonction de la maturation.
- ✓ Contrairement à ce qui a été trouvé pour les huiles, l'activité anti radicalaire (DPPH) de l'insaponifiable des huiles des fruits matures est plus importante par rapport à celui d'échantillons immatures. Cette observation mérite de plus amples études.

Notre modeste contribution a apporté des informations complémentaires aux études précédentes. Toutefois, l'approfondissement de l'étude des molécules clés responsables des activités biologiques des extraits de cette plante ainsi que leur variation (qualitative et quantitative) au cours de la maturation des fruits de cet arbre est nécessaire pour appuyer nos constatations.

Références
Bibliographiques

B

Belboul, I., Adila, R. (2014). Activité antioxydante des huiles des fruits du Pistachier de l'Atlas, Université Amar Thédji, p 88.

Belhadj, S. (2001). Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. Centre. *Ciheam*. pp107-109.

Benhammou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, p 96.

Benrachou, N. (2012). Étude des caractéristiques et de la composition biochimique d'huile d'olive issus de trois cultivars de l'Est algérien, Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhetar Annaba, p30-34.

Bentirech, F., Bellakhdar, A. (2013). Étude des huiles des fruits du *Pistacia atlantica* Desf. Composition en acides gras et activité antioxydante, mémoire de Master, Université Amar Thédji, p 85.

Bereau, D. (2001). Huiles et fraction insaponifiables de huit espèces de palmiers amazoniens, thèse de doctorat, l'institut national polytechnique de Toulouse, P 51, 52,53.

Borg, J., Reeber, A. (2008). Biochimie métabolique, 2e édition, ellipses, p57-27

Boukeloua, A. (2009). Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologie d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (ANACARDIACEAE), mémoire de magister, Universté mentouri-constantine, P 10 -11.

Burke, R.W., Diamondstone, B. I., Velapoldi, R.A., Menis, O. (1974). Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak color reactions for cholesterol. *Clin. Chem.* **20** (7) 794-801.

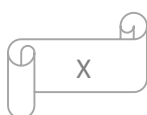
C

Cardeno, A., Marina, S., Marina, A., Catalina, A. (2014). Unsaponifiable fraction from extra virgin olive oil inhibits the inflammatory response in LPS-activated murine macrophages, *Food Chemistry*, **147**, pp 117–123.

Charef, M. (2011). Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus*, thèse de doctorat, Université kasdi merbah ouargla, pp71, 2011.

Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E, Faculté de Médecine Vétérinaire.

D



Daum-Badouard, C. (2008). Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme bio-marqueurs du stress oxydant et de l'inflammation, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier-Grenoble.

Denisov, E., Afanas'ev, I. (2005). Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology, *Taylor & Francis Group*, 992p.

E

Emmerie, A., Engel, C. (1939). Colorimetric détermination of tocopherol (vitaminE). II. Adsorption experiments, *Chim*, **58**, p283-289.

F

Farhoosh, R., Hossein, A., Kafrani, T., Shari, A. (2011). Antioxidant activity of the fractions separated from the unsaponifiable matter of bene hull oil, *Food Chemistry*, p 583–589.

Feriani, A., Alimi, H., Mbarki, S., El Feki, A., Allagui, S. (2012). Exploration des effets toxiques de la deltaméthrine sur la fonction rénale et évaluation de l'effet protecteur de la vitamine C. Congrès international, 226-227.

G

Ghalem, B., Benhassani, H. (2007). Etude des phytostérols et des acides gras de *Pistacia atlantica*, *Science*, **03**, p 405 – 412.

Guenane, H., Bombarda, I., Ould Elhadje, M.D., Yousfi, M. (2015). Effet of maturation degree on composition of fatty acids and tocopherols of oil from *Pistacia atlantica* growing wild in Algeria. Natural product communications. **10**(10) 1723-1728.

Guignard, J. (2004). Biochimie végétale, 2ème édition, *Dunod*, p 189,161.

H

Hamia, C. (2007). Contribution a la composition et à l'étude chimique de l'huile du fruit de l'Arganier " *Agania spinosa* ", mémoire de magister, Université Kasdi Merbah Ouargla, p 55, 56.

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

K

Kandji, N. (2001). Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal, Thèse de doctorat, Université cheikh anta diop de dakar, p 20, 21.

Karp, G., (2009). Biologie cellulaire et moléculaire, 3eme édition, *de boeck*.

Kathleen, M., Mayes, P. Oxydation biologique *in Murray., Bender., botham., Kennelly., rodwell., weil.* (2013). biochimie de harper, 5^{ème} Edition, *de boeck*, p147-149.

Kouidri, M. (2007). Extraction et caractérisation physico-chimique de l'huile d'argan provenant d'arbres cultivés dans deux régions de l'Algérie (Tindouf et Mostaganem), mémoire de magister, Université hassiba ben Bouali-chlef, p 22.

L

Lecerf, C. (2007). Phytostérols et phytostanols Quel bénéfice cardiovasculaire ?, *Institut Pasteur*, Lille.

Lecolly, P. (2007). Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux, édition John Libbey.

Loemba, N., Silou, T. (2006). Etude des alcools triterpiniques de la fraction insaponifiable de l'huile de la pulpe de safou (*Dacryodes Edulis*), *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, p 29-34.

M

Maamri, S. (2008). Etude de *Pistachia atlantica* de deux régions de sude algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileshmaniens, thèse de magister, Université M'hamed Bougara-Boumerdes, p 96.

Malki, F., Touati, A., Hamza, K. (2012). Effet des substituants sur l'activité antioxydant des anilides, p41.

Manjauze, A. (1980). Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica Desf.* biologie et forêt, *Revue for, française*, **04**, p 357-363.

Mesellem, Y. (2010). Etude phytochimique de *Odontospermum pygmaeum* (Asteraceae), p 22.

Molyneux. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Original article*, p 211-219.

Murray., Granner., Rodwell. (2008). Biochimie de harper, 3^{ème} édition, *de beock*, P882.

N

Noui, A. (2012). Identification de la fraction insaponifiable (stérols, tocophérols, polyphénols) de l'huile d'argan (*Argania spinosa* L. skeels), p23.

P

Petropoulos, I. (2009). Le vieillissement, *UPMC edition*, p 56-59.

R

Richard, D., Giraud, N., Pradere, F., Chevalet, P., Soubaya, T. (2010). *Biologie*, Dunod, p 178 - 187.

S

Samainiego, S.C., Quesada, G., Lopez, H., Deladrrana, M., Lopez, M. (2010). Beta-carotene, squalène and waxes determined by chromatographic method in Picual extra virgin olive oil obtained by new cold extraction system. *Journal of food Composition and Analysis* **23**, 671-676.

V

Valko, M., Rhodes, J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2003). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interact*, P160.

Voet, D., G. Voet, J. (1998). *Biochimie*, 2^{ème} édition, de boeck, p 278-284.

W

Weinman, S., Méhul, P. (2004). *Toute la Biochimie*. Paris, p 324-326.

X

Xiengfing, J., Robert, J., Grebenok, S., Behmer, T. (2013). Sterol/steroid metabolism and absorption in a generalist and specialist Caterpillar: Effects of dietary sterol/steroid structure, mixture and ratio, Department of Entomology, Cornell University, P 581.

Y

Yaaqobi, A., El-Hafida, L., Haloui, B. (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la region orientale du Maroc, *Biomatec Echo*, **03**, 6, p 39 – 49.

Yousfi, M., Nadjemi, B., Belal, R., Bombarda, I., Gaydoud, E-M. (2005). Triacylglycerol composition of oil from *Pistacia atlantica* of fruit growing in Algeria. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **82** (2): 93-96

Yousfi, M., Nedjem, B., R, Belal., Ben Bartal, D. (2003). Étude des acides gras d'huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien, **10**, 5-6, 425-7.

Z

Zielińska, A., Nowak, I., Mickiewicz, A. (2014). Tocopherols and tocotrienols as vitamin E. *Chimik.* **68**, 7, pp 585-591.

Les annexes

Annexe 1

✓ Les réactifs et les produits chimiques

- Acide acétique.
- Acide chlorhydrique (HCL).
- Acide sulfurique (H₂SO₄).
- Alpha –tocophérol (vitamine E).
- Anhydride acétique.
- Butanol.

- Chloroforme.
- Cholestérol.
- Diéthyléther.
- Ethanol absolu.
- Hexane.
- Hydroxyde de potassium (KOH).
- Méthanol.
- Phénantroline.
- Sulfate de sodium anhydride (Na_2SO_4).
- Trichlorure de Fer (FeCl_3).
- 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Annexe 2

✓ Matériel

- Ampoul à décanter 250 ml
- Ballon à fond rond 250 ml, 500 ml
- Bécher 50 ml
- Burette graduée 25 ml
- Cuvette (quartz et plastique)
- Entonnoire
- Eprouvette graduée 25ml, 250 ml

- Erlenmeyre de 50ml, 250 ml
- Fiol jaugée de 50 ml, 100 ml ,200 ml
- Micropipette
- Papier filtre
- Pipette pasteur
- Tube à essais
- soxlhet

✓ Equipements

- Agitateur magétique (Heidolph-MR 3001 K)
- Balance (KERN ABS)
- Chauffe ballon
- Hotte chimique (ASEM)
- Rotavapeur (BüCHI-R-200)
- Spectrophotometrie UV /visible (SHIMADZU UV 1601)
- Vortex (VELP scientifica)

Annexe 3

Test de Student :

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

Si la t calculée $\geq t$ lue sur la table, la différence entre les deux échantillons est significative.

Si la t calculée $< t$ lue sur la table, la différence entre les deux échantillons n'est pas significative.

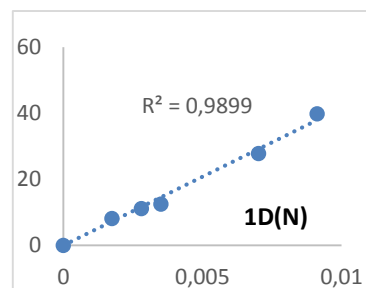
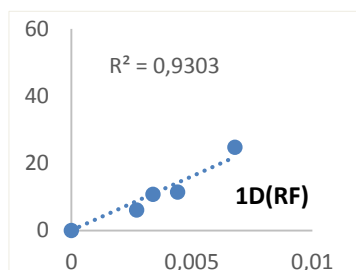
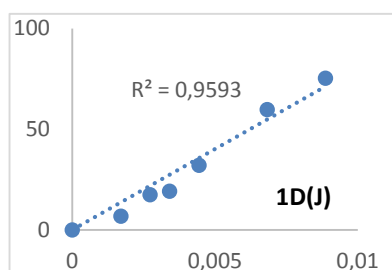
$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}}$$

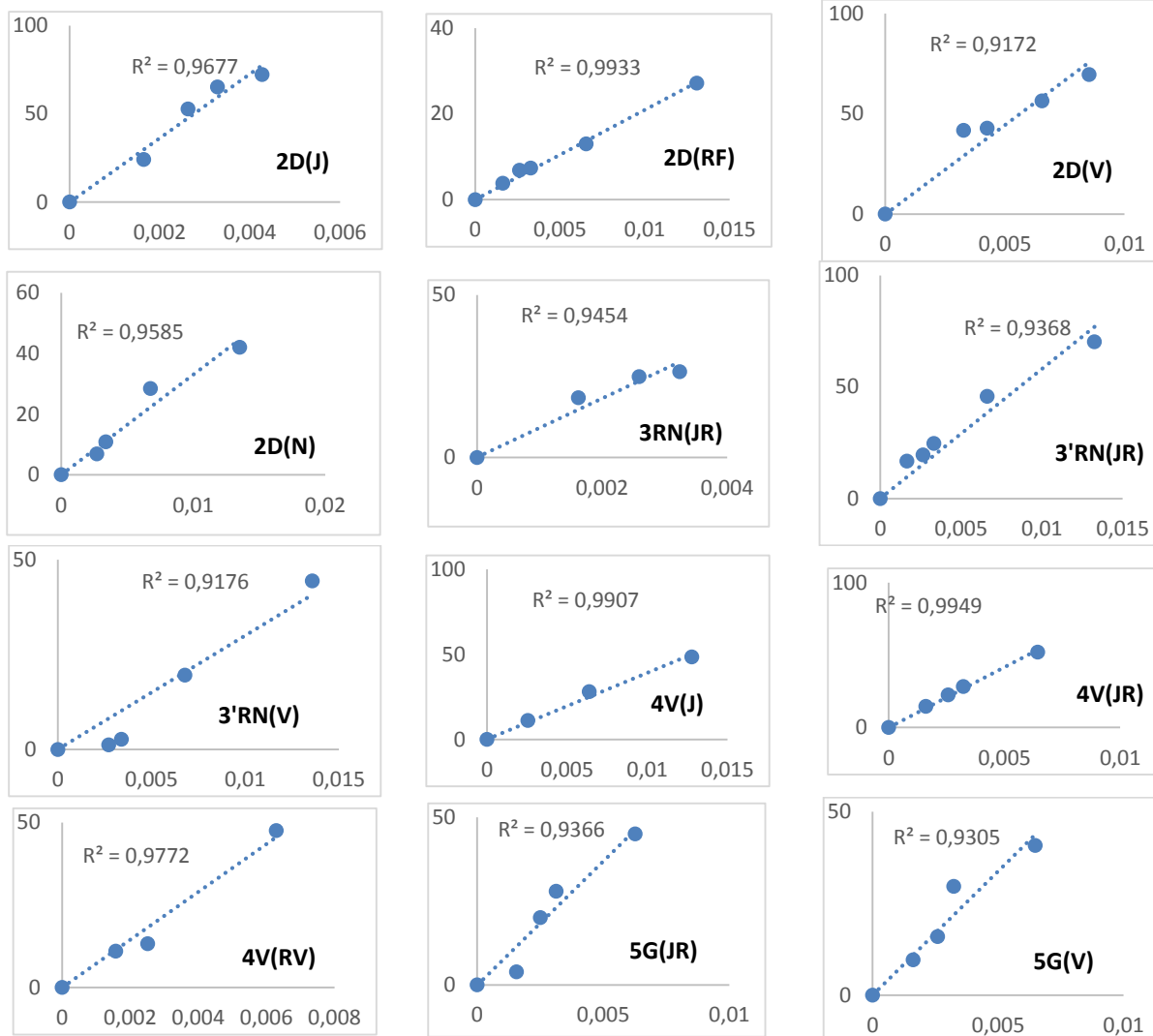
Table de loi de Student

α	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005	0.001	0.0005
1	1.000	1.378	1.963	3.078	6.314	12.71	31.82	63.68	127.3	318.3	636.6
2	0.816	1.061	1.386	1.888	2.920	4.303	6.965	9.925	14.09	22.33	31.60
3	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	7.453	10.21	12.92
4	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.778	3.747	4.604	5.598	7.173	8.610
5	0.727	0.920	1.156	1.478	2.015	2.571	3.365	4.032	4.773	5.893	6.869
6	0.718	0.908	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	4.317	5.208	5.959
7	0.711	0.898	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.029	4.785	5.408
8	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.308	2.898	3.355	3.833	4.501	5.041
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.282	2.821	3.250	3.690	4.297	4.781
10	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	3.581	4.144	4.587
11	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	3.497	4.025	4.437
12	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.428	3.930	4.318
13	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.372	3.852	4.221
14	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.326	3.787	4.140
15	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.286	3.733	4.073
16	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.252	3.686	4.016
17	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.222	3.646	3.965
18	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.197	3.610	3.922
19	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.174	3.579	3.883
20	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.153	3.552	3.850
21	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.135	3.527	3.819
22	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.119	3.505	3.792
23	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.104	3.485	3.767
24	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.091	3.467	3.745
25	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.078	3.450	3.725
26	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.067	3.435	3.707
27	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.057	3.421	3.690
28	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.047	3.408	3.674
29	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.038	3.396	3.659
30	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.030	3.385	3.646
40	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	2.971	3.307	3.551
50	0.679	0.849	1.047	1.299	1.676	2.009	2.403	2.678	2.937	3.261	3.496
60	0.679	0.848	1.045	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	2.915	3.232	3.460
80	0.678	0.846	1.043	1.292	1.664	1.990	2.374	2.639	2.887	3.195	3.416
100	0.677	0.845	1.042	1.290	1.660	1.984	2.364	2.626	2.871	3.174	3.390
120	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617	2.860	3.160	3.373
∞	0.674	0.842	1.030	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	2.807	3.090	3.291

Annexe 4

Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH en fonction de la concentration des extraits d'huiles pour chaque échantillon.





Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH en fonction de la concentration de la fraction insaponifiable pour chaque échantillon.

