

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



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie appliquée*

### THEME

---

**Etude de la composition et l'activité antioxydante  
d'extraits lipidiques de fruits, de feuilles et de  
galles de *Pistacia atlantica* Desf. de deux régions  
différentes de Laghouat.**

---

**Devant le jury :**

**Président :** YOUSFI Mohamed

**Rapporteur :** GUENANE Hamid

**Examineur :** BOUBRIMA Youcef

**Présenté par :** LAGGOUN Imane

KHENIFER Fairouz

**Soutenu publiquement le : 01/07/2019**

## RÉSUMÉ

Ce travail s'est concentré en premier lieu sur l'étude comparative de *Pistacia atlantica* de deux régions de Laghouat (Tilghimt, Aflou), à travers leur composition lipidique existante dans les feuilles, fruits et galles. Puis l'évaluation de leur activité antioxydante.

Les rendements des extraits huileux et leur composition en acides gras sont déterminés. Ainsi, les tocophérols totaux et les caroténoïdes contenus ont été quantifiés et leur activité antioxydante a été testée par deux tests (DPPH et FRAP). Des groupes distincts ont été obtenus après ACP.

Nos résultats montrent des valeurs variables selon la variation de l'organe végétatif d'une part, et selon plusieurs facteurs (Climat, degré de maturité des fruits, emplacement géographique de l'arbre ...) de l'autre part.

Concernant le rendement d'extraction, la valeur moyenne la plus élevée a été enregistrée pour les fruits de Tilghimt (**33,58±6,37%**). Pour la composition en acides gras, l'acide linoléique est plus pour les feuilles de Tilghimt (**25,92%±5,03%**) et l'acide oléique (**53,61%±2,9%**). Pour la teneur en tocophérol, la valeur la plus élevée a été enregistrée pour les extraits des feuilles de Tilghimt (**9049,04±2573,65mgEqVitE /100g**) et pour les caroténoïdes a été rapporté pour la première fois, la valeur la plus élevée des extraits des feuilles (**51,50±5,02mgqVitE/g**). Les extraits des feuilles ont la meilleure activité antioxydant où la valeur moyenne la plus élevée est enregistrée dans les échantillons d'Aflou. Aucune différence significative n'a été observée pour l'ensemble des paramètres entre les deux régions, sauf le rendement d'huile et la teneur en caroténoïde et l'activité antioxydante. Toutefois, des groupes distincts ont été obtenus après ACP.

L'ensemble de ces résultats contribuerait à mieux comprendre l'effet des facteurs environnementaux influents sur la composition et l'activité de ces extraits.

**Les mots clés :** *Pistacia atlantica*, huile, fruit, feuille, galle, tocophérol, caroténoïdes, antioxydant, facteurs climatiques.

## Abstract

This work focused primarily on the comparative study of *Pistacia atlantica* from two regions of Laghouat (Tilghimt, Aflou), through their lipid composition existing in leaves, fruits and galls. Then, the evaluation of their antioxidant activity.

The yields of the oily extracts and their fatty acid composition are determined. Thus, the total tocopherols and carotenoids contained were quantified and their antioxidant activity was tested by two tests (DPPH and FRAP). Separate groups were obtained after ACP.

Our results show a variable values by virtue of the vegetative organ on one hand, and to several factors (climate, degree of maturity of the fruits, geographical location of the tree...) on the other.

Concerning the extraction yield, the highest average value has been recorded to Tilghimt fruits ( $33.58 \pm 6.37\%$ ), for fatty acids composition, linoleic acid been more for the Tilghimt leaves ( $25.92\% \pm 5.03\%$ ) and oleic acid ( $53.61\% \pm 2.9\%$ ), and for the tocopherol content, the highest value was recorded for extracts of Tilghimt leaves ( $9049,04 \pm 2573.65$  mg EqVit E / 100g) and for carotenoids, the highest value of leaf extracts ( $51.50 \pm 5.02$ mgq VitE / g) was reported for the first time. Leaf extracts have the best antioxidant activity where the highest average value is recorded in Aflou samples. No significant differences were found for all parameters between the two regions except for the oily yield and carotenoid content and antioxidant activity. However, distinct groups were obtained after PCA.

All of these results would contribute to a better understanding of the effect of influencing environmental factors on the composition and activity of these extracts.

**Key words:** *Pistacia atlantica*, oil, fruit, leaf, gall, tocopherol, carotenoids, antioxidant, climatic factors.

## ملخص

ركز هذا العمل في المقام الأول على الدراسة مقارنة للفسق الأطلسي (*Pistacia atlantica*) من منطقتين من الأغواط (تيلغيمت، افلو) من خلال تكوين الدهون الموجودة في الأوراق والثمار والعفص. ثم تقييم نشاطها المضاد للأكسدة

تم تحديد عائد استخراج المستخلصات الزيتية وتكوينها من الأحماض الدهنية. وكذلك، تم قياس كمية توكوفيرول والكاروتينات الموجودة وتم اختبار نشاطها المضاد للأكسدة من خلال اختبارين (DPPH و FRAP). تم الحصول على مجموعات منفصلة بعد ACP.

تظهر نتائجنا قيماً متغيرة وفقاً لتغير العضو النباتي من ناحية، ووفقاً لعدة عوامل (المناخ، درجة نضج الثمار، الموقع الجغرافي للشجرة...) من ناحية أخرى.

فيما يتعلق بعائد الاستخراج، تم تسجيل أعلى قيمة متوسطة لثمار تيلغيمت ( $33.58 \pm 6.37$ )%. بالنسبة لتكوين الأحماض الدهنية، كان حمض اللينولينيك أكثر بالنسبة لأوراق تيلغيمت (25.92) %  $\pm 5.03$  (وحمض الأوليك  $53.61 \pm 2.9$ )%. بالنسبة لتوكوفيرول، تم تسجيل أعلى قيمة لمستخلصات أوراق تيلغيمت ( $9049.04 \pm 2573.65$  ملغ / 100غ) ولأول مرة سجلت بالنسبة للكاروتينات، أعلى قيمة لمستخلصات الأوراق ( $51.50 \pm 5.02$  ملغ/غ). تحتوي مقتطفات الأوراق على أفضل نشاط مضاد للأكسدة حيث يتم تسجيل أعلى قيمة متوسطة في عينات افلو. لم يلاحظ أي فروق ذات دلالة إحصائية لجميع المعلمات بين المنطقتين، باستثناء عائد الاستخراج ومحتوى الكاروتين والنشاط المضاد للأكسدة. ومع ذلك، تم الحصول على مجموعات منفصلة بعد ACP.

كل هذه النتائج ستسهم في فهم أفضل لتأثير العوامل البيئية المؤثرة على تكوين ونشاط هذه المستخلصات.

الكلمات المفتاحية: الفسق الأطلسي، الزيت، الثمار، الأوراق، العفص، توكوفيرول، الكاروتينات، مضادات الأكسدة، العوامل المناخية.

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail en signe de respect et de reconnaissance :*

*A mes très chers parents, Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos prières, vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*À mon très cher frère Mustapha*

*À mes ami(e)s de la Promo merci à tous je viens de passer des beaux souvenirs avec vous imane, isra, manal, Yasmine*

*À mes ami(e)s Hors de la Promo KHEDIDJA ET OMAR*

*À mon cher Abderrahmane Zerdani qui m'a toujours soutenu et encouragé.*

*À ma très chère sœur Rokaia.*

*Adorables, protecteurs, et bienveillants : vous avez toujours su être là et me soutenir dans les moments les plus heureux, comme les plus difficiles. Vous étiez et vous serez à jamais ma source d'inspiration, de joie, de sécurité et d'affection.*

*.... Zineb Fairouz*

# Dédicace

*Je tiens en premier lieu à remercier le bon dieu de m'avoir donné la  
fois, la force et le courage d'affronter toutes les difficultés.*

*Du fond de mon cœur et avec un énorme plaisir je dédie mon travail :  
A ma chère maman **Zineb** qui m'a donné la vie, le symbole de  
tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite. Merci  
Maman parce que tu m'as toujours encouragée même quand je voulais  
tout laisser tomber, merci parce que je savais que si quelque chose  
m'arrivait tu seras là à mes côtés, Merci d'être toujours avec moi dans  
mes jours difficiles sans se plaindre ...  
... Merci pour tout maman*

*A mon père **Khaled**, écolle de mon enfance, qui a été mon ombre  
durant toutes les années des études et mes jambes lorsque j'allais si  
mal, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner  
l'aide et à me protéger, qui m'a toujours tendu la main sans se  
soucier... quelle chance j'en ai d'être ta fille !!  
... Merci Papa*

*A mes frères **Hamza, brahîm ekhalîl, abdelkader, mohamed elhabib,**  
**youcef**  
A Ma sœur **kaltoum**  
À ma chère sœur **Chahinez***

*A ma chère binôme **Fairouz** qui m'a partagé les difficultés de ce travail  
A mes chers amis **Isra, Manel, Yasmine, Anfal, Maroua, Sanaa***

*...Imane*

## *Remerciements*

*En préambule à ce mémoire Nous souhaitant adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.*

*Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté de biologie département biochimie, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.*

*Nous tenant à remercier sincèrement Monsieur, **GuenaneHamid**, en tant qu'encadreur de mémoire, sa disponibilité, et sa largesse d'esprit, tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer, et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nous tenons aussi à remercier très chaleureusement **Melle Chelghoum manel** qui nous a permis de bénéficier de son Co-encadrement, et sa bonne maîtrise du sujet*

*Ses conseils qu'il nous a prodigué, sa patience, sa confiance qu'il nous a témoigné ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de recherche.*

*Nous tenant à remercier sincèrement également les membres du jury :*

***M. BOUBRIMA Youcef** et **M. YOUSFIMohamed**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements s'étendent également à nos professeurs du département des sciences biologiques pour leurs efforts durant notre cursus  
Mme Elhouiti Fatiha, M. OUENTEN Mohammed, M. BENACEUR Farouk,  
M. GOUZI Hicham, M. SIFI Ibrahim, M. HARRAT Mohammed et le chef  
département CHIBI Rachid.*

*Nous voudrions exprimer toute notre gratitude à tous le personnel et tous les doctorants du Laboratoire de recherche des Sciences Fondamentales Laghouat, grâce à leurs efforts, nous avons mené notre travail à bon port.*

# *Sommaire*

## Sommaire

Résumé  
dédicace

Remerciements

Sommaire

Liste des abréviations

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

*INTRODUCTION GÉNÉRALE* ..... 1

### première partie: synthèse bibliographique

#### Chapitre 1: Généralités sur le Pistachier de l'Atlas

I. Présentation du <i>Pistacia atlantica</i> .....	5
II. Systématique de l'espèce .....	5
III. Description botanique .....	6
IV. Aire de répartition du pistachier de l'Atlas .....	8
1. Dans le monde .....	8
2. En l'Algérie .....	9
V. Exigences écologiques .....	9
VI. Intérêt du pistachier de l'Atlas .....	10
1. Utilisation médicinale.....	10
2. Utilisation locale.....	10

#### chapitre 2 les huiles végétales

I. Composition chimique des huiles végétales .....	12
1. La fraction saponifiable.....	13
1. Les acides gras.....	13
1. Les acides gras saturés .....	13
2. Les acides gras insaturés .....	13
❖ Les acides gras mono insaturés .....	13
❖ Les acides gras polyinsaturés .....	14
2. Les Glycérides.....	14
2. La fraction insaponifiable.....	14
1. Tocophérols.....	15

2.	Les Stérols .....	16
3.	Pigments .....	16
❖	Chlorophylles .....	16
❖	Caroténoïdes .....	17
4.	Autres constituants .....	17

**chapitre 3 l' Oxydation et les antioxydants**

I.	Stress Oxydatif .....	20
1.	Définitions .....	20
2.	Origines du stress oxydatif .....	20
II.	Les radicaux libres : .....	21
1.	Définition .....	21
2.	Les différents types des ROS .....	22
3.	Sources de production des radicaux libres .....	24
4.	Système de défense antioxydante .....	25
❖	Système antioxydants enzymatique .....	25
❖	Système antioxydants non enzymatique .....	26
5.	Conséquences biochimiques du stress oxydant .....	27
❖	Peroxydation des lipides .....	27
❖	L'oxydation des protéines .....	28
❖	L'oxydation de l'ADN .....	28

**Deuxieme partie: étude experimentale**

**Chapitre 1 : Matériel et Méthodes**

I.	Cadre de l'étude .....	31
II.	Matériel biologique .....	31
III.	Produits chimiques : .....	33
IV.	Matériel et équipements : .....	34
V.	Extraction des huiles .....	35
VI.	Analyse des acides gras .....	35
1.	Préparation des ester méthyliques (EMAG) .....	35
2.	Préparation de la colonne .....	36
3.	Préparation de l'échantillon .....	36
4.	Élution .....	36
VII.	Analyse des esters d'acides gras par Chromatographie en phase gazeuse .....	36
VIII.	Analyse quantitative des fractions minoritaires des huiles .....	37

1. Dosage des tocophérols :.....	37
2. Dosage des caroténoïdes .....	37
IX. Evaluation de pouvoir antioxydant des extraits de Pistachier de l'Atlas.....	38
1. Test de piégeage d'un radical libre le DPPH.....	38
2. Le pouvoir réducteur FRAP (Ferric Reducing-Antioxydant Power) .....	39
VII. Analyse statistique .....	40
chapitre 2: Résultats et discussion	
I. Résultats et discussion .....	42
01. Teneur en huiles .....	42
02. Analyse des acides gras par CPG .....	45
3. Taux des tocophérols totaux.....	49
4. Taux des caroténoïdes .....	50
II. Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles des feuilles et des fruits du <i>Pistacia atlantica</i> .....	52
01. Test de piégeage d'un radical libre le DPPH.....	52
2. Détermination du pouvoir réducteur .....	54
III. Analyse des données pour l'ensemble des échantillons .....	56
1. Analyse des données relatives aux feuilles .....	56
2. Analyse des données relatives aux fruits.....	58
Conclusion et perspectives	
Références bibliographiques	
Annexe	

### Liste des abréviations

**ACP** : Analyses des Composantes Principales.

**AG** : Acide gras.

**AGI** : Acide gras insaturé.

**AGMI** : Acide gras mono insaturé.

**AGPI** : Acide gras polyinsaturé.

**AGS** : Acide gras saturé.

**CAT** : Catalase.

**CLHP** : Chromatographie Liquide Haute Performance.

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse.

**DPPH** : Diohényl-2-picryl hydrazyl.

**EAG** : Equivalent en Acide Gallique.

**EC50** : *Efficient Concentration* (Concentration inhibitrice 50%).

**EE** : Equivalent en vitamine E.

**EMAG** : Ester Méthylique d'Acide Gras.

**ERN** : Espèce réactive de l'azote.

**ERO** : Espèce réactive de l'oxygène.

**F** : Feuille.

**FID** : détecteur à ionisation de flamme.

**FRAP** : Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (*FerricReducing /AntioxidantPower*)

**Fr** : Fruit.

**G** : Galles.

**GPX** : Glutathion peroxydase.

**H** : Huile

**L\*** : Radical de lipide.

## Liste des abréviations

---

**LOO\***: Radical peroxy.

**LOOH**: Hydroperoxydes

**NADPH**: Nicotinamide adenine dinucleotide

**NO\***: Monoxyded'azote.

**ONOO\***: Peroxynitrite.

**ONOOH**: Nitroperoxyde.

**ROO\*** ou **LOO\*** : Radicaux pyroxye.

**SOD** : Superoxydedismutase.

**Toc** : Tocophérol.

**VF** : Vert foncé

**NR** : Noir rougeâtre

**N** : Noir

**RJ** : Rouge jaunâtre

**TG** : Triglycéride

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Photographie illustrant l'arbre de Pistachier de l'Atlas ( <i>Pistacia atlantica</i> Desf).....	5
<b>Figure 2 :</b> Les feuilles du <i>Pistacia atlantica</i> (photo originale prise par Ms Jokhdem khaled, 2018) ....	7
<b>Figure 3:</b> Les fruits du <i>Pistacia atlantica</i> ( photo originale prise par Ms Jokhdem khaled ,2018).....	7
<b>Figure 4:</b> Les gales semi circulaires du <i>Pistacia atlantica</i> (photo originale, 2018). ....	8
<b>Figure 5:</b> Carte de distribution du Pistachier d'Atlas ( <i>Pistacia atlantica</i> ) dans le monde (Zohary, 1952).....	8
<b>Figure 6:</b> Aire de repartions du <i>Pistacia atlantica</i> en en Algérie (Monjauze, 1980). ....	9
<b>Figure 7 :</b> Constituants des huiles végétales. (Jahouach, 2002). ....	12
<b>Figure 8:</b> Structure chimique de base des tocophérols (T) (Zielinska <i>et al.</i> , 2014).....	15
<b>Figure 9:</b> Structure chimique de base des tocotriénols(T3)(Zielinska <i>et al.</i> , 2014) .....	15
<b>Figure 10:</b> Structure chimique de base de la chlorophylle (Zielinska <i>et al.</i> , 2014).....	17
<b>Figure 11:</b> Structure de quelques caroténoïdes (Roberfroid, 2002). ....	17
<b>Figure 12:</b> La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006). ....	21
<b>Figure 13:</b> Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Heuett et Periwal., 2010) .....	22
<b>Figure 14:</b> Sources de production des radicaux libres (Heuett et Periwal., 2010) .....	24
<b>Figure 15 :</b> Emplacement géographique des deux sites de collecte des différents arbres de <i>Pistacia atlantica</i> de la région de Laghouat (capture d'écran Google Earth 2019) .....	31
<b>Figure 16:</b> Les différentes couleurs des drupes de <i>Pistacia atlantica</i> (photo originale 2019).....	33
<b>Figure 17 :</b> Organigramme résumant la démarche expérimentale pour nos échantillons. ....	34
<b>Figure 18 :</b> Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneux, 2004).....	38
<b>Figure 19:</b> La réaction du test FRAP (Ferric reducing antioxydant power). ....	39
<b>Figure 20:</b> Aspect des extrais huileux des différents organes de <i>Pistacia atlantica</i> . ....	42
<b>Figure 21:</b> Comparaison du rendement d'extraction des huiles à partir des feuilles (F), des fruits (Fr) et des galles de <i>Pistacia atlantica</i> des sites de Tilghimt et d'Aflou.....	43
<b>Figure 22:</b> Courbe d'étalonnage de la vitamine E (mg/ml). ....	49
<b>Figure 23 :</b> Comparaison du taux de tocophérols totaux des huiles extraites à partir des fruits et des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> des sites de Tilghimt et d'Aflou.....	49
<b>Figure 24:</b> courbe d'étalonnage des caroténoïdes (mg/ml).....	51
<b>Figure 25 :</b> Comparaison de la teneur moyenne en caroténoïdes des huiles à partir des feuilles et des fruits de <i>Pistacia atlantica</i> de région de Tilghimt et d'Aflou. ....	51
<b>Figure 26 :</b> Graphe représentant l'activité antioxydante de la vitamine E par le test du DPPH (mg /ml). ....	53
<b>Figure 27 :</b> Comparaison de l'activité antioxydante des extraits huileux (feuilles - fruits) de <i>Pistacia atlantica</i> de région de Tilghimt et d'Aflou.....	53
<b>Figure 28:</b> Courbe d'étalonnage de Frap ( $\mu\text{mol/l}$ ).....	55
<b>Figure 29:</b> Comparaison du pouvoir réducteur des extraits huileux (feuilles- fruits) de <i>Pistacia atlantica</i> de région de Tilghimt et d'Aflou.....	55
<b>Figure 30:</b> Représentation graphique de la distribution des échantillons des feuilles en fonctions des paramètres étudiés. ....	57
<b>Figure 31:</b> Représentation graphique de la distribution des échantillons des fruits en fonctions des 8 variables différentes. ....	58

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Systématique du <i>Pistacia atlantica</i> .....	6
<b>Tableau 2</b> : Structure des tocophérols et tocotriénols (Zielinska <i>et al.</i> , 2014) .....	16
<b>Tableau 3</b> : Les principaux radicaux libres (Haton, 2005) .....	23
<b>Tableau 4</b> : Les données GPS et l'étage bioclimatique des deux sites.....	32
<b>Tableau 5</b> : Données climatiques enregistrées au niveau de la station météorologique de Hassi R'mel .....	32
<b>Tableau 6</b> : Données climatiques enregistrées au niveau de la station météorologique d'Aflou .....	33
<b>Tableau 7</b> : Composition en acides gras des huiles brutes des feuilles. ....	46
<b>Tableau 8</b> : Composition en acides gras des huiles brutes des fruits.....	47
<b>Tableau 9</b> : Matrice de corrélation de Pearson .....	56
<b>Tableau 10</b> : Matrice de corrélation de Pearson .....	58

***INTRODUCTION***  
***GÉNÉRALE***

### Introduction générale

Le monde prend de plus en plus conscience du potentiel médical et économique des ressources naturelles. Elles sont considérées comme une source pour la découverte de substances actives et nécessaires à la mise au point de future utilisation.

De par sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée Méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo-tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Arab et al., 2014**). Une des espèces végétales les plus importantes dans l'Algérie est Bêtoum ou le Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*). Elle est très répondeuse dans les régions semi-arides et arides (**Belhadj, 2001**).

La vie des végétaux est d'abord conditionnée par le climat. Elle est donc potentiellement sensible aux changements climatiques. Des études menées par Pannelli (**1993**) montrent l'effet des facteurs climatiques et saisonniers sur la qualité de l'huile d'olive.

Concernant *Pistacia atlantica*, une étude récente a montré l'impact des facteurs de l'environnement sur la composition et l'activité antioxydante d'extraits lipidique et phénolique de fruits, de feuilles et de gales (**Guersas, 2018**). Il est à indiquer que très peu de données sont disponibles sur les huiles des feuilles et gales de cette espèce. La plupart des travaux se sont concentrés autour de l'huile des fruits (**Yousfi et al., 2003, 2005 ; Benhasseini et al., 2007 ; Guenane et al., 2015** )

Notre étude est complémentaire à celle de M. Guersas (en ce qui concerne les extraits lipidique). Elle se distingue par des échantillons plus larges (de Tilghimt et d'Aflou) et par l'inclusion de nouveaux paramètres tels que la teneur en caroténoïdes et l'activité antioxydante, par le test FRAP, ajoutés aux paramètres déjà étudiés (acides gras, tocophérols et l'activité antioxydante par le test DPPH). Notre travail pourrait apporter des informations utiles sur les conditions environnementales associées à une meilleure composition et activité d'extraits du *Pistacia atlantica*.

Ce mémoire est constitué de deux parties :

- Une première partie, consacrée à une revue bibliographique, est constituée notamment d'une description botanique et de la répartition géographique de *Pistacia atlantica*. La composition

chimique et des propriétés des huiles végétales et rappel sur l'activité antioxydante et implication des antioxydants.

- La deuxième partie, c'est la partie pratique qui décrit premièrement la démarche expérimentale adoptée puis les résultats présentés et discutés dans le chapitre résultats et discussion suivie d'une conclusion.

# **Synthèse bibliographique**

**Chapitre 1 :**  
**Généralités sur le Pistachier**  
**d'Atlas.**

## I. Présentation du *Pistacia atlantica*

Le Pistachier de l'Atlas est un grand arbre qui peut atteindre 15m de hauteur et 1 m de diamètre caractérisé du point de vue écologique par une grande tolérance aux variations climatiques et s'accommode de tous les sols (Monjauze,1980).

Le nom commun de cette espèce se rapporte aux montagnes d'Atlas où elle se développe; elle est encore appelée bétoum en arabe, iggh en berbère.

Le genre *Pistacia* est représenté en Algérie par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terbinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Benhssaini et Belkhodja, 2004).



**Figure1:** Photographie illustrant l'arbre de Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf)

(Photos prise par Guenane H le 17 octobre 2009).

## II. Systématique de l'espèce

Systématique de l'espèce selon les données rapportées par la littérature (Zohary 1952 ; Harfouche *etal.* 2005 ; Thorne et Reveal, 2007 ; Al-Saghir et Poter ,2012).

*Pistacia atlantica* Desf est classé taxonomiquement de la façon suivante :

**Tableau1** :Systématique du *Pistacia atlantica*.

Règne	Végétal
Sous-règne	Viridiplantae
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.

### III. Description botanique

Le Pistachier de l'Atlas peut atteindre 15 à 20 m de l' hauteur dont la croissance est lente et ne produit qu'a partir de 5à 7 ans (**Benhssaini et Belkhodja, 2004**).

#### 1. La feuille

Les feuilles caduques, semi persistantes alternés à rachis finement ailé, irrégulièrement Imparipennées de 5 à 11 folioles impaires, les paires de nombre de 3 à 4 entières, oblongues Lancéolées 2,5 à 1,5cm (**Somon, 1987**).



**Figure 2** : Les feuilles du *Pistacia atlantica*(photo originale prise par Ms Jokhdem khaled,2018)

## 2. Les fruits

Les fruits sont appelés ELkhodiri par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé à maturité. Ce sont des drupes comestibles de la grosseur d'un pois, légèrement ovales et aplaties, riches en huile dense très énergétique, cette l'huile a un gout très proche de celui du beurre (Belhadj, 2001).



**Figure3:** Les fruits du *Pistacia atlantica*( photo originale prise par Ms Jokhdem khaled ,2018)

## 3. Les Galles

Une galle, appelée aussi cécidie, est une petite guêpe d'environ 5 mm de long sphérique et de 20à plus de 25 mm de diamètre verte puis brune, devenant véritablement dure comme du bois.

Elle peut avoir plusieurs structure différente : sphérique ou semi circulaire (Figure 4) (Dauphin, 1994)

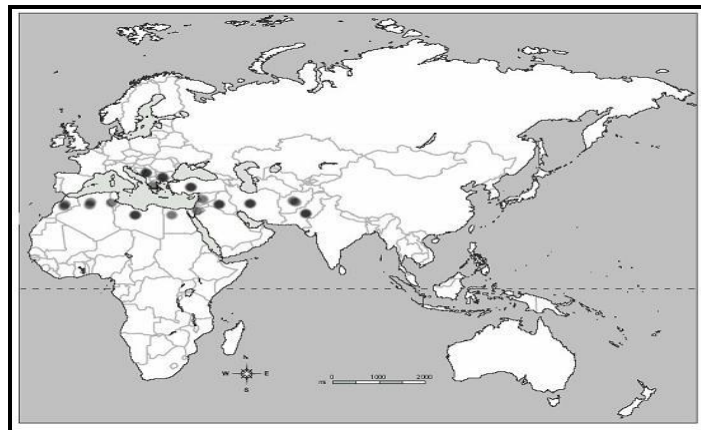


**Figure 4:** Les gales semi circulaires du *Pistacia atlantica* (photo originale, 2018).

### IV. Aire de répartition du pistachier de l'Atlas

#### 1. Dans le monde

*Pistacia atlantica* est l'une des espèces sauvages les plus répandues du genre. Il a occupé la région Méditerranéenne depuis les périodes climatiques sèches et froide du Miocène. Son aire de distribution est préférentiellement l'Afrique du Nord et également les Iles Canaries, la Lybie, Chypre et le proche et Orient (Zohary,1952 ; Quezel et Médail, 2003).

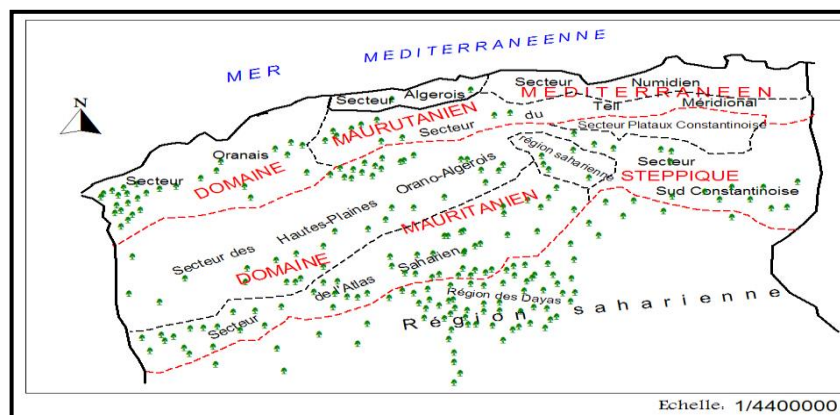


**Figure 5:** Carte de distribution du Pistachier d'Atlas (*Pistacia atlantica*) dans le monde (Zohary, 1952).

## 2. En l'Algérie

Plusieurs espèces endémiques de *Pistacia atlantica* colonisent le territoire algérien, ils se rencontrent dans la plupart des zones semi-aride ou steppiques, solitaire ou en association avec *Ziziphus lotus* Jujubier (cerdra en arabe local) (Benabderahmane *et al.*, 2009).

Existant dans la région de Djelfa (Senlba, Ain Oussera, Messaad), Laghouat (partie sud) et Ghardaïa (dans l'oued m'Zab) (Monjauze, 1980).



**Figure 6:** Aire de repartions du *Pistacia atlantica* en en Algérie (Monjauze, 1980).

## V. Exigences écologiques

*Pistacia atlantica* à une plasticité exceptionnelle vis-à-vis de la sécheresse atmosphérique pourrait être son caractère principal, elle résiste à des conditions les plus extrêmes. Cette espèce s'accommode de tous les sols, elle se contente d'une faible pluviométrie (Manjouze, 1980 ; Harfouche *et al.*, 2005).

## VI. Intérêt du pistachier de l'Atlas

### 1. Utilisation médicinale

Des parties de l'arbre feuille, fruit, galls sont largement utilisées comme antiseptiques et antifongiques, anti diarrhée et aussi dans la tannerie des peaux, l'écorce produit une résine mastique utilisée en industrie agro-alimentaire, la résine est également utilisée dans la production de colle (**Yousfi *et al.*, 2003**).

Les galls sont utilisées en poudre, seules ou associées au souchet rond comme anti diarrhéique et stomachique (**Ghalem et Mohamed, 2009**).

### 2. Utilisation locale

Les fruits donnent une excellente huile de table avec un rendement considérable de 55 % l'huile est souvent mélangée aux dates écrasées et peut être consommée à toute heure de la journée avec du petit lait, elle a un gout très proche de celui de beurre, elle est très appréciée dans la région, les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes (**Belhadj, 2001; Maamri, 2008**).

# **Chapitre 2 :**

## **Les Huiles végétales**

### I. Composition chimique des huiles végétales

Les huiles végétales sont composées d'une grande variété de constituants et leurs compositions chimiques sont représentées par des fractions appelées fractions saponifiable (98-99%) et insaponifiable (1-2%) (Morinet *al*, 2012).

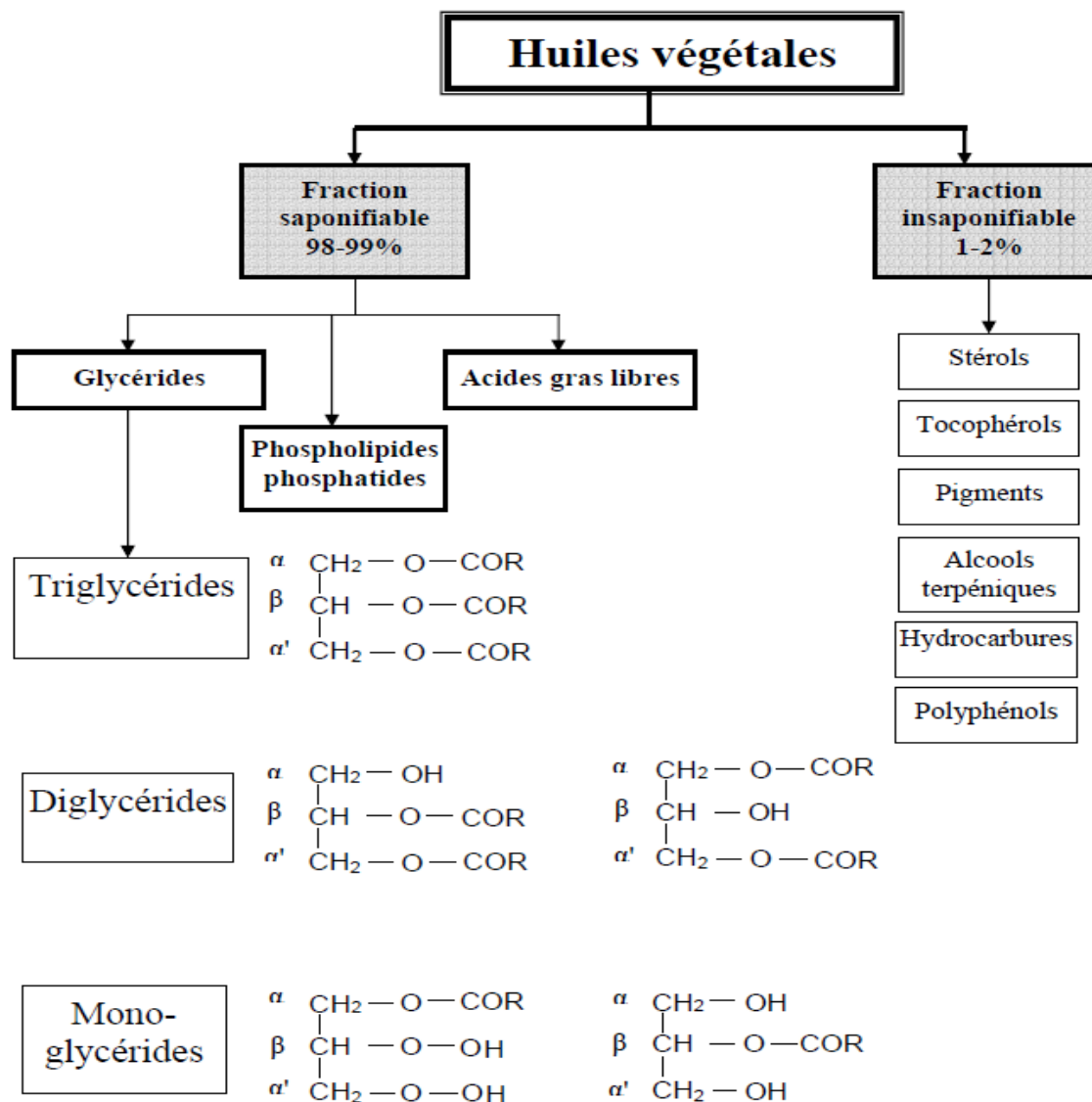


Figure 7 : Constituants des huiles végétales. (Jahouach, 2002).

## 1. La fraction saponifiable

Cette fraction est formée de deux constituants, les triglycérides et les acides gras, chaque huile est caractérisée par la composition en acides gras de l'espèce végétale dont elle est extraite.

### 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 de différents lipides, la plupart des acides gras naturels présentent les caractères communs suivant :

- La chaîne linéaire avec un nombre pair de carbones
- Saturés ou insaturés avec un nombre de double liaisons maximal de 6 (Voet et G. Voet, 1998).

### 1. Les acides gras saturés

Les acides gras saturés sont des molécules peuvent être construits à partir de l'acide acétiques considéré comme première terme d'une série dans laquelle des CH<sub>2</sub> sont progressivement ajoutés entre les groupements terminaux CH<sub>3</sub> et COOH ils peuvent prendre des conformations variées en raison de leur liaison carbone-carbone, les principaux acides saturés dans huiles végétales sont acide palmitiques (C16) et l'acide stéarique (C18)(Kandji,2001;Murray *et al.*, 2013).

### 2. Les acides gras insaturés

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

Ils sont fluides à température ambiante et sont classés en deux catégories :

#### ❖ Les acides gras mono insaturés

Ce sont des acides qui contiennent une seule saturation mono insaturée, ils sont linéaires, avec deux chaînes hydrocarbonées donne lieu à deux types d'isomères (l'isomère Cis et Trans (Kandji, 2001).

### ❖ Les acides gras polyinsaturés

Ce sont des acides qui contiennent plusieurs insaturations, et qui se distinguent les uns des autres par le nombre et la position de l'insaturation, il existe deux familles d'acides gras polyinsaturés essentiels, nommés n-3 (ou oméga-3) et n-6 (ou oméga-6) par rapport à la position de la dernière double liaison et à C terminale (Siret, 2004).

## 2. Les Glycérides

Les glycérides, ce sont des esters du glycérols et d'acides gras (un, deux ou trois acides gras). Selon le nombre d'acide gras combinés au glycérol, on distingue les mono glycérides, les di glycérides et les triglycérides (Naudet, 1992).

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

- Les triglycérides simples (homogènes)
- Les triglycérides mixtes (hétérogènes)(Voet et G. Voet, 1998).

## 2. La fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable d'un corps gras correspond à l'ensemble de ses constituants qui après hydrolyse basique (saponification), sont très peu soluble dans l'eau et solubles dans les solvants organiques.

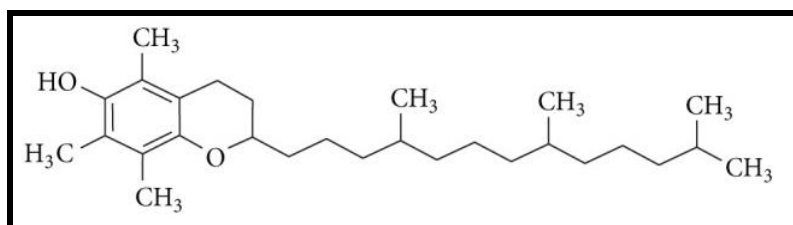
Généralement, la fraction insaponifiable des huiles contient des molécules de haut poids moléculaire, non volatils, possédant une solubilité faible dans les solvants aqueux, des hydrocarbures et des carotènes (37%) des tocophérols (7%) , des alcools triterpéniques (20%) , des méthyl-stérols et stérols (20%) et des xanthophylles (6%) (Charrouf, 1984).

### 1. Tocophérols

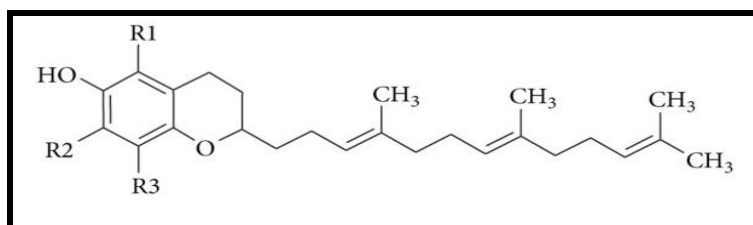
Sont des composés minoritaires des lipides qui jouent un double rôle, ils disposent d'un pouvoir vitaminique important et possèdent également des propriétés antioxydants. Sa forme naturelle inclut quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ . La forme alfa tocophérol est la plus active parmi les autres formes de cette vitamine (Mates, 1999 ; Carr *et al.*, 2000).

Sur le plan structural, les tocophérols sont des dérivés méthyliques du tocol,(2-méthyl -2 (4',8',12'-triméthyl-tridecyl-chroman-6-ol).La structure chimique des tocophérols se compose d'un cycle chromanol mono-, di- ou tri-méthyle auquel se trouve rattachée une chaîne carbonée latéral 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 une chaîne carbonée latéral, mais celle-ci contient 3 doubles liaisons en position 3'7' et 11' (Cuvellier *et al.*, 2003 ; Zielinska *et al.*,2014)



**Figure 8:** Structure chimique de base des tocophérols (T) (Zielinska *et al.*, 2014)



**Figure 9:** Structure chimique de base des tocotriénols(T3) (Zielinska *et al.*, 2014)

Nom	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Tocol	H	H	H
	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
	H	H	CH <sub>3</sub>

**Tableau 2:** Structure des tocophérols et tocotriénols (*Zielinska et al., 2014*)

## 2. Les Stérols

Les stérols des plantes, appelés phytostérols, sont des alcools stéroïdes, membres de la famille des terpènes, les phytostérols sont constitués d'un assemblage tétracyclique, les phytostérols ont une structure chimique similaire au cholestérol, il représente 20 à 60% de l'insaponifiable (*Cuvelier et al., 2004 ; Zhou et al., 2004*).

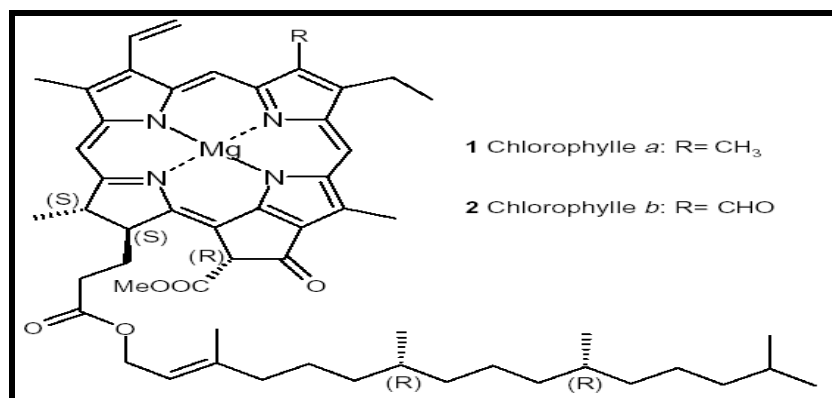
## 3. Pigments

Les principaux pigments naturels appartiennent à trois grandes catégories :

- Pigments porphyriniques, parmi lesquelles chlorophylles.
- Les caroténoïdes, parmi lesquels le  $\beta$ -carotène.
- Les flavonoïdes et leurs dérivés (*Zielinska et al., 2014*).

### ❖ Chlorophylles

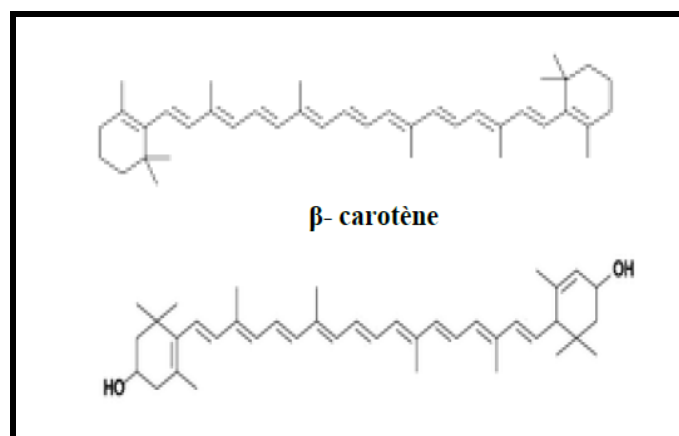
Les chlorophylles font partie d'un groupe de pigments tétra-pyrroliques elles sont caractérisées par un iso-cycle à cinq membres et par la présence d'un atome de magnésium complexé à leur centre, les plus répandues sont les chlorophylles "a" et "b", le maximum d'absorption des chlorophylles a et b se situe respectivement à 660 nm et 643 nm (*Zielinska et al., 2014*).



**Figure 10:** Structure chimique de base de la chlorophylle (Zielinska *et al.*, 2014)

#### ❖ Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels, largement répandus dans la nature, ils sont à l'origine de teintes brillante, jaune, orange et rouge, ce sont des tétra-terpènes provenant de l'évolution du lycopersène, ils comprennent les carotènes et les xanthophylles (Zielinska *et al.*, 2014).



**Figure 11:** Structure de quelques caroténoïdes (Roberfroid, 2002).

#### 4. Autres constituants

L'insaponifiable de lipides naturels, contient aussi à l'état des traces de petite quantité d'hydrocarbures (hydrocarbures aliphatiques saturés ou insaturé, hydrocarbures d'origine

terpénique, des acides gras cycliques et substitués, des minéraux et des composés phénoliques) (Noudet, 1992). Pour ces derniers, il a été mis en évidence, récemment, que l'huile de fruits de *Pistacia atlantica* en contenait d'une manière remarquable (Bentireche *et al.*, 2019).

**Chapitre 3 :**  
**L'oxydation et l'anti**  
**oxydation**

## I. Stress Oxydatif

### 1. Définitions

Le Stress Oxydant (SO) est actuellement défini comme un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense (**Sies et Jones, 2007**).

Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des ROS , ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (**Deaton, 2003**), provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neurodégénératives et des maladies cardio-vasculaires (**Ratnam et al., 2006**), l'organisme humain a développé des systèmes de défense pour traiter ce phénomène (stress oxydant) et lutter contre les espèces réactives qui sont préjudiciables à la vie humaine (**Prior et Cao, 1999** ).

Le stress oxydatif n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologie, un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré (**Mercan, 2010**).

### 2. Origines du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs prooxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques) (**Magder., 2006**) (Figure12).

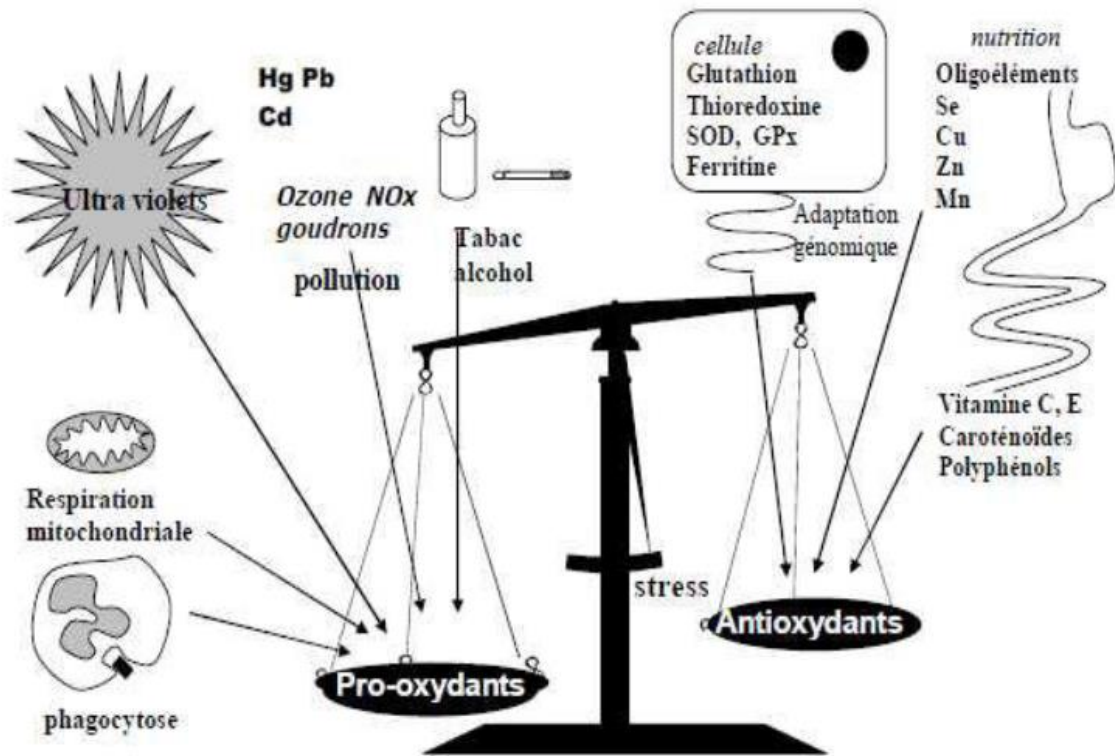
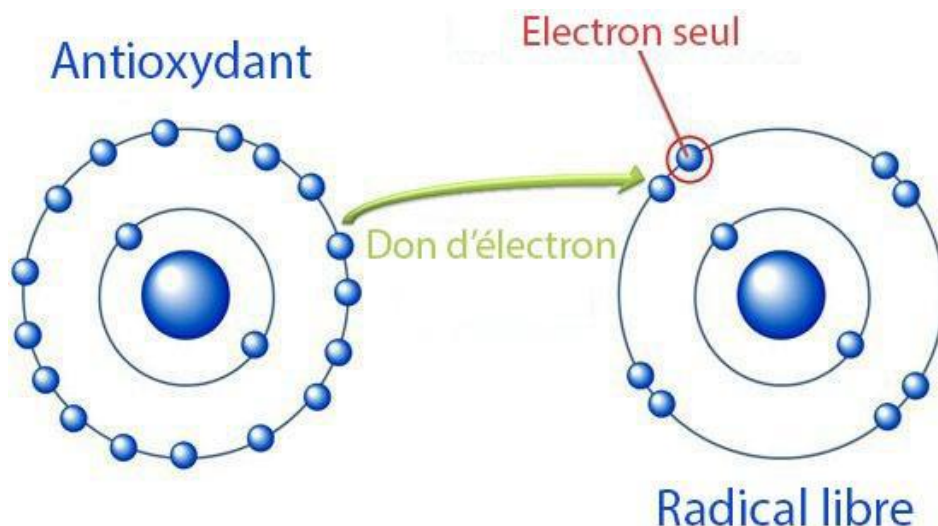


Figure 12: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

## II. Les radicaux libres :

### 1. Définition

Les radicaux libres sont des atomes, ou un groupe d'atomes avec un nombre impair d'électrons sur l'orbite extérieure, cet électron libre les rend très réactifs et instables sur le plan énergétique qui se forment en excès comme résultat du stress oxydatif (Naskar *et al.*, 2010). (Figure 13)



**Figure 13:** Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Heuett et Periwal., 2010)

Ces molécules se lient rapidement aux molécules non radicalaires à proximité résultant généralement en la formation de nouveaux radicaux la présence d'une faible concentration de ROS est importante pour le maintien d'un statut redox cellulaire normal, par contre une production excessive de ROS endommage les lipides (peroxydation des lipides), les protéines et l'ADN compromettant les fonctions cellulaires (Kohen et Nyska, 2002).

Les radicaux libres peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA), la présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices (Delattre *et al.*, 2005).

## 2. Les différents types des ROS

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes (Favier, 2003).

Les radicaux primaires, qui constituent un ensemble restreint de composés radicalaires et dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  et le radical hydroxyle OH, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO, les radicaux secondaires se forment par réaction des radicaux primaires.

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ou le nitroperoxyde ( $\text{ONOOH}$ ), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. (Tableau 3)

**Tableau 3 :** Les principaux radicaux libres (Haton, 2005).

Oxygène	<b><math>\text{O}_2</math></b>
Oxygène singulet	<b><math>^1\text{O}_2</math></b>
Anion super Oxyde	<b><math>\text{O}_2^{\bullet-}</math></b>
Radical hydroxyle	<b><math>\text{OH}</math></b>
Radical hydroperoxyde	<b><math>\text{HOO}</math></b>
Radical peroxyde	<b><math>\text{ROO}</math></b>
Hydroperoxyde	<b><math>\text{ROOH}</math></b>
Radical alkoxyde	<b><math>\text{RO}^{\bullet}</math></b>
Peroxyde d'hydrogène	<b><math>\text{H}_2\text{O}_2</math></b>
Radical oxyde nitrique	<b><math>\text{NO}^{\bullet}</math></b>

### 3. Sources de production des radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres, en effet les sources de radicaux libres sont variées :



**Figure 14:**Sources de production des radicaux libres (Heuett et Periwal., 2010)

#### a. Les facteurs endogènes

La principale source de ROS est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire elle produirait en effet 90% des ROS cellulaires, il existe de nombreuses autres sources parmi lesquelles l'auto oxydation des petites molécules, les cyclooxygénases et lipoxygénases, la xanthine oxydase et la NADPH oxydase, le réticulum endoplasmique et les peroxysomes (Heuett et Periwal., 2010).

#### b. Les facteurs exogènes

Sont également très variés, parmi les radiations ionisantes, ultraviolets, micro-ondes, les insecticides, antibiotiques, médicaments, les aliments riches en protéines et ou en lipides, les polluants, la fumée, le SO<sub>2</sub>, le NO<sub>2</sub>, le O<sub>3</sub>, les hydrocarbures, les métaux, l'arsenic, l'amiante, le nickel.....etc.) (Heuett et Periwal., 2010).

#### 4. Système de défense antioxydante

L'organisme à développer des systèmes de défense très efficaces contre la production des radicaux libre, les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme "antioxydant" (**Abuja et Albertini, 2001**).

Du point de vue biologique, les antioxydants sont des composés réducteurs capables de piéger des radicaux libres (**Murray et al.,2013**).On divise les antioxydants en deux grandes classes : Les antioxydants endogènes (enzymatiques) et les antioxydants exogènes (non enzymatiques). (**Baba et McGrath, 2008**).

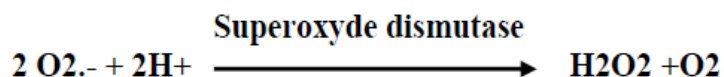
Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme telle que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase(GPX), toutes trois présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie .Ces enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de la santé (**Baba et McGrath, 2008**).

Les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation, on retrouve le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), le lycopène et les polyphénols, il y a aussi divers minéraux tels le zinc, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le fer (**Kohen et Nyska, 2002**).

#### ❖ Système antioxydant enzymatique

##### SOD

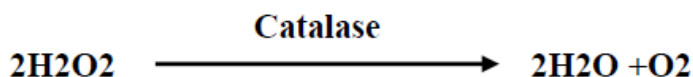
Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogéné peroxyde (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et en oxygène, dans l'être humain, il y a 3 isoformes des SOD à cofacteurs métalliques (Cu, Zn - SOD, Mn -SOD) (**Denisov et Afanas 2005**).



## CAT

La catalase est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans condition physiologiques (Niki *et al.*, 2007), elle est localisée essentiellement dans les peroxysomes et les hématies ( Valko *et al.*, 2006).

Elle permet de convertir les deux molécules de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> (Denisov et Afanas 2005)



## GPX

Une enzyme a cofacteur qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion /glutathion désulfite (GSH/GSSG) (Matés *et al.*, 1999 )



### ❖ Système antioxydants non enzymatique

#### β carotène

Le β carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 Pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés anti Oxydantes, le β-carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyyles HO• et Peroxydes ROO• et ainsi d'inhiber les chaines de peroxydations lipidiques, il neutralise Également l'oxygène singulet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, en outre le β-carotène, tout comme l'α-carotène Sont des caroténoïdes précurseurs de la vitamine A (Beaudeau et Geneviève, 2011).

## La vitamine E (Le tocophérol)

Le Tocophérol, est appelé aussi Vitamine E (Wang et Quinn, 2006), il est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme, situé dans les lipoprotéines et dans les membranes, il est capable d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulier en s'oxydante quinone, et d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle HO, mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes ROO pour former un radical tocophéryle (Dellatre, 2005).

### 5. Conséquences biochimiques du stress oxydant

Le stress oxydatif entraîne une quantité excédentaire d'oxygène (ERO) qui conduit à des dommages oxydatifs à l'ADN, protéines, lipides. (Tomomi *et al.*, 2017), mais aussi a des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Harris, 2002).

#### ❖ Peroxydation des lipides

L'oxydation des lipides polyinsaturés, en présence d'oxygène, est un processus radicalaire de réactions en chaîne, connue sous le nom de peroxydation lipidique (Favier, 2003).

#### La réaction non enzymatique se déroule en plusieurs étapes :

**L'initiation** : un acide gras polyinsaturé 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.

**Lastabilisation**: il y a formation d'un dièneconjugué RO<sub>2</sub>- par coordination avec molécule d'oxygène

**La propagation** : lesalkoxy-et peroxy -radicaux propagent l'oxydation par l'intermédiaire des RO<sub>2</sub>.

**La terminaison :** la réaction en chaîne se termine au moment de la recombinaison de 2 diène ou s'il y a réduction des hydroperoxyde par le 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).

#### ❖ L'oxydation des protéines :

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA , les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine, toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus , pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes, la plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non- reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique),les modifications chimiques des acides aminée des protéines, soit par l'action des radicaux soit à la suite d'une réaction avec le produit de la peroxydation lipidiques induit par un radical, produisent des protéines qui sont reconnues comme étrangères par le système immunitaire , les anticorps qui vont être alors produits vont être capable de réaction croisée avec les protéines tissulaire normal et seront à l'origine d'une maladie auto-immune ( Murray *et al.* ,2013).

#### ❖ L'oxydation de l'ADN

Les espèces réactives et plus particulièrement le radical hydroxyle (HO), peuvent induire des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou double brins) ou bien altérer les systèmes de réparation , les ERO peuvent induire notamment des oxydations, des nitrations ou des méthylations des bases, ces modifications vont ainsi perturber la transcription et la traduction par la suite, aboutissant à la formation d'une protéine tronquée et ou non fonctionnelle, ces altérations sont souvent à l'origine des phénomènes de mutagénèse, carcinogénèse ou encore de vieillissement prématuré (Valko *et al.*, 2006).

**Deuxième partie :**  
**Etude expérimentale.**

# **Chapitre 1 :**

## **Matériel et Méthodes**

## Matériel et méthodes

### I. Cadre de l'étude

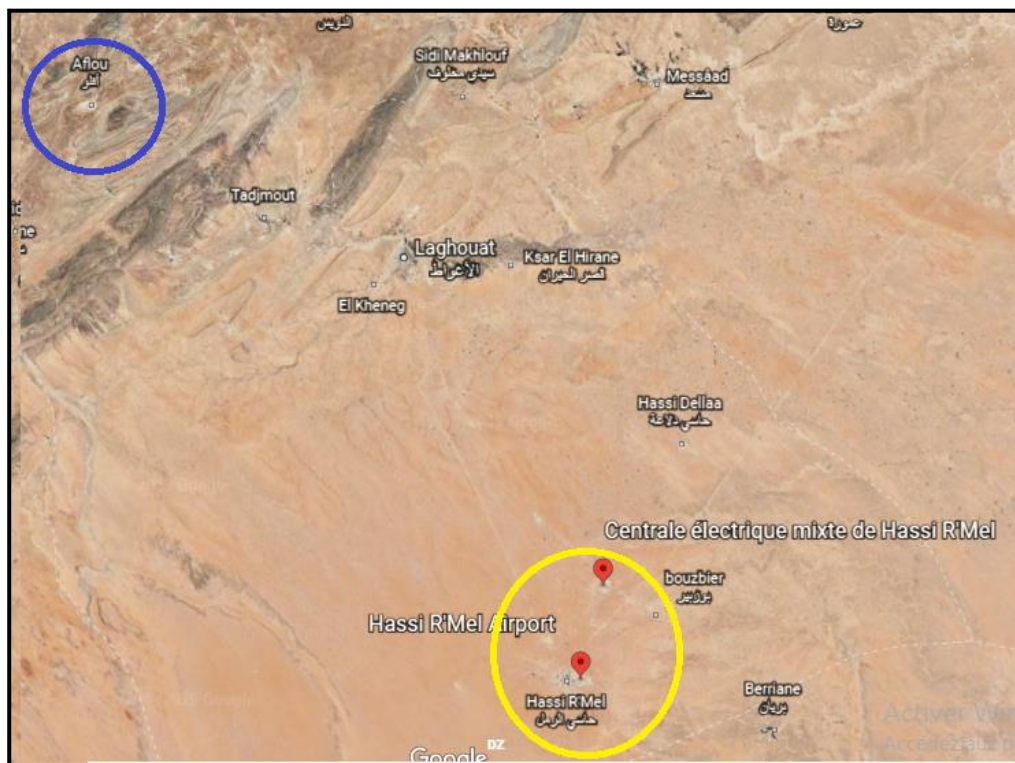
Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de recherche des Sciences Fondamentales Université Amar Teledji -Laghouat.

Il s'articule autour de l'étude de l'effet des facteurs de l'environnement sur la composition et l'activité antioxydante des huiles extraites de fruits, feuilles et galls de Pistachier de l'Atlas de deux sites différents de la région de Laghouat à savoir Tilghimt (Hassi R'mel) et Aflou.

### II. Matériel biologique

#### I. La collecte

Les échantillons utilisés sont collectés au début du mois d'octobre 2018 à partir d'arbres de deux sites géographiques différents (Figure 16). Les données GPS et l'étage bioclimatique sont indiqués dans le Tableau 4.



**Figure15** :Emplacement géographique des deux sites de collecte des différents arbres de *Pistacia atlantica* de la région de Laghouat (capture d'écran Google Earth 2019)

**Tableau 4:** Les données GPS et l'étage bioclimatique des deux sites.

Site	Arbre	Longitude	Latitude	Altitude	Etage bioclimatique
<b>Aflou</b>	1	2° 01'05"E	33°42'35"N	1351m	Semi aride
	2	2°01'45" E	33°59'15"N	1419m	
	3	2°01'51"E	+33°58'48"N	1426m	
<b>Tilghimt</b>	Arbres (5)	3°21'16,07 "E	33°09'17,84" N	736m	Aride

Les données météorologiques des deux sites sont présentées dans les tableaux 5 et 6.

**Tableau 5:** Données climatiques enregistrées au niveau de la station météorologique de HassiR'mel

Année	Mois	T moyenne en °C	Précipitation (mm)
<b>2018</b>	Janvier	9,3	/
	Février	9,1	/
	Mars	14,6	/
	Avril	17,7	/
	Mai	21,6	/
	Juin	28,2	0
	Juillet	35,3	0
	Aout	28,3	26,6
	Septembre	26,3	4,4
	Octobre	18,5	/
	Novembre	12,8	/
	Décembre	10,2	/

(/) indique que les précipitations pour le mois correspondant n'ont pas été obtenues.

**Tableau6:** Données climatiques enregistrées au niveau de la station météorologique d'Aflou

Année	Mois	T moyenne en °C	Précipitation (mm)
2018	Janvier	5,1	24,5
	Février	4,4	16,4
	Mars	9,3	53,2
	Avril	12,5	83,8
	Mai	15	53,1
	Juin	21,8	19,1
	Juillet	21,3	0
	Aout	22,7	52,1
	Septembre	20,9	47,7
	Octobre	8,8	31,4
	Novembre	13,9	113,4
	Décembre	7,6	12,0

Les fruits ont été triés sur la base de leur couleur indiquant le degré de maturation (Figure 16) : fruits verts ou noirs (matures) et rouge-jaune (immature).



(A)Fr VF(vert foncé)

(B)Fr NR (noir rougeâtre)

(C)Fr N(noir)

(D)Fr RJ (rouge jaunâtres)

**Figure 16:** Les différentes couleurs des drupes de *Pistacia atlantica* (photo originale 2019)

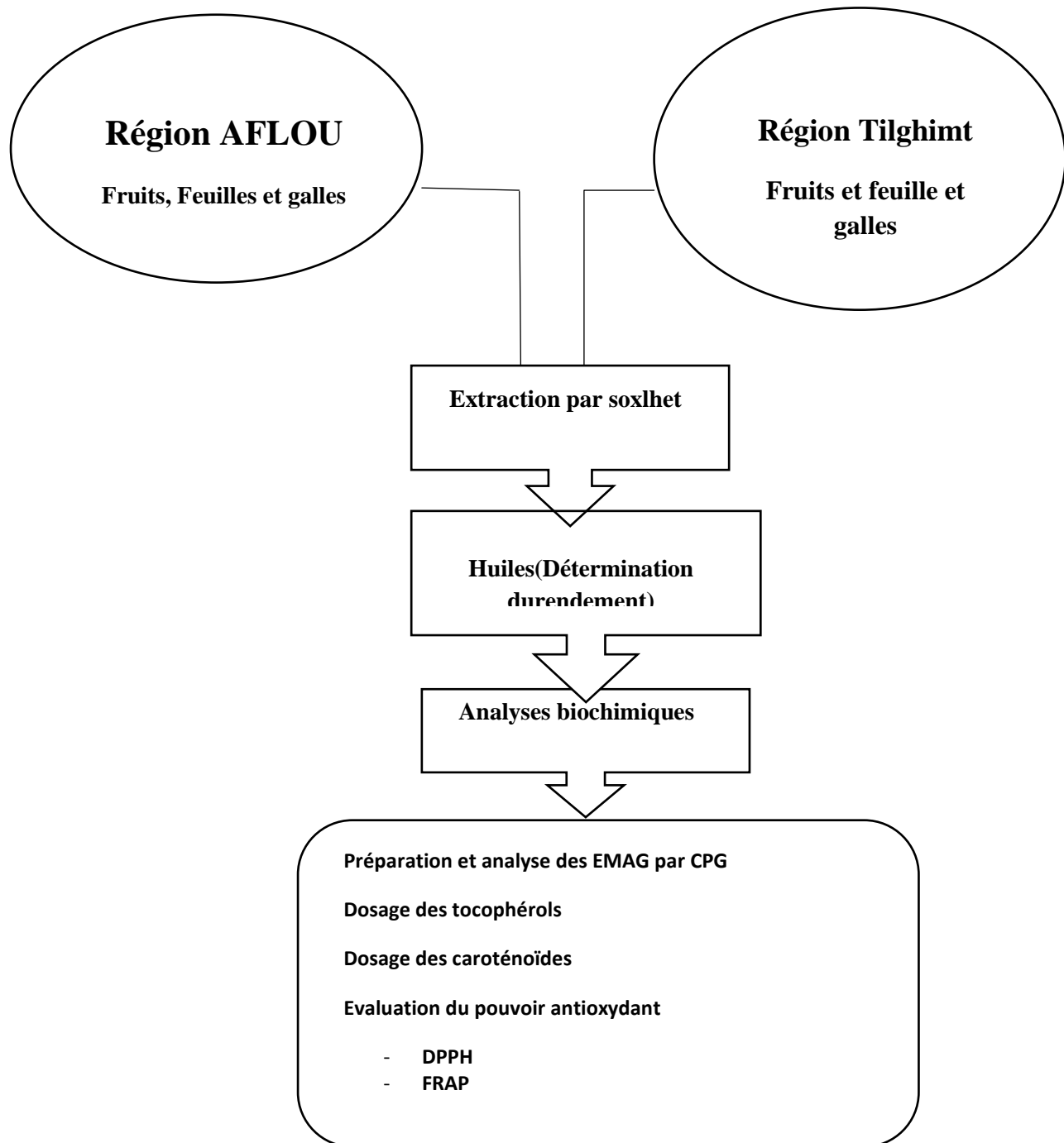
### III. Produits chimiques :

La liste des produits chimiques utilisés est présentée en Annexe.

#### IV. Matériel et équipements :

Le matériel et les équipements utilisés sont mentionnés en Annexe.

La démarche expérimentale peut être résumée selon l'organigramme suivant



**Figure 17:** Organigramme résumant la démarche expérimentale pour nos échantillons.

## V. Extraction des huiles

L'extraction des huiles à partir des fruits, feuilles et galles de *Pistacia atlantica* est accomplie, après le broyage des échantillons à l'aide d'un mortier, selon la méthode de l'extraction par Soxhlet avec le dichlorométhane comme solvant jusqu'à l'épuisement.

L'extrait obtenu a été déshydraté, avec du sulfate de sodium anhydre, filtré puis le dichlorométhane est évaporé sous pression réduite à 40°C à l'aide d'un Rotavapor.

L'extrait lipidique obtenu est un extrait une huile brute. Nos échantillons d'huiles sont stockés dans des flacons en verre fumé et conservés dans le réfrigérateur à 4°C et à l'abri de la lumière afin d'éviter toute oxydation lors de l'analyse.

A la fin de cette opération, le ballon avec l'huile est pesé pour le calcul du rendement.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Le rendement en Huiles} = \frac{\text{Masse de l'extrait} \times 100}{\text{Masse de la prise d'essai (matière végétale broyée)}}$$

## VI. Analyse des acides gras

### 1. Préparation des ester méthyliques (EMAG)

#### Le protocole

Dans un ballon, 20ml de solution méthanolique de soude ( $\text{NaOCH}_3$  0,5%) ont été ajoutés dans 0,5 g d'huile, le mélange est porté à une ébullition à reflux pendant 30 min, après nous avons ajouté 30 ml d'eau distillée. Après refroidissement, les esters méthyliques sont récupérés par une double extraction liquide-liquide en utilisant 60 ml de dichlorométhane et 60ml d'eau distillée. La phase organique est lavée plusieurs fois par l'eau distillée jusqu'à la neutralisation. Après séchage par sulfate de sodium anhydre, le solvant est filtré puis évaporé à 40 °C sous pression réduite.

Finalement, nos EMAG sont purifiés par flash chromatographie à l'aide d'une petite colonne (pipette pasteur) remplie de gel de silice avec le dichlorométhane comme éluant.

## **2. Préparation de la colonne**

Nous avons mise au fond d'une pipette pasteur, un peu de coton puis cette dernière à été remplie jusqu'à 3 cm de gel de silice en haut, le gel est ensuite humidifié avec 1 ml de dichlorométhane.

## **3. Préparation de l'échantillon**

L'extrait des EMAG est solubilisé dans 1 ml de dichlorométhane

## **4. Éluion**

L'échantillon est induit par le haut de la colonne de gel de silice, puis élué avec 2,5 ml de dichlorométhane. Les EMAG ainsi purifiés sont conservés à +4°C jusqu'à leur analyse

# **VII. Analyse des esters d'acides gras par Chromatographie en phase gazeuse**

Les EMAG sont analysés par chromatographie en phase gazeuse en présence de standards connus

- Model d'appareil : Chrompack CP 9002
- Type de détecteur : FID (250 °C)
- Température de l'injecteur : 250°C
- Programmation de la température de four : Isotherme
- La colonne utilisée : DB23 (50% Cyanopropyl), 30m, diamètre intérieur 0.32 mm, épaisseur du film 0.32µm
- Gaz vecteur : Azote à un débit de 1 ml /µl

## VIII. Analyse quantitative des fractions minoritaires des huiles

### 1. Dosage des tocophérols :

Le dosage des tocophérols a été effectué selon la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel (1939) pour l'ensemble des extraits huileux des feuilles et fruits.

#### Principe

Cette technique est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les tocophérols et le fer ferriques ( $\text{Fe}^{+3}$ ) qui est réduit en fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Ce dernier, en présence de réactifs de phénantroline, forme un complexe rouge-orangé stable dont le coefficient d'extinction molaire à 510nm est très élevé.

#### Le protocole

Une droite d'étalonnage tracée à partir d' $\alpha$ -tocophérol commercial (vitamine E), permet de relier la densité optique et la concentration de tocophérol exprimé en g/l, à partir d'une solution commerciale de la vitamine E. Nous avons préparé dans l'éthanol des solutions ayant des concentrations bien déterminées. Par la suite, 1ml de chaque solution fille est mélangé avec 1ml du réactif phénantroline 0,4% et 0,5 ml  $\text{FeCl}_3$  de 0,12 % dans l'éthanol. Après 5min d'incubation à l'obscurité, on mesure l'absorbance à 510 nm. Le test a été effectué 3 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 milligrammes équivalents de vitamine E par 100 grammes d'huile (mg Vit E /100g d'H).

### 2. Dosage des caroténoïdes

Nous avons opté pour un dosage colorimétrique direct des caroténoïdes. Etant donné que ces derniers absorbent à 460 nm (Thaiponga *et al.*, 2006), nous avons lu directement l'absorbance à cette longueur d'onde pour l'ensemble des huiles extraites à partir des feuilles et des fruits.

#### Protocole

Une droite d'étalonnage tracée à partir de bêta carotène, permet de relier la densité optique et la concentration en bêta carotène exprimé en g/l. A partir d'une solution bêta carotène, nous avons préparé dans le dichlorométhane des solutions ayant des concentrations bien déterminés. La lecture est faite à 460 nm. Le test a été effectué 3 fois. Pour nos échantillons (préparés de la

même manière que la gamme étalon), nous avons effectué des lectures de la densité optique à 460 nm. Le test est refait 3 fois.

La concentration en caroténoïdes dans chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec beta carotène et exprimée en milligrammes équivalents de bêta carotène par gramme d'huile (mg $\beta$ -carotène /g d'huile).

## IX. Evaluation de pouvoir antioxydant des extraits de Pistachier de l'Atlas

Deux tests différents ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Pistacia atlantica*: le test de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil) et le test FRAP.

### 1. Test de piégeage d'un radical libre le DPPH

#### Principe

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à exercer un « effet Scavenger » sur le radical stable DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl) (Kazeemetal., 2012). C'est un test de décoloration (violette au jaune) qui évalue la diminution de l'absorbance de la solution du DPPH à 517 nm dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Molyneux,2004)

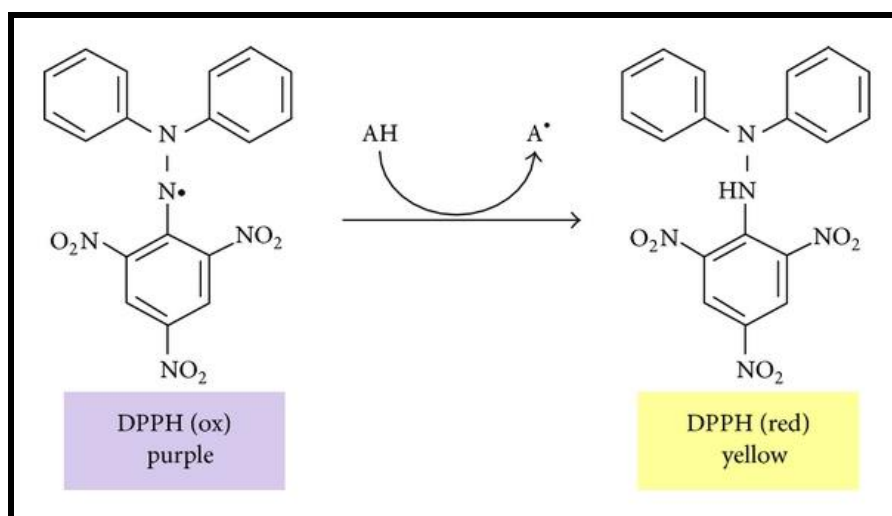


Figure 18 :Réaction d'un antioxydant avec le radicalDPPH (Molyneux, 2004).

## Protocole

Nous avons préparé une gamme des dilutions à partir d'une solution mère de concentration initiale 0,05g/ml de notre extrait. Dans un volume de 1ml, nous avons ajouté le même volume de DPPH et incubé pendant 30 min à l'obscurité. Nous avons lu l'absorbance à 517 nm.

L'activité antioxydante qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de piégeage du DPPH selon l'équation suivant :

$$\% \text{ activité antiradicalaire} = \frac{(\text{Abs } 517 \text{ controle} - \text{Abs } \text{chantillon } 510)}{\text{Abs } 517 \text{ controle}} \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la EC50 sachant que l'EC50 est la concentration nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH. Elle est calculée par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [%inhibition= f (concentrations)].

## 2. Le pouvoir réducteur FRAP (FerricReducing-AntioxydantPower)

### Principe

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{+3}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par Benzie. La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction du fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleue (Benzie et Strain, 1996).

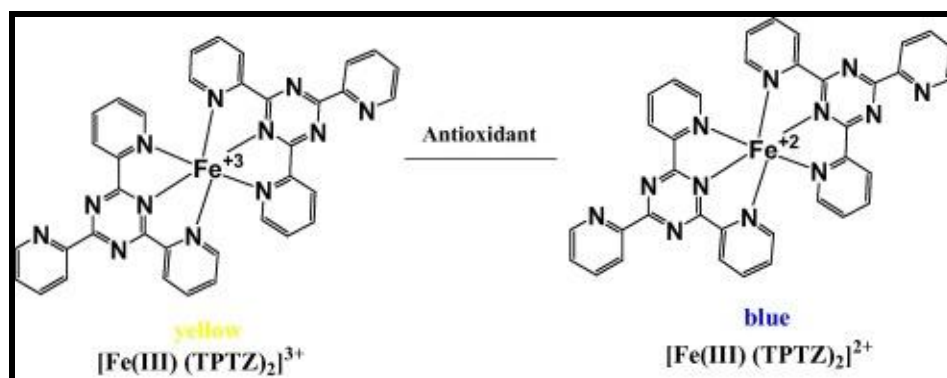


Figure 19: La réaction du test FRAP (Ferricreducingantioxydant power).

(Benzie et Strain,1996).

## Protocole

Le réactif FRAP a été préparé selon la manière rapportée par Gourine et ses collaborateurs avec légère modification (**Gourine *et al.*, 2010**). Brièvement, 25 ml de tampon acétate 300 mM (pH 3,6) sont mélangés avec 2,5 ml de 2, 4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) d'une concentration de 10mM (préparé dans de l'HCl 40mM), et 2,5 ml de solution de  $\text{FeCl}_3(6\text{H}_2\text{O})$  (20 mM).

Nous avons préparé une gamme des dilutions à partir d'une solution mère de concentration connue d'alpha –tocophérol. Nous avons pris 50  $\mu\text{l}$  de chaque dilution puis nous avons ajouté 1 ml de la solution de FRAP. La préparation est incubée pendant 7 min à l'obscurité et à température ambiante. Nous avons lu l'absorbance à 596 nm contre un blanc. Nous avons procédé de la même manière avec nos extraits. Tous les tests ont été effectués en triple. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{M}$  équivalent de vitamine E par gramme d'huile.

## VII. Analyse statistique

Nous avons calculé pour chaque groupe d'échantillons la moyenne et son écart type.

Le test de student (pour les échantillons inférieurs à 30) est utilisé pour la comparaison des moyennes. Nous avons également calculé le coefficient de corrélation pour certains paramètres par Excel. L'analyse des composantes principales (ACP) est réalisée par le logiciel XL-STAT (2014).

# **Chapitre 2 :**

## **Résultats et discussion**

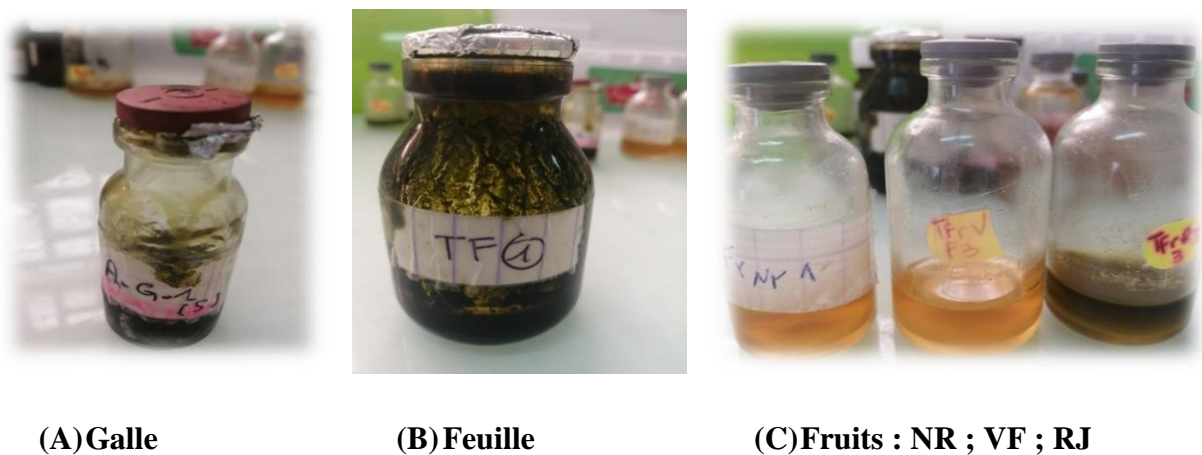
## I. Résultats et discussion

Nous nous sommes intéressées à travers cette étude aux huiles extraites de feuilles, de fruits, et de galles d'arbres de *Pistacia atlantica* poussant dans deux emplacements géographiques différents (Tilghimt et Aflou). L'objectif assigné au départ était de connaître l'effet probable de facteurs environnementaux sur la composition et l'activité antioxydante de ces huiles. Pour cela, nous avons effectué des comparaisons pour chaque paramètre selon notamment l'origine de l'extrait (organe et arbre).

### 01. Teneur en huiles

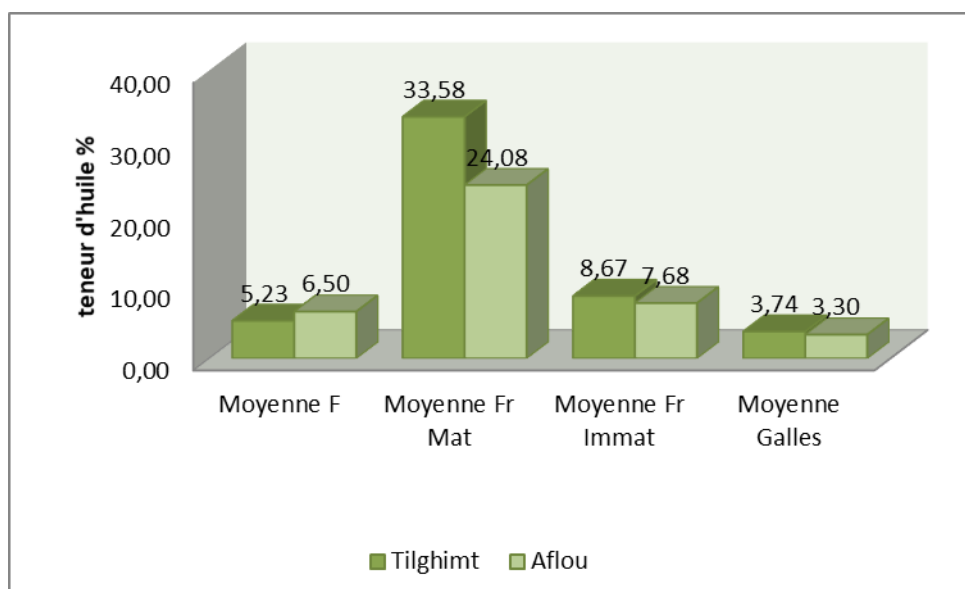
Au terme de l'opération d'extraction des huiles, nous avons obtenu des échantillons huileux à partir d'échantillons de pistachier de l'Atlas de chaque région (Aflou – Tilghimt).

Les huiles des feuilles et des galles ont une couleur verte foncée avec une odeur très agréable. Celles des fruits matures ont une couleur jaune -orange avec une odeur agréable. Par contre, les huiles des fruits immatures donnent une couleur verte foncée avec une odeur très agréable (Figure 20).



**Figure 20:** Aspect des extrais huileux des différents organes de *Pistacia atlantica*.

D'après nos résultats, les teneurs en huiles varient selon plusieurs facteurs notamment la partie de l'arbre (feuille -fruit -galle) et le degré de maturité pour les fruits (Figure 21). En effet, la quantité d'huile moyenne pour les feuilles varie de 5,23 à 6,50%, de 7,68 à 33,58 % pour les fruits et de 3,30 à 3,74% pour les galles.



**Figure 21:** Comparaison du rendement d'extraction des huiles à partir des feuilles (F), des fruits (Fr) et des galles de *Pistacia atlantica* des sites de Tilghimt et d'Aflou.

Concernant les fruits, nous constatons que la teneur en huiles varient selon le degré de maturité, Ainsi les rendement les plus élevés ont été obtenus avec les fruits matures (verts – noirs), ce qui est compatible avec les études réalisées par Guenane sur des collectes de fruits de la région de Laghouat où il a été montré que le rendement d'huile augmentait au fur et à mesure de la maturation (**Guenane et al.,2015**).

Comparativement aux études antérieures réalisées sur le Pistachier de l'Atlas, nous remarquons que nos résultats sont en deçà de ceux de l'équipe du Yousfi (**Yousfi et al., 2003**) où un rendement d'extraction de 52 % était atteint pour les fruits mature. Nos résultats semblent également être légèrement inférieurs à ceux publiés par Guenane, lesquels variaient entre 35,7% et 46,06% pour les fruits matures (**Guenane et al., 2017**). Cette légère

différence pourrait être expliquée par des facteurs inhérents à la saison durant laquelle les drupes sont collectées et, peut être, l'emploi du dichlorométhane comme solvant d'extraction. Nos résultats semblent être en accord avec l'étude de Guersas (2018) qui a montré un rendement d'extraction d'huile pour les fruits matures allant de 14,29 à 39,26%.

La teneur moyenne d'huile est significativement ( $p < 0,05$ ) élevée pour les fruits matures de la région de Tilghimt par rapport à celle des fruits d'Aflou (respectivement  $33,58 \% \pm 6,37$  et  $24,08\% \pm 0,49$ ). Cette différence pourrait être expliquée par des conditions environnementales différentes.

En ce qui concerne les feuilles, nous observons un rendement d'extraction légèrement élevé pour les extraits huileux d'Aflou ( $6,50\% \pm 1,58$ ) par rapport à celle de Tilghimt ( $5,23\% \pm 0,42$ ) et cette différence est non significative.

Comparativement à l'étude réalisée par Guersas(2018) qui a été faite sur un seul arbre pour chaque région, nous remarquons qu'il a obtenu une teneur faible d'huile de feuilles pour les régions de Hassi Rmel et d'Aflou par rapports aux nôtres (respectivement  $2,99\%$  vs  $6,50\% \pm 1,58$  et  $1,3\%$  vs  $5,23\% \pm 0,42$ ). Cette différence pourrait être due à la saison et/ou à des facteurs génétiques propres à l'arbre. Le climat qui est un facteur déterminant de premier ordre pour une approche du milieu est un ensemble de phénomènes météorologiques, principalement, la température et les précipitations. Nos données climatiques des deux régions pour, notamment, les mois qui ont précédé la collecte des feuilles montrent une augmentation de la précipitation et une diminution légère de la température par rapport à l'année 2016. Il a été rapporté dans la littérature que la teneur en huile d'olive diminuait durant les périodes où les précipitations étaient faibles (Beltran *et al.*, 2004). Ceci indique clairement l'importance de l'effet saisonnier pour ce paramètre. Il ne faut pas omettre l'effet de facteurs associés aux propriétés du sol.

Les galles ont montré un faible rendement d'extraction pour les échantillons des deux régions. Nos résultats sont similaires à ceux de Guersas(2018). Nous n'avons pas trouvé de données publiées concernant les feuilles et les galles de *Pistacia atlantica*. La plupart des travaux sont concentrés principalement autour des extraits de fruits.

**02. Analyse des acides gras par CPG**

Les résultats de l'analyse chromatographique de nos échantillons sont résumés dans les tableaux (7,8) où les proportions relatives des différents acides gras constitutifs sont indiquées.

Pour les feuilles, nous trouvons les acides palmitique, oléique et linoléique et l'acide linoléique fortement représentés, et à des proportions faibles, les acides laurique, myristique, palmitoléique, marguarique, stéarique, arachidique, gadolèique, béhènique, érucique.

Quant aux fruits, nous remarquons la présence des acides palmitique, oléique et linoléique fortement représentés et, à des proportions faibles, les acides myristique, palmitolèique, stéarique, arachidique, gadolèique, margarique.

**Tableau 7** : Composition en acides gras des huiles brutes des feuilles (%).

	AF1	AF2	AF3	TF1	TF2	TF3	TF4	TF5
<i>C12:0</i>	1,71	0,99	3,81	3,66	6,65	2,24	2,72	3,65
<i>C14:0</i>	7,35	9,74	7,51	7,93	8,74	10,43	11,04	11,25
<i>C16:0</i>	18,68	21,94	30,14	16,77	15,73	20,87	19,17	19,17
<i>C16:1<math>\omega</math>7</i>	8,23	4,01	ND	5,57	4,96	1,91	2,41	3,27
<i>C17:0</i>	1,01	0,49	ND	0,73	ND	0,40	0,32	ND
<i>C18:0</i>	1,44	2,61	3,78	1,94	1,66	2,57	2,40	1,96
<i>C18:1<math>\omega</math>9</i>	17,35	13,26	22,36	8,21	8,97	9,54	17,71	14,72
<i>C18:2<math>\omega</math>6</i>	11,15	17,45	11,42	18,22	12,03	16,10	17,06	11,75
<i>C18:3<math>\omega</math>3</i>	23,52	25,19	12,78	30,18	22,23	32,42	23,45	21,31
<i>C20:0</i>	ND	0,16	ND	ND	8,80	ND	ND	2,84
<i>C20:1<math>\omega</math>9</i>	5,47	3,36	6,33	1,91	5,74	2,05	1,91	2,13
<i>C22:0</i>	2,11	2,06	Tr	1,88	Tr	1,85	1,33	3,11
<i>C22:1</i>	1,30	1,02	1,35	0,88	1,32	0,85	0,72	1,33
<i>Total</i>	99,32	102,28	99,48	97,88	96,83	101,23	100,24	96,49
$\Sigma$ AGS	32,30	37,99	45,24	32,91	41,58	38,36	36,98	41,98
$\Sigma$ AGI	67,02	64,29	54,24	64,97	55,25	62,87	63,26	54,51
$\Sigma$ AGI/AGS	<b>2,07</b>	<b>1,69</b>	<b>1,19</b>	<b>1,97</b>	<b>1,32</b>	<b>1,63</b>	<b>1,71</b>	<b>1,29</b>

ND : Non déterminé

**Tableau 8 :** Composition en acides gras des huiles brutes des fruits(%).

	TFR RJ1	TFRVF2	TFR NR2	AFR VF3	TF1 NR1	AFR JR1	TFR VF1	TFR RJ5	AFRN1	TFRNR 5	AFR VF2
C14 :0	ND	ND	0,09	0,09	0,09	ND	ND	0,13	0,07	0,06	ND
C16:0	23,24	18,90	16,50	21,60	18,21	17,61	16,43	21,24	16,91	22,82	24,88
C16:1 $\omega$ 7	1,25	1,00	0,75	0,71	0,66	0,64	0,83	1,08	0,61	0,83	1,92
C17 :0	0,09	0,07	ND	ND	ND	ND	ND	0,11	ND	ND	ND
C18:0	1,73	1,85	1,69	1,73	2,03	1,77	4,38	2,08	2,05	1,86	1,55
C18:1 $\omega$ 9	49,67	51,31	54,18	50,22	56,70	50,27	50,17	48,60	56,78	54,31	52,47
C18:2 $\omega$ 6	22,44	25,30	25,58	25,64	21,73	28,69	25,83	24,42	22,57	16,26	19,15
C18:3 $\omega$ 3	1,36	0,79	0,76	ND	ND	0,98	0,47	1,46	0,53	0,40	ND
C20:0	0,08	0,19	0,41	ND	ND	ND	1,57	0,16	0,09	0,07	ND
C20:1 $\omega$ 9	0,31	0,55	ND	ND	ND	ND	0,28	0,44	ND	ND	ND
Tot	100,17	99,96	99,87	99,90	99,33	99,96	99,96	99,59	99,54	96,55	99,97
$\Sigma$ AGS	25,14	21,01	18,69	23,42	20,33	19,38	22,38	23,72	19,12	24,81	26,43
$\Sigma$ AGI	75,03	78,95	81,27	76,57	79,09	80,58	77,58	76,00	80,49	71,80	73,54
$\Sigma$ AGI/AGS	2,98	3,75	4,34	3,26	3,89	4,15	3,46	3,20	4,20	2,89	2,78

ND : Non déterminé

Les acides gras insaturés dans nos huiles extraites des fruits sont les acides oléique et linoléique avec les valeurs moyennes respectives  $53,61\% \pm 3\%$  et  $22,15\% \pm 3,4\%$  pour la région de Tilghimt et  $53,16\% \pm 3,1\%$  et  $22,45\% \pm 4,1\%$  pour Aflou. Concernant les acides gras saturés, nous trouvons l'acide palmitique ( $19,36\% \pm 2,8\%$  pour Tilghimt et  $21,13\% \pm 3,7\%$  pour Aflou). Cette composition en acides gras est analogue à celle observée par **Yousfi et al., (2002)** et **Guersas (2018)**.

Il ressort de nos résultats relatifs aux fruits que l'emplacement géographique de l'arbre ne serait pas un facteur influant sur la proportion des acides gras majoritaires.

Concernant les feuilles, nous notons une forte proportion de l'acide linoléique ( $25,92\% \pm 5\%$  pour Tilghimt et  $20,50\% \pm 6,7\%$  pour Aflou). La différence qui apparaît n'est significative. Ce résultat est à l'opposé de celui indiqué par **Guersas (2018)** où la proportion de cet acide gras était plus élevée pour ElGhaicha ( $52,2\%$ ). Ce revirement de situation pourrait être expliqué par des facteurs propres à la saison (température et précipitations) conjugués à ceux propres au sol. Il est à noter que l'année 2018 a enregistré des précipitations élevées et des températures clémentes, par rapport au 2016, au niveau du site de Tilghimt, notamment durant les mois précédant la collecte (Tableau et Tableau en Annexe). En effet, il a été rapporté que l'activité de l'enzyme désaturase augmentait avec la diminution de la température (**Beltarn et al., 2004**).

Nous n'avons pas trouvé des résultats publiés concernant la composition en acides gras des huiles extraites des feuilles de *Pistacia atlantica* et sur l'effet probable des facteurs environnementaux. Les données accumulées concernent l'huile d'olive où il a été publié que la biosynthèse des acides oléique et linoléique au cours du processus de maturation était fortement influencée par des facteurs climatiques, édaphiques et génétiques (**Mezni et al., 2014**).

En dernier lieu, nous n'avons pas reçu les résultats de l'analyse chromatographique des huiles des galls.

### 3. Taux des tocophérols totaux

La teneur en tocophérols totaux pour les différents échantillons a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure22). Les résultats exprimés en milligramme équivalent de Vit E par 100 grammes d'huile sont présentés dans la figure23.

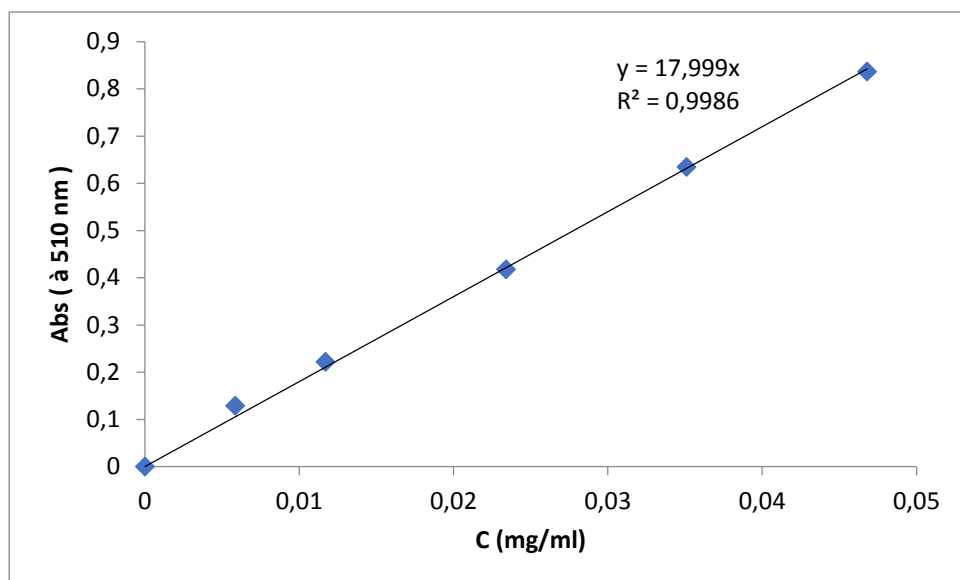


Figure 22: Courbe d'étalonnage de la vitamine E (mg/ml).

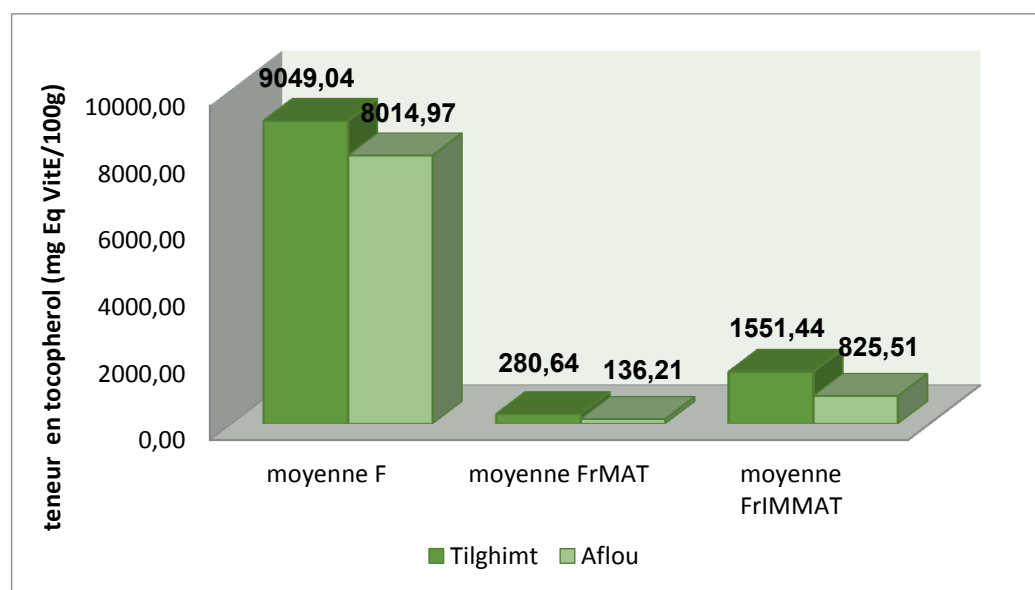


Figure 23: Comparaison du taux de tocophérols totaux des huiles extraites à partir des fruits et des feuilles de *Pistacia atlantica* des sites de Tilghimt et d'Aflou.

Les résultats obtenus montrent que la teneur moyenne en tocophérols totaux est la plus élevée au niveau des feuilles puis les fruits immatures et, en dernier lieu, les fruits matures. Nos feuilles se sont distinguées par des valeurs très élevées pour les deux sites (9049,04±2573,65mg VE/100g huile pour Tilghimt et 8014,97±1381,35 mg VE/100g huile pour Aflou). Elles sont très largement supérieures à celles de Guersas (2018) les quelles variaient entre 425 et 435 mgVE/100g. Concernant les fruits, nos valeurs sont également supérieures. Ces différences pourraient être attribuées aux mêmes facteurs évoqués précédemment.

En dépit de teneurs plus marquées pour la région de Tilghimt, le test de Student n'indique aucune différence significative.

La teneur moyenne en tocophérol totaux est plus prononcée au niveau des fruits immatures par rapport aux fruits matures, ce qui a été confirmé par l'étude réalisée par Guenane (Guenane,2015) par HPLC. Il y a lieu d'indiquer que l'analyse qualitative et quantitative des tocophérols par HPLC est le seul moyen pour une quantification précise des différents isomères. Un des inconvénients majeurs du dosage colorimétrique et la présence de beaucoup d'interférants (tout composé réducteur dans l'huile tel que les composés phénoliques) qui aurait pu réagir avec le réactif.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature de données sur l'impact de facteurs de l'environnement sur la teneur et la composition en tocophérols autant pour *Pistacia atlantica* que les autres sources d'huile végétale.

#### 4. Taux des caroténoïdes

Nous nous sommes intéressés à la teneur en caroténoïdes de *Pistacia atlantica* pour la première fois par rapport aux travaux précédents.

La teneur en caroténoïdes dans les échantillons d'huiles a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de bêta carotène(Figure25). Les résultats exprimés en milligramme équivalent de bêta carotène par gramme d'huile sont mentionnés dans la figure 26.

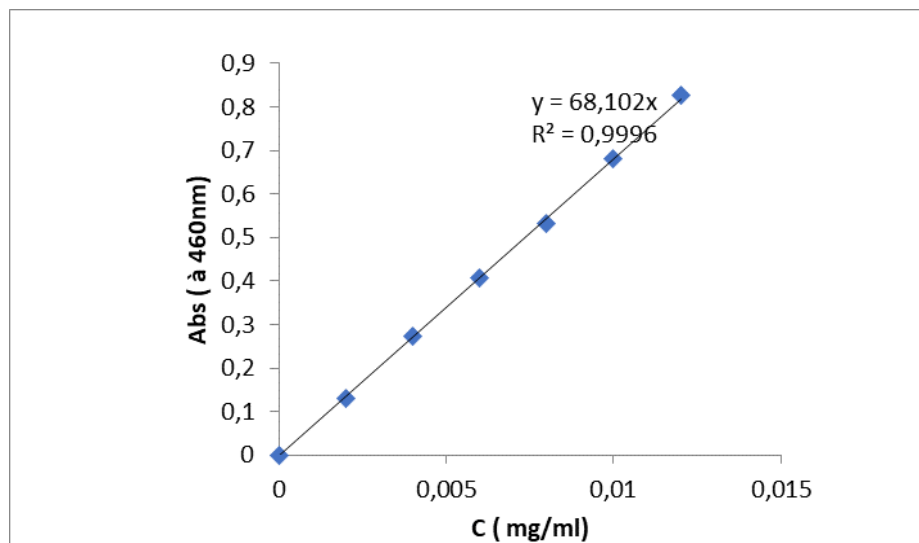


Figure24: courbe d'étalonnage des caroténoïdes (mg/ml)

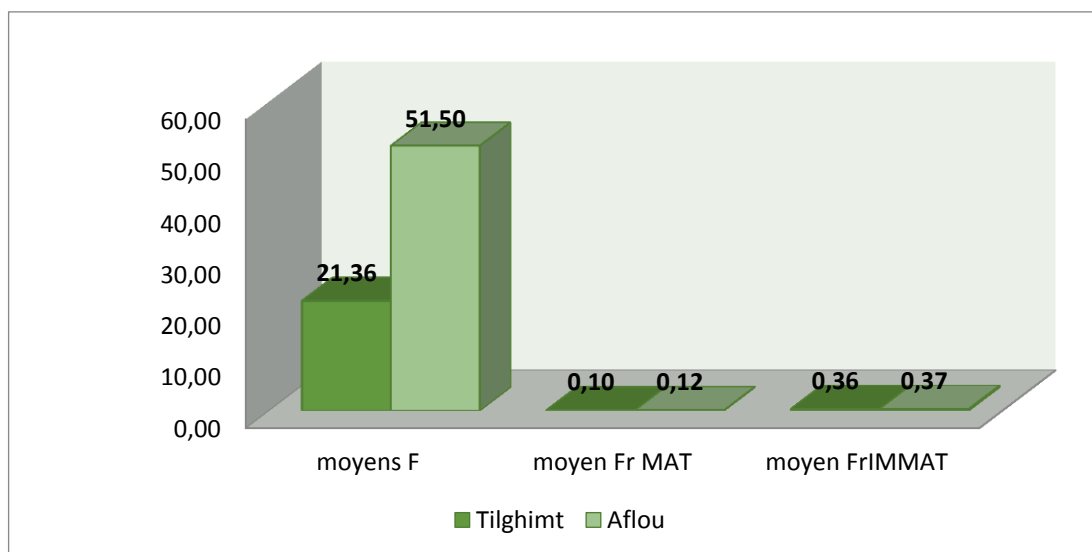


Figure25 : Comparaison de la teneur moyenne en caroténoïdes des huiles à partir des feuilles et des fruits de *Pistacia atlantica* de région de Tilghimt et d'Aflou.

Il ressort de cette figure que la teneur moyenne en caroténoïdes est largement supérieure au niveau des feuilles et en particulier celles d'Aflou où une différence significative est notée ( $51,50 \pm 5,02 \text{ mg/g}$  vs  $21,36 \pm 6,50 \text{ mg/g}$ ,  $p < 0,001$ ). Cette observation intéressante pourrait être

expliquée par l'effet de l'altitude (environ 1351-1426m pour Aflou et 736 m pour Tilghimt) où l'indice UV est d'autant plus élevé que cette dernière s'élève. Dans ce sens, il a été rapporté dans une étude que les rayons UV stimulent la biosynthèse des caroténoïdes qui exercent une fonction protectrice contre ces rayons (**Salama et al., 2011**).

Nos fruits n'ont pas montré de différences significatives selon le site. Par contre, il semblerait qu'ils sont plus riches en caroténoïdes (de 0,10mg/g à 0,37mg/g) par rapport aux fruits de *Pistacia lentiscus* (de 5,8mg/kg à 10,57mg/kg) (**Mezni et al., 2014**).

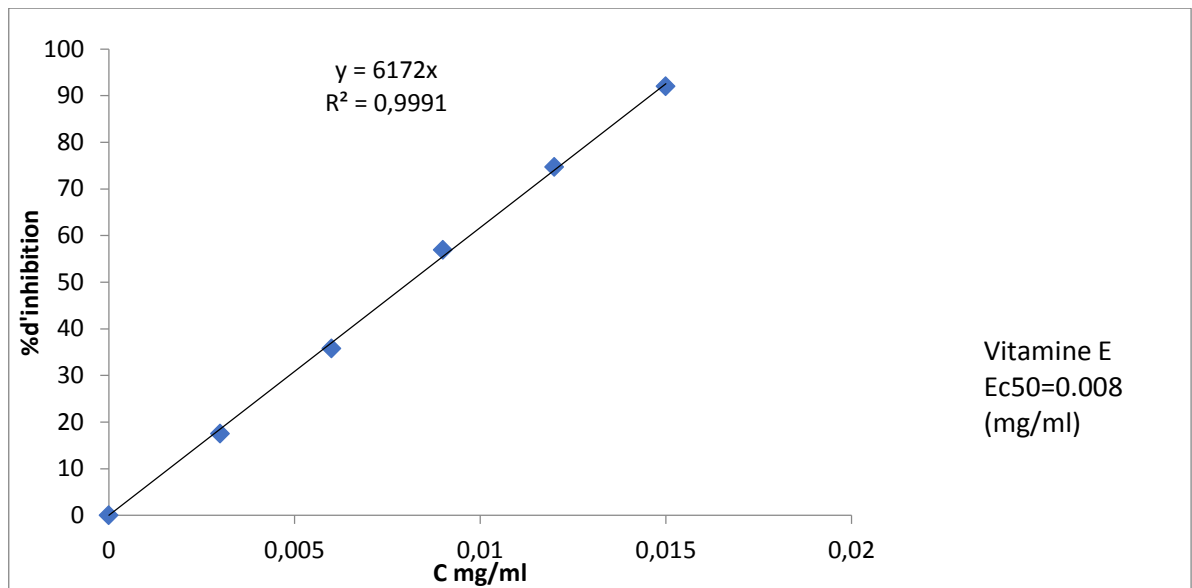
Nous réitérons que nous n'avons pas trouvé dans la littérature de données publiées sur l'effet des facteurs de l'environnement sur la teneur en caroténoïdes autant pour *Pistacia atlantica* que les autres sources d'huile végétale. (À notre connaissance)

## **II. Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles des feuilles et des fruits du *Pistacia atlantica***

Pour l'activité antioxydante, nous n'avons testé que les extraits de feuilles et de fruits en employant deux tests de référence : piégeage du DPPH<sup>•</sup> et réduction du fer ferrique en fer ferreux lors du test FRAP.

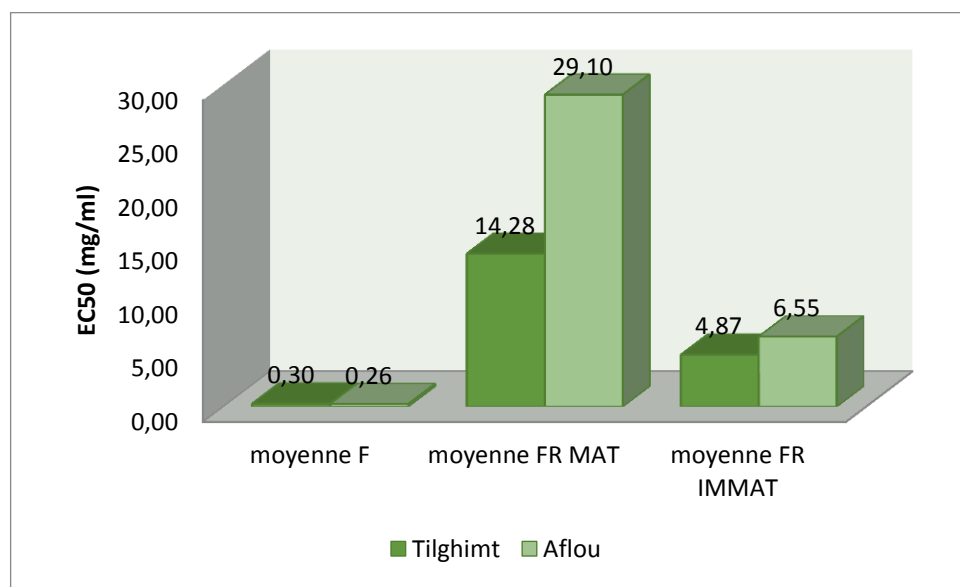
### **01. Test de piégeage d'un radical libre le DPPH**

Nous avons utilisé la vitamine E commerciale ( $\alpha$ -tocophérol) comme antioxydant de référence pour tracer le graphe représentant le pourcentage d'inhibitions (I%) en fonction de la concentration en antioxydant (Figure 26).



**Figure26** : Graphe représentant l'activité antioxydante de la vitamine E par le test du DPPH (mg /ml).

Nous avons procédé de la même manière pour l'ensemble des échantillons (les graphes montrant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque extrait sont présentés en annexe). Les valeurs moyennes d'EC50 déduites sont exposées dans la figure 27.



**Figure27** : Comparaison de l'activité antioxydante des extraits huileux (feuilles - fruits) de *Pistacia atlantica* de région de Tilghimt et d'Aflou.

Par ordre croissant d'activité anti radicalaire, nous avons les extraits de feuilles suivis des extraits des fruits immatures et en dernier lieu les extraits des fruits matures. Pour les fruits, ce résultat avait déjà été rapporté (**Guenane et al., 2017**).

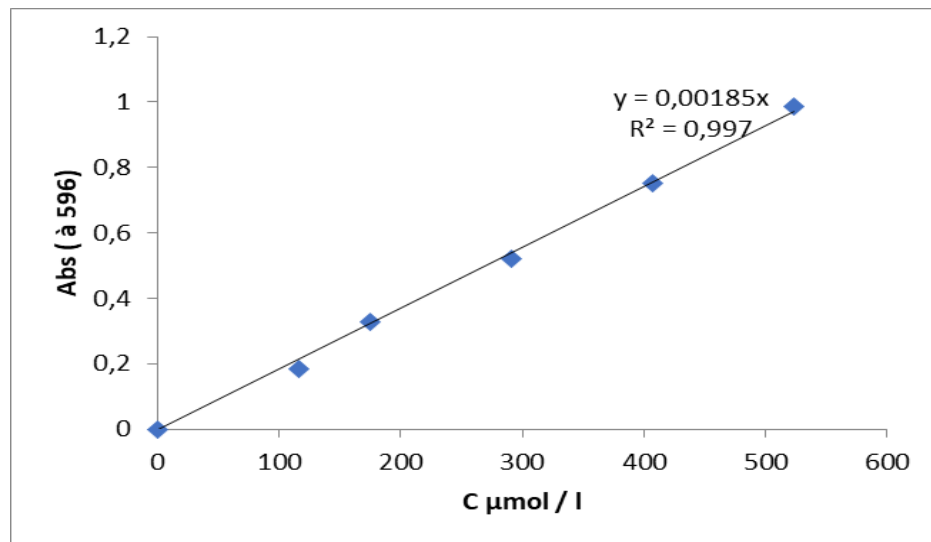
Nous notons avec intérêt que l'huile des fruits matures de Tilghimt est significativement ( $p < 0,05$ ) plus active que celle des fruits d'Aflou (respectivement,  $14,28 \pm 8,27$  mg/ml et  $29,10 \pm 7,59$  mg/ml). Nous notons également que nos extraits de feuilles sont presque 30 fois plus actifs que ceux des échantillons collectés en 2016 (**Guersas, 2018**). Les facteurs climatiques propres à la saison (Tableau 5,6 et tableaux annexe 06) joints aux facteurs édaphiques et/ou génétiques y seraient pour beaucoup dans cette différence.

Nous avons calculé les coefficients de corrélation entre la teneur en composés dotés d'activité antioxydante et l'EC50. Nous n'avons pu obtenir que quelques valeurs considérées comme significatives, ce qui renseignerait sur la présence probable d'autres composés à activité antioxydante. Il ne faut pas omettre le nombre assez réduits d'échantillons notamment pour la région d'Aflou. A titre d'exemples, nous avons, pour le site de Tilghimt, une corrélation négative appréciable entre la teneur en caroténoïdes et l'EC50 selon l'ordre décroissant des degrés de signification des coefficients  $-0,73$  pour les fruits immatures,  $-0,63$  pour les fruits matures et  $-0,50$  pour les feuilles. La teneur en tocophérols s'est montrée associée à l'activité anti radicalaire pour les extraits des fruits immatures de Tilghimt ( $-0,65$ ).

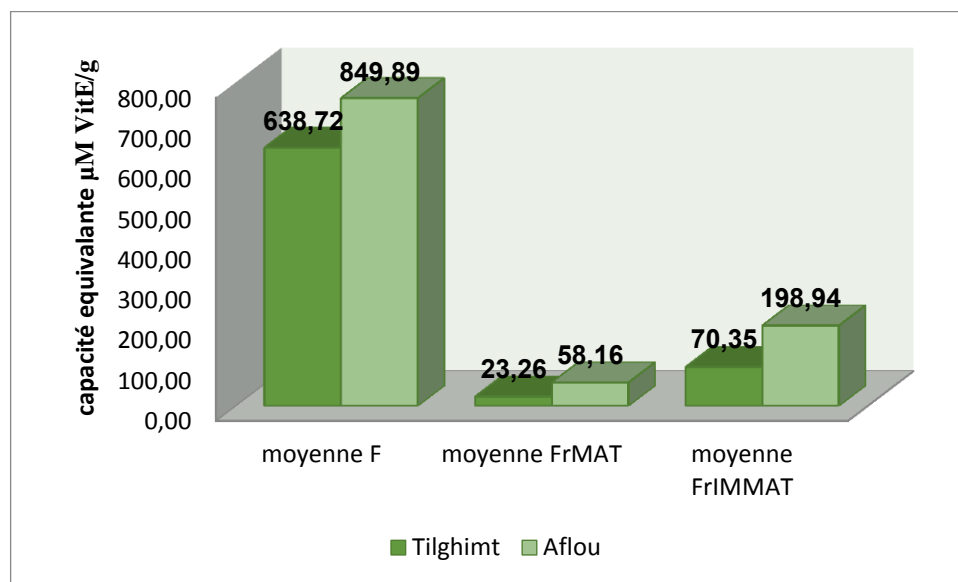
Nous rappelons que nous n'avons pas trouvé de données disponibles mettant en exergue l'impact des facteurs environnementaux ou des saisons sur les activités biologiques des huiles végétales.

## 2. Détermination du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur dans les échantillons d'huiles a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure 28). Les résultats exprimés en  $\mu\text{M}$  équivalent de vitamine E par gramme d'huile sont mentionnés dans la figure 29.



**Figure28:** Courbe d'étalonnage de Frap (µmol/l).



**Figure29:** Comparaison du pouvoir réducteur des extraits huileux (feuilles- fruits) de *Pistacia atlantica* de région de Tilghimt et d'Aflou.

Globalement, les résultats du test FRAP corroborent ceux du test DPPH où les extraits des feuilles se montrent les plus actifs.

Les échantillons d'Aflou ont un pouvoir réducteur légèrement supérieur sans qu'il n'y ait pour autant une différence significative.

Les coefficients de corrélations calculés pour les échantillons de Tilghimt riment parfaitement avec ce qui a été avancé pour le DPPH. Une corrélation positive appréciable entre la teneur en caroténoïdes et la capacité équivalente selon l'ordre décroissant des

coefficients 0,85 pour les fruits immatures, 0,77 pour les feuilles et 0,66 pour les fruits matures.

En dernier lieu, notre étude se distingue par l'emploi du test FRAP comme deuxième test de référence pour l'activité antioxydante par rapport aux travaux antérieurs sur les extraits huileux des différents organes de *Pistacia atlantica*.

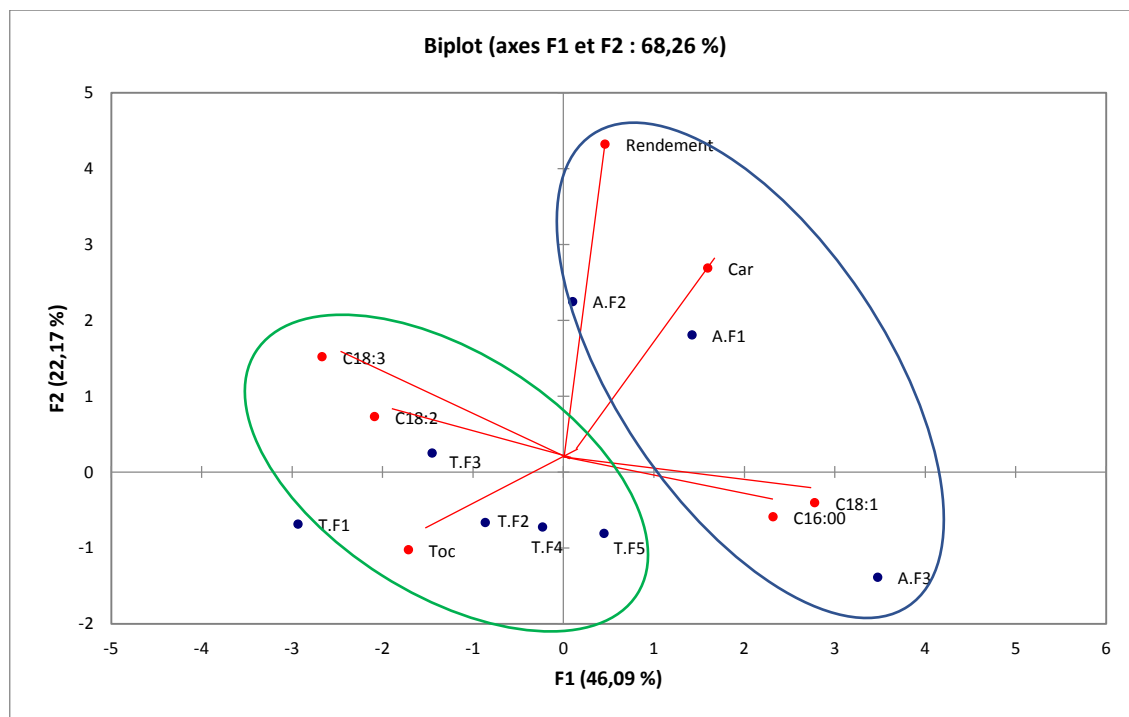
### III. Analyse des données pour l'ensemble des échantillons

#### 1. Analyse des données relatives aux feuilles

L'analyse des composantes principales (ACP) pour les échantillons de feuilles a permis d'établir la matrice de corrélation de Pearson (Tableau9) et d'avoir la distribution de nos échantillons par rapport aux paramètres étudiés (Figure30).

**Tableau 9** : Matrice de corrélation de Pearson

Variables	Rendement	Toc	Car	C16:00	C18:1	C18:2	C18:3
Rendement	<b>1</b>						
Toc	-0,4018	<b>1</b>					
Car	0,6038	0,0363	<b>1</b>				
C16:00	-0,0659	-0,2993	0,3815	<b>1</b>			
C18:1	0,0441	-0,5065	0,3782	0,7172	<b>1</b>		
C18:2	0,0188	0,4532	-0,2052	-0,2173	-0,4461	<b>1</b>	
C18:3	0,2061	0,2352	-0,3684	-0,6107	-0,7926	0,6768	<b>1</b>



**Figure30:** Représentation graphique de la distribution des échantillons des feuilles en fonctions des paramètres étudiés.

Nous remarquons une corrélation négative appréciable (-0,6107) entre l'acide palmitique et l'acide linoléique et entre l'acide oléique et linoléique (-0,7926). Par contre, une corrélation positive est observée entre les taux des acides linoléique et linoléique (0,6768) d'une part et entre les taux des acides palmitique et oléique (0,7172) de l'autre part. Ceci indiquerait que plus le taux d'acides gras polyinsaturés augmente moins est le taux des acides gras saturés et monoinsaturés.

La distribution des différents échantillons des feuilles par rapport aux sept paramètres étudiés montre leur caractère distinctif (Figure30).

Deux groupes distincts sont obtenus, le premier englobe les échantillons d'Aflou caractérisés par un rendement élevé associé à une teneur de caroténoïde importante et il est dominé par les acides oléique et palmitique. Le deuxième groupe regroupe les feuilles de Tilghimt où le niveau de tocophérol est supérieur. Ils sont également caractérisés par la présence des acides gras linoléique et linoléique.

Ces constatations corroborent les résultats de l'étude expérimentale décrits précédemment.

2. Analyse des données relatives aux fruits

L'analyse des composantes principales (ACP) pour les échantillons de fruits a permis d'avoir les données mentionnées dans le tableau 10 et la figure 31.

Tableau 10 : Matrice de corrélation de Pearson

Variabes	Rendement	Toc	Car	C16:00	C18:1	C18:2	EC50	Capacité équivalente
Rendement	<b>1</b>							
Toc	-0,7217	<b>1</b>						
Car	-0,7677	0,4938	<b>1</b>					
C16:00	-0,2075	0,3272	0,1428	<b>1</b>				
C18:1	0,4488	-0,5055	-0,6300	-0,2313	<b>1</b>			
C18:2	-0,2888	0,0234	0,2956	-0,6627	-0,4450	<b>1</b>		
EC50	0,6719	-0,7183	-0,6333	0,0028	0,5245	-0,3003	<b>1</b>	
Capacité équivalente	-0,7254	0,3142	0,6825	-0,2514	-0,2123	0,4127	-0,4420	<b>1</b>

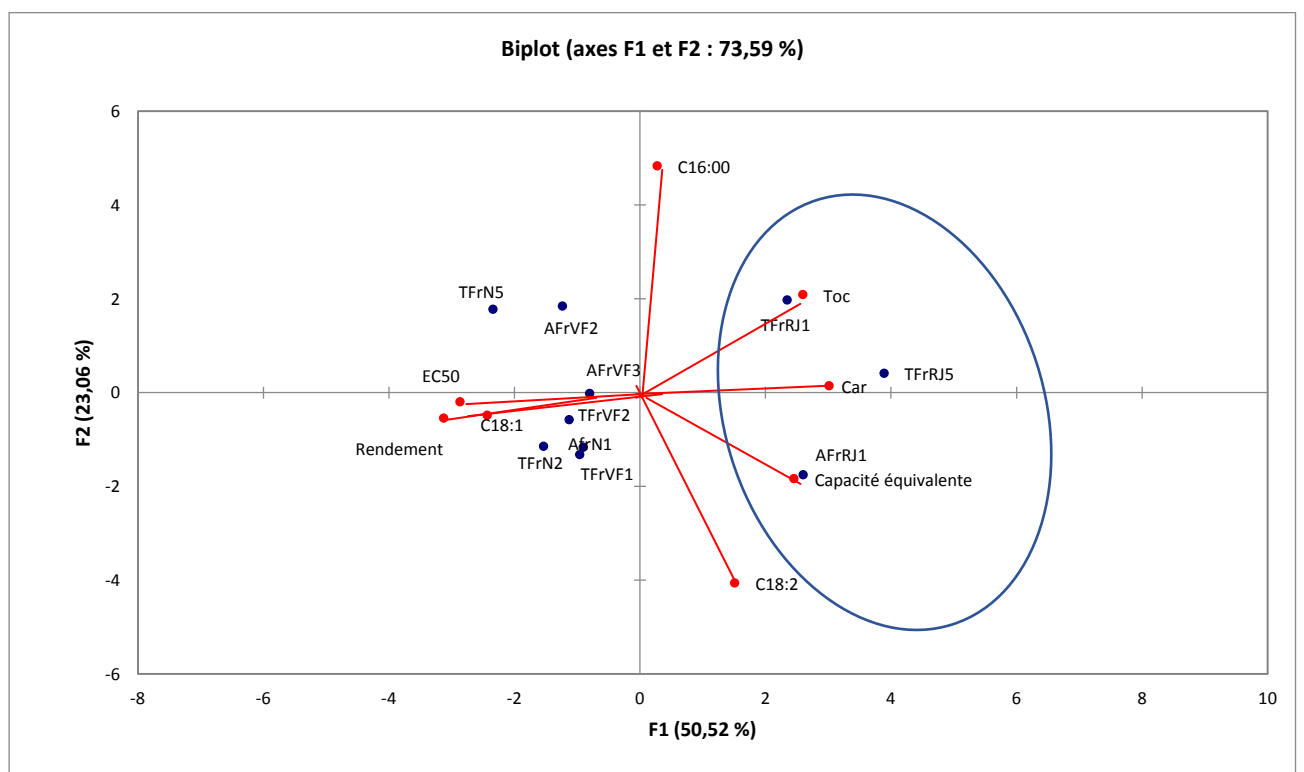


Figure 31: Représentation graphique de la distribution des échantillons des fruits en fonctions des 8 variables différentes.

La matrice de Pearson indique une corrélation négative entre le rendement et deux paramètres (tocophérols et caroténoïdes) avec les valeurs respectives -0,7217, -0,7677. D'autre part, nous notons avec intérêt une forte association entre tocophérols caroténoïdes d'un côté et l'activité antioxydante de l'autre côté. C'est logique car ces composés sont connus par leur pouvoir antioxydant. En dernier lieu, nous remarquons une relation opposée entre les taux des acides palmitique et linoléique. Cette observation avait déjà été rapportée (**Guenane, 2017**).

A travers la figure 31, il apparaît un groupe qui englobe les fruits immatures (des deux régions) caractérisé par une richesse en, acide linoléique, en tocophérols et en caroténoïdes associé à une capacité équivalente élevée. Nous remarquons que les fruits matures (AFrVF2, AFrVF3, AFrN1) de la région d'Aflou sont à proximité de ce groupe indiquant des caractéristiques proches des fruits immatures. Nous constatons que les fruits matures sont dominés par le taux élevé de l'acide oléique, la teneur importante d'huile et un EC50 élevé (activité antioxydante basse).

# **Conclusion et perspectives**

### Conclusion

Ce travail nous a permis de mettre en exergue l'effet des facteurs environnementaux sur la composition et l'activité antioxydante d'extraits lipidiques des fruits, de feuilles et de galles du Pistachier de l'Atlas. Nous avons choisi deux sites différents : Tilghimt et Aflou.

Les résultats de notre étude peuvent être récapitulés comme suit :

- ✓ Le rendement de l'extraction des huiles à partir des feuilles du Pistachier de l'Atlas pour les deux régions (Tilghimt et Aflou) a révélé des valeurs élevées pour Aflou. Par contre, les Tilghimt s'est distingué par un rendement important pour les fruits et les galles.
- ✓ Les acides gras insaturés ont enregistré un taux important pour les échantillons de la région de Tilghimt pour les extraits huileux des feuilles et fruits. Les précipitations et la température auraient un effet au premier plan sur la proportion des acides gras saturés et insaturés.
- ✓ Les teneurs en tocophérols totaux et caroténoïdes sont plus marquées au niveau des feuilles par rapport aux fruits et aux galles pour les deux régions. Pour Les fruits immatures de Tilghimt montrent également une teneur importante en tocophérols totaux par rapport à ceux d'Aflou, ce qui est l'opposé pour la teneur en caroténoïdes. Ces différences seraient dues aux facteurs propres à la saison, aux facteurs édapho-climatiques propres à la région et probablement à des facteurs génétiques.
- ✓ L'étude de l'activité antioxydante par deux tests DPPH et FRAP, montrent que les extraits huileux des feuilles marquent l'activité la plus élevée. En revanche les extraits huileux des fruits de la région de Tilghimt sont plus actifs.
- ✓ Les résultats obtenus révèlent des différences significatives pour quelques paramètres (rendement, caroténoïdes, activité antioxydante) entre les deux sites.
- ✓ L'analyse des données ACP montre des différences non significatives entre les deux sites. Les extraits huileux des feuilles, pour les ont marqués deux groupes en fonction de sept paramètres, où le groupe des échantillons d'Aflou caractérisé par la teneur élevée en caroténoïdes et les échantillons de Tilghimt riche en acides gras insaturés. Cependant, l'analyse des échantillons des fruits immatures en fonction de huit paramètres montre la dominance des tocophérols et caroténoïdes associée à la capacité équivalente.

✓ L'ensemble des résultats des analyses (la composition en acide gras, teneur en tocophérol totaux, teneur en caroténoïdes), dépend également par d'autres facteurs ainsi que les résultats ont montré que la composition chimiques des différents extraits se différent selon le degré de maturité concernant les fruits, et l'emplacement géographique de l'arbre influe légèrement sur la composition et l'activité des extraits de *Pistacia atlantica*.

Cette étude est la suite de ce qui était effectué par l'étude de Guersas (2018) mais sur échantillonnage plus large. Nous pouvons dire que, Cette dernière, nous a permis de découvrir l'influence des effets saisonnière sur la composition et l'activité antioxydante des huiles de *Pistacia atlantica*. Nos données ont révélé, que la précipitation élevée et la température moyennement faible sont des conditions qui pourraient être optimal. Des facteurs lié sau sol ou des facteurs génétiques propres à l'arbre pourront également influencer. Ce constat doit être étayé par des études complémentaires et nécessite des recherches plus approfondies.

### Perspectives

- ✓ Nous recommandons de poursuivre des études sur les galles du *Pistacia atlantica*.
- ✓ Nous souhaitons de réaliser des études plus approfondies sur la température optimale de l'activité de l'enzyme disaturase afin d'obtenir taux parfait des acides gras insaturés.
- ✓ D'effectué la quantification des isomères des tocophérols et caroténoïde par HPLC.
- ✓ D'approfondir l'étude sur l'isolement des molécules actives de cette plante pour les tester, in vivo, afin de trouver une application thérapeutique.

# **Références bibliographiques**

1. **Abuja P.M., etAlbertini R., (2001).** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *ClinicaChimicaActa* **306** (1-17).
2. **Al-Saghir, M.G., Porter, D.M(2012).**Taxonomic revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae).*Am.J.Plant Sci.* **3** :12-32
3. **Arab K., Bouchnak O., Yahiaoui K. (2014).** Etude phytochimique et l'évolution de l'activité antimicrobienne et antioxydant de l'huile essentielle et des composés phénolique du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *Journal of Fundamental and applied Science*, 6(1):79-93.
4. **Baba, L. & McGrath, IM. (2008).** Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Advances in Neonatal Care* 8 Journal, pp. 256-264.
5. **Beaudeau, J. L., et Geneviève, D. (2011).** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2ème édition. Edition Lavoisier Chantal Arpino, p 130 , 131.
6. **Belhadj, S(2001).** Les pistacheraies algériens : état actuel et dégradation .in AK B.E. (ed.).XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM. Cahiers Options Méditerranéennes. N56/107-109
7. **Beltran,G.,del Rio,C.,Sanchez,S.,&Martinez,L.(2004).**influence of Harvest Date and Crop Yield on the Fatty Acid Composition of Virgin Olive Oils from Cv.Picual.*Journal of Agricultural and food chemistry* **52**(11),3434-3440.
8. **Benhassaini, H., Belkhodja, M .(2004).**Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la suivie et disparition. *La feuille et l'aiguille.***54** :1-2
9. **Benabderrahmane, M.,Benali , M ., Aouissat , H ., Jordan Buesso, M-J., (2009)** .Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *PistaciaatlanticaDesf.*De l'Algérie. *Phytothérapie.***7** :304-308.
10. **Bentireche , F.,Guenane, H.,&Yousfi,M.(2019).**Fatty Acids , the UnsaponifiableMatter,and Polyphenols as Criteria to Distinguish *Pistacia atlantica* Unripe Fruit Oil .*Journal of the American Oil Chemists'Society.*

11. **Benzie, L.F., Strain, J.J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.* **239**(1):70-6
12. **Carr, A.C., Zhu, B.Z., & Frei, B. (2000).** Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E). *Circulation research*, **87**(5), 349-354
13. **Charrouf M., 1984.** Contribution à l'étude chimique de l'huile d'*Argania spinosa* (L.) (Sapotaceae). Thèse Sciences Univ. de Perpignan. France
14. **Cuvelier, C., Dotreppe, O., and Istasse, L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. faculté de Médecine Vétérinaire, **147**, 315-324.
15. **Cuvelier, C., Cabaraux, J.-F., Dufrasne, I., Hornick, J.-L., Istasse, L. (2004).** Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Méd. Vét.* **148** :133-140
16. **Deaton, CM. Marlin, DJ. (2003).** Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, Vol 2(3), pp. 278-291.
17. **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier Ed TEC & DOC. Paris. 1-405
18. **Denisov, E.T., A fanas'ev I.B. (2005).** Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds : Taylor & Francis Group (U.S.A), pp. 703-861
19. **Emmerie, A. Engel, C.H.R. (1939).** Estimation of tocopherol in blood serum. *Rec. trav. Chim. Pays-bas.* **58** :895-902
20. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* : 108-115
21. **Favier, A. (2006).** Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy* SAGE Journal, Vol **64**, pp. 390-396.
22. **Ghalem BR, Mohamed B (2009)** Essential oil from gum of *Pistacia atlantica* Desf.: Screening of antimicrobial activity. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* **3**(3): 087-091

- 23. Gourine,N.,Yousfi,M.,Bombarda,I.,Nadjemi,B.,Stocker,P.,&Gaydou,E.M.(2010).**Antioxydant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and products*,**31**(2),203-208
- 24. Guenane , H.,Bombarda,I., Ould Elhadjie,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.
- 25. Guenane,H.(2017).**Activités biologiques des extraits lipidiques des fruits du Pistachier de l'Atlas ( *PistaciaatlanticaDesf*).Thèse de doctorat,UniversitéKasdiMerbah-Ouargla,
- 26. Harfouche, A., Chebouti-mezinou, N., Chebouti, Y. (2005).**Comportement comparé de quelques provenances algériennes de Pistachier de l'Atlas introduites en réserve naturelle de Mergueb (Algérie). *Forêt méditerranéenne* .t.XXVI (n °2) : 135-142.
- 27. Harris, A.L. (2002).** Hypoxia a key regulatory factor in tumor growth. *Nature Reviews Cancer*. Vol **2**(1), pp. 38-47.
- 28. Haton . (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp .:
- 29. Heuett, W,J., and Periwal, V.(2010)** Autoregulation of Free Radicals via Uncoupling Protein Control in Pancreatic b-Cell Mitochondria. *Bio Jrnl*. Vol **98** .207–217
- 30. Jahouach-Rabai W., Trabelsi M., Van Hoed V., Adams A., Verhé R., De Kimpe N. and Frikha M.H. 20087.** Influence of bleaching by ultrasound on fatty acids and minor compounds of olive oil. Qualitative and quantitative analysis of volatile compounds (bySPME coupled to GC/MS). *Ultrasonics Sonochemistry*, 15 (4): 590-597.
- 31. Kandji (2001).** Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Cheikh AntaDiop, Faculté de médecine, de pharmacie et d'onto-stomatologie, Dakar, 66 p.
- 32. Kazeem M-I., Akanji M-A., Hafizur- Rahman M., Choudhary M-I. (2012).** Antigliycation, antioxidant and toxicological potential of polyphenol extracts of alligator pepper, ginger and nutmeg from Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 727-732.

- 33. Kohen R. and Nyska A.** Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* 2002;**30**: 620-650.
- 34. Maamri,S(2008).** Etude de pistaciaatlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides , dosage des polyphénols , essais antileishmaniens .Mémoire de Magister en sciences Université M'hamed Bougara .Boumerdes.108p.
- 35. Mates, J. M., Perez-Gomez, C., & Castro, N. I. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *ClinBiochem*, 32, 595 – 603
- 36. Murry R. D. H., Mendez J., Brown S. A., 2013-** the natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. 702 p.
- 37. Mercan, MD. (2010).** Le stress oxydatif. Unilabs A.R.L., Lausanne. pp 3-15.
- 38. Mezni,F.,Khouja,M.L.,Gregoire,S.,MartineL.,Khaldi,A.,&Berdeaux,O.(2014).**Effet of growing area on tocopherols,carotenoids, and fatyy acid composition of Pistacialentiscusedible oil .*Natural Product Research*,28(16),1225-1230.
- 39. Molyneux P. 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*. 26 (2): 211-219.
- 40. Monjauze, A. (1980).**Connaissance du bétoum*PistaciaatlanticaDesf.*Biologie et forêt. *Revue Forestière française* .4 :357-363
- 41. Naudet, M. (1992).** Manuel des corps gras, Tome 1. Ed technique et documentation, Lavoisier, Paris : p.1020-1198.
- 42. Naskar, S.; Islam, A.; Mazumder, U. K.; Saha, P. ;Haldar, P. K.; and Gupta, M. (2010).** In Vitro and In Vivo Antioxidant Potential of Hydromethanolic Extract of *Phoenixdactylifera*Fruits. *J. Sci. Res*, **2 (1)**, 144-157.

43. **Niki L, Reynaert SW, Aesif T, McGovern, Amy B, Emiel FM, Wouters C, Irvin Yvonne MW, Janeen H. (2007).** Catalase Overexpression Fails to Attenuate Allergic Airways Disease in the Mouse .the journal of immunology ..**178** : 3814-3821.
44. **Pannelli, G., Servili, M., Servaggini, R., Baldioli, M., & Montedoro, G. F. (1993).** EFFECT OF AGRONOMIC AND SEASONAL FACTORS ON OLIVE (OLEA EUROPAEA L.) PRODUCTION AND ON THE QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF THE OIL. In *II International Symposium on Olive Growing 356* (pp. 239-244).
45. **Prior RL, Cao G.** In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med*, 1999 ;**27**(11-12) : 1173-81.
46. **Quézel, P., Médail, F. (2003).** Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Elsevier, Collection Environnement. Paris .576p.
47. **Ratnam, VD. Ankola, DD. Baradwaj, V. Sahana, DK. Ravi Kumar, MNV. (2006).** Role of antioxidants in Sciences, **Vol 81**, pp. 895-905.
48. **Roberfroid, M., 2002.** Aliments fonctionnels. Eds. TEC and DOC. Paris. pp: 282- 310.
49. **Salama, H.M.H., Al Watban, A.A., & Al-Fughom, A.R. (2011).** Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **18**(1)79-86
50. **Sies H. et Jones D.P. (2007).** Oxidative stress. In Fink G. *Encyclopaedia of stress*. San Diego: Elsevier, p. 45-48
51. **Siret C. 2004.** Les composants chimiques des produits alimentaires. *Techniques de l'ingénieur*, f1010, 20 p.
52. **SOMON E., 1987** - Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie. OPU Alger. P 03.
53. **Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006).** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts .*Journal of Food Composition and analysis* 19(6-7), 699-675.
54. **Thorne, R.F., Reveal, J.L. (2007).** An updated classification of the class Magnoliopsida (Angiospermae). *The Botanical Review* .**73** (2) :67-182.
55. **Tomomi M, Masamitsu S, Hideaki H (2017).** Retinal Diseases Associated with Oxidative Stress and the Effects of a Free Radical Scavenger (Edaravone), *Molecular*

Pharmacology, Department of Biofunctional Evaluation, Gifu Pharmaceutical University, Gifu, Japan, 1-14.

- 56. Valko,M.,Rhodes,C.J.,Izekovic,M.,Mazur,M(2006).**Free radicals,metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.Chem.Biol Interac.160:1-40.
- 57. Voet,D.,G.Voet,J.(1998).**Biochimie,2 éme édition,de boeck,p278-284.
- 58. Wang, X. et Quinn, P. J. (2006).**The structure and phase behaviour of  $\alpha$ -tocopherol rich domains in 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylethanolamine. Biochimie**88**, 1883-1888.
- 59. Yousfi,M.,Nedjmi,B.,Bellal ,R. ,Ben Bertal ,D.,Palla,G(2002) .** Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil .J.Am.Oil.Chem.Soc**79(10)** :1049-1050.
- 60. Yousfi,M.,Nedjmi,B.,Bellal ,R. ,Ben Bertal ,D.(2003).**Etude des acides gras de l'huile de fruit de Pistachier de l'Atlas algérien .Oléagineux .Corps gras .Lipides.**10(5-6)** :425-427
- 61. Yousfi,M.,Djeridane,A.,Bombarda,I.,Hamia,Ch.,Duhem,B.,Gaydou,E.M.(2005).**Triacylglycerol composition of oil from *Pistacia atlantica* of fruit growing in Algeria. J. Am. Oil .Chem.Soc**82(2)**:93-96
- 62. Zhou, K., Su, L., and Yu, L.L. (2004).** Phytochemicals and antioxidant properties in WheatBran. J. Agric. Food Chem.**(52)**, p: 6108-6114.
- 63. Zielinska,A.,Nowak,I.,Mickiewicz,A(2014).**Tocopherols and tocotrienols as vitamin E.Chimik**68**,7pp585-594.
- 64. Zohary, M(1952).**A monographical study of the *genus Pistacia* .*Palestine J.Bot Jerusalem* . **Vol.5** : 187-228
- 65. Guersasse A , (2018)** دراسة فيتوكيميائية و النشاط المضاد للأكسدة للزيوت و المستخلصات الفينولية من الاوراق والثمار والعفص للفسنق الاطلسي مذكرة لنيل شهادة ماجستير في البيولوجيا المدسة العليا للاساتذة طالب عبد الرحمن الاغواط ,59p

# **Annexe**

*Annexe 01*

○ **Matériel**

- Ampoule à décanter 250ml
- Ballon à fond rond 250 ml ,500ml
- Becher 50ml ,100ml
- Burette graduée 25ml
- Cuvette (Quartz et plastique)
- Entonnoire
- Erlenmeyere de 50ml ,250ml
- Eprouvette graduée 25ml, 250ml
- Fiole jaugée de 50ml, 100ml, 200ml
- Micropipette
- Papier filtre
- Pipette pasteur
- Tube à essais
- Soxlhet
- spatule

○ **Equipements**

- Balance (KERN ABS)
- Chauffe ballon
- Hotte chimique (ASEM)
- Rotavapeur (BUCHI R-200).
- Spectrophotométrie UV /visible (SHIMADZU 1601)
- Vortex (VELPscientifica)
- Etuve

*Annexe02*

- **Les réactifs et produits chimiques**
  - **Acide acétique.**
  - **Acide chlorhydrique (HCL).**
  - **Alpha –tocophérol (vitamine E).**
  - **Ethanol absolu.**
  - **Dichloromethane.**
  - **Phénantroline.**
  - **Sulfate de sodium anhydride (Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>).**
  - **Trichlorure de fer (FeCL<sub>3</sub>).**
  - **2,2-diphényl -1-picrylh�razyl (DPPH)**
  - **2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)**
  - **solutionméthanolique de soude (NaOCH<sub>3</sub> )**
  - **gel de silice**
  - **sodium acetatetrihydrate**
  - **méthanol**

## Annexe 03

Le teneur d'huiles des extrais huileux de Tilghimt

Les Arbres de Tilghimt	Les différentes parties	Masse d'échantillons(g)	Masse d'huile extrait (g)	Rendement %
1	F 1	307,79	14,29	4,65
	TFrNR1	72,55	17,85	24,61
	TFrRJ1	105,5	7,53	7,14
	TFrVF1	81,31	31,69	38,98
	G1	25,21	1,04	4,15
2	F 2			5,13
	TFrNR2	32,27	10,70	26,55
	TFrRJ2	101,23	10,94	10,82
	TFrVF2	30,27	10,70	35,37
	G2	36,54	1,53	4,2
3	F3	288,8	16,81	5,82
	TFrVF3	62,16	24,19	38,92
	G3	110,5	3,07	2,79
4	F4	212,42	11,00	5,18
	TFrNR4	63,71	15,08	23,68
	TFrRJ4	75,01	9,62	12,83
	G4	19,42	0,67	3,47
5	F5	213,19	11,42	5,36
	TFrNR5	58,52	21,67	37,04
	TFrRJ5	66,43	2,59	3,91
	G5	40,75	1,66	4,09

## Le teneur des extrais huileux d'Aflou

Les Arbres d'Aflou	Les différentes parties	Masse d'échantillons(g)	Masse d'huile extrait(g)	Rendement %
1	F 1	233,76	17,06	7,30
	AFrNR1	68,57	22,42	23,73
	AFrRJ1	94,49	7,25	7,68
	G1	169,38	6,03	3,56
2	F 2	256,82	19,31	7,52
	AFrVF2	56,97	23,28	24,64
	G2	143,56	4,77	3,32
3	F3	98,29	4,59	4,68
	AFrVF3	61,03	22,54	23,86
	G3	168,724	5,09	3,01

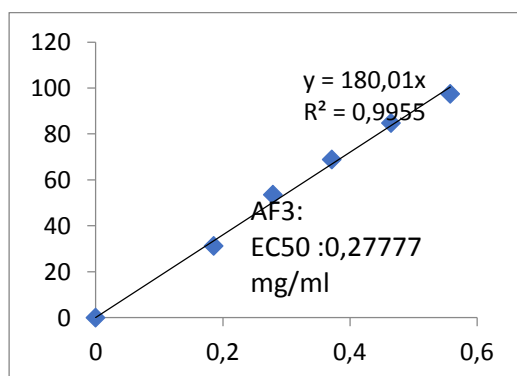
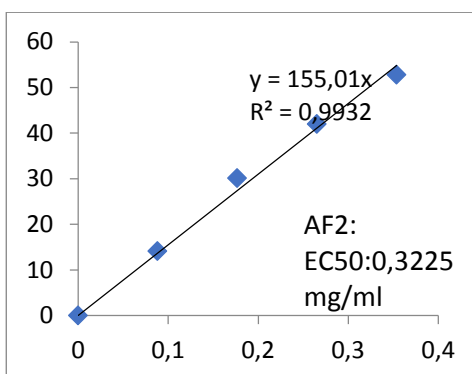
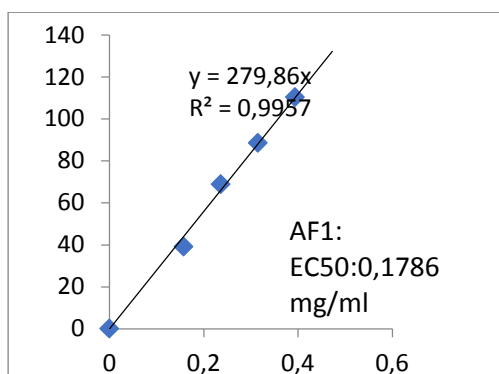
## Annexe04

Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibitions des radicaux libres.

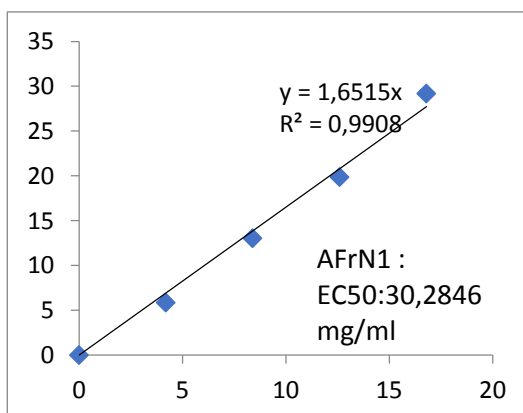
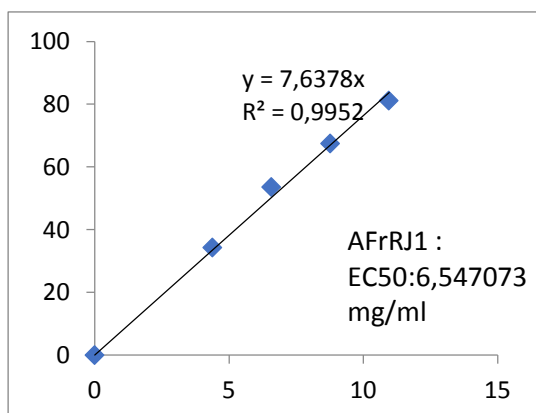
DPPH en fonction de la concentration des extraits d huiles pour chaque échantillon.

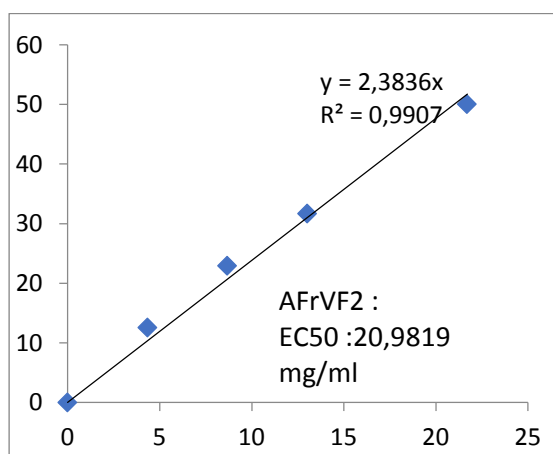
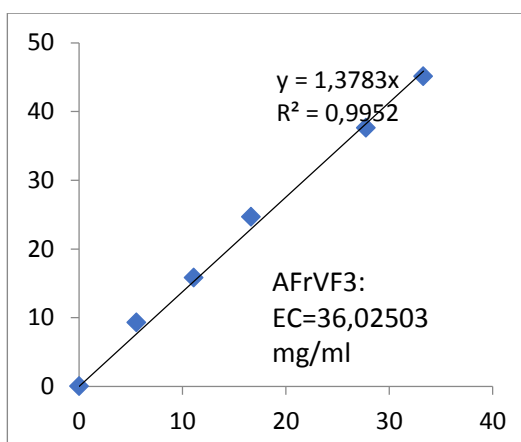
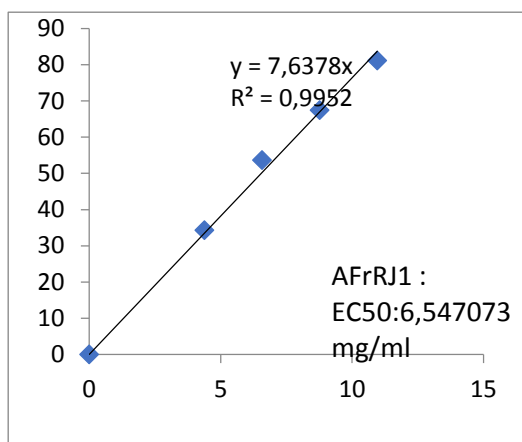
## Aflou

## Les Feuilles :



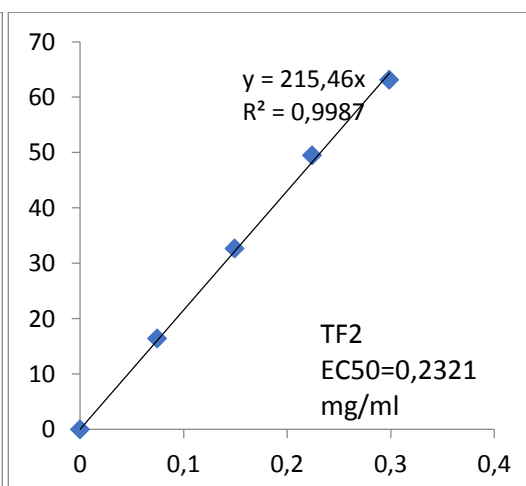
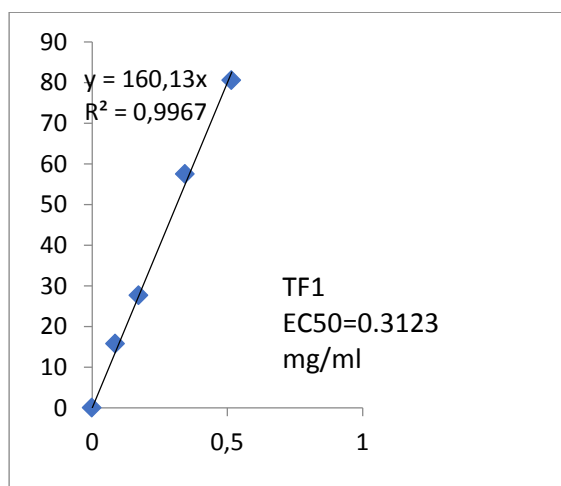
## Les Fruits :

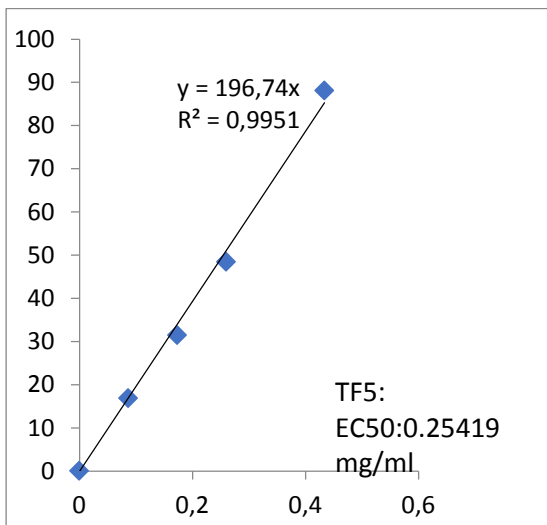
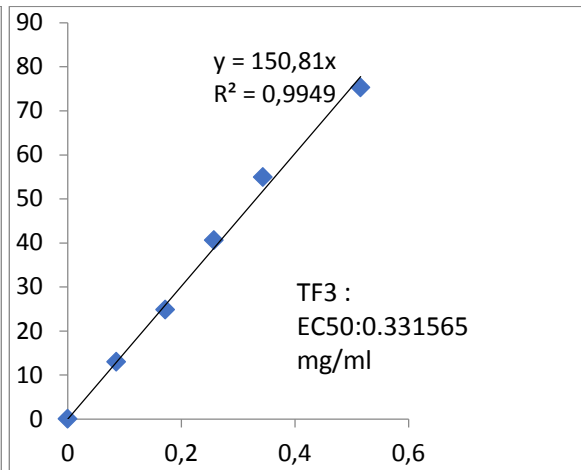
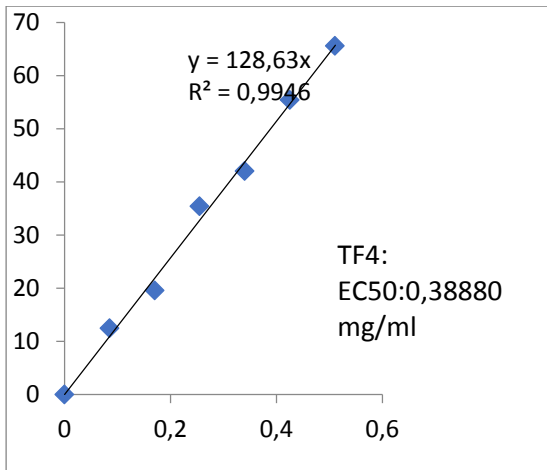




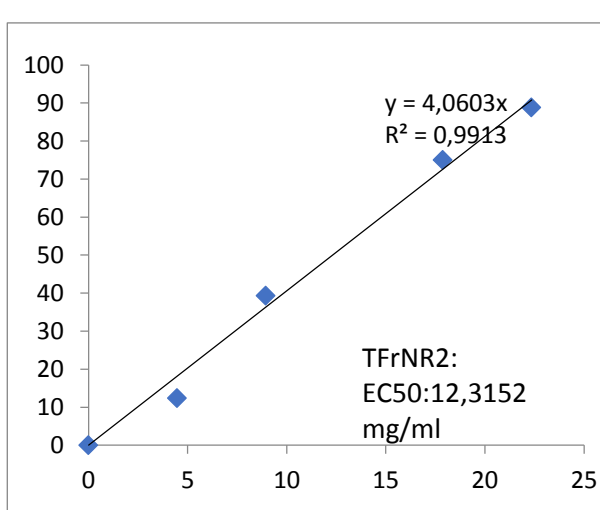
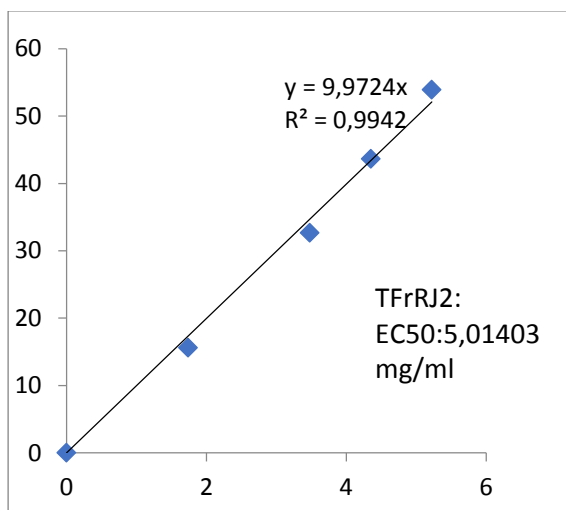
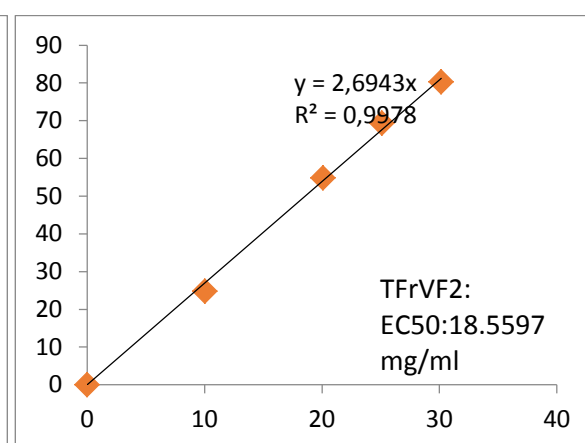
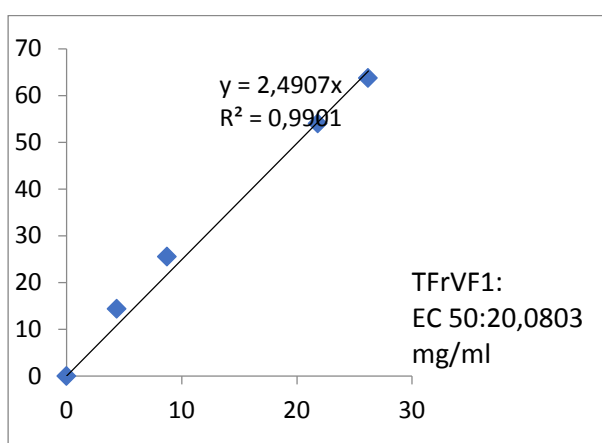
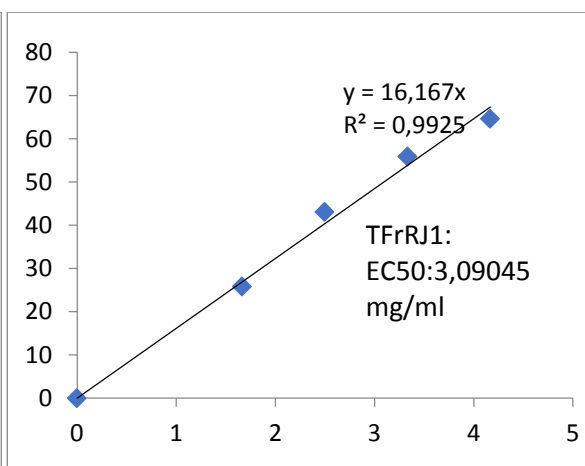
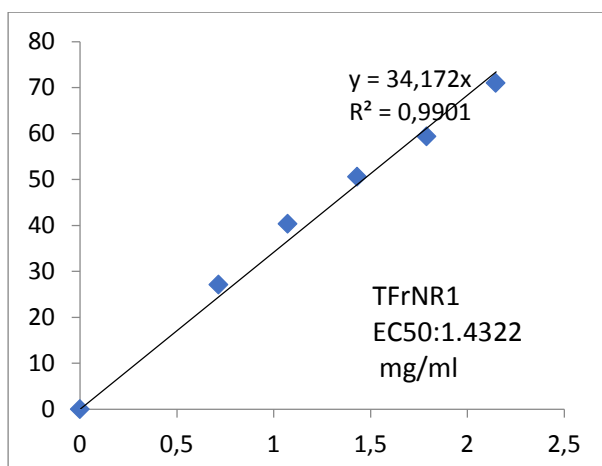
**Tilghimt :**

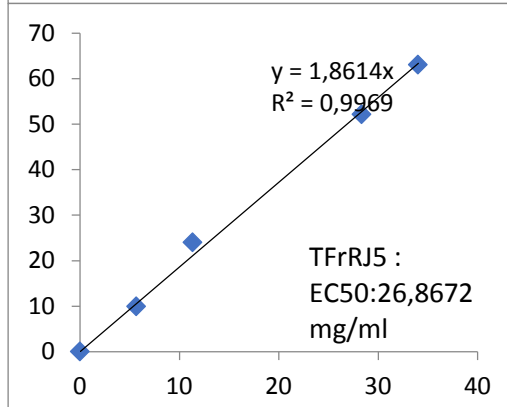
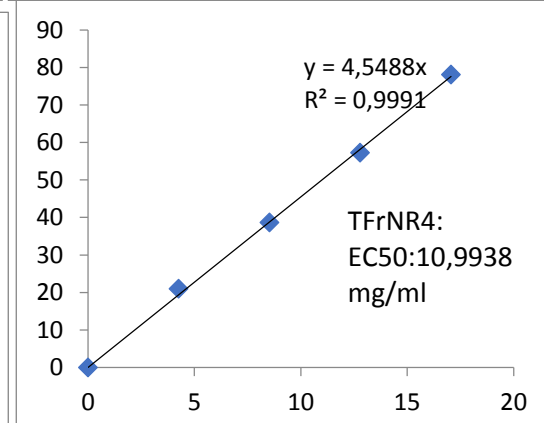
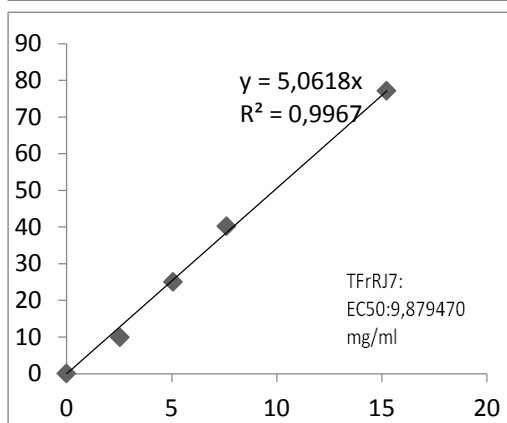
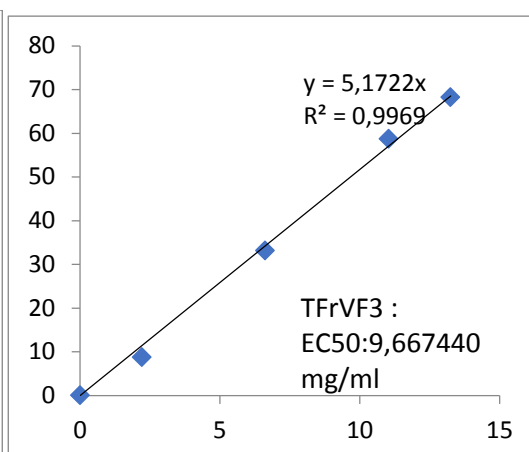
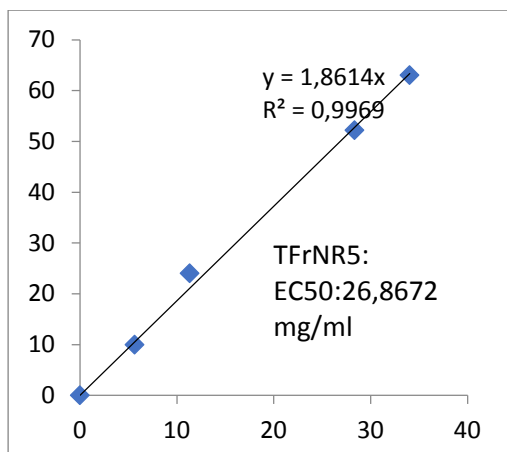
**Les feuilles :**





## Les fruits :





## Annexe05

Les tableaux ci-dessous présentent les moyennes et l'écart types des différents paramètres étudié pour nos échantillons

Rendement d'huiles	Moyenne		Ecart type	
	Aflou	Tilghimt	Aflou	Tilghimt
Région				
feuilles	6,50	5,23	1,58	0,42
Fruits matures	24,08	33,58	0,49	6,37
Fruits immatures	7,68	8,67	/	3,95
galles	3,30	3,74	0,27	0,61

Teneur en caroténoïde (mg/g)	Moyenne		Ecart type	
	Aflou	Tilghimt	Aflou	Tilghimt
Région				
Feuilles	51,50	21,36	5,02	6,50
Fruits matures	0,12	0,10	0,07	0,03
Fruits immatures	0,37	0,36	/	0,27

Teneur en tocophérol (mg/100g)	Moyenne		Ecart type	
	Aflou	Tilghimt	Aflou	Tilghimt
Région				
feuilles	8144,51	9049,04	1001,20	2573,65
Fruits matures	136,21	280,64	77,14	114,30
Fruits immatures	825,51	1551,44	/	1303,27

Pouvoir antioxydant (EC50)	Moyenne		Ecart type	
	Aflou	Tilghimt	Aflou	Tilghimt
Région				
Feuilles	0,26	0,30	0,07	0,60
Fruits matures	29,10	14,28	7,59	8,27
Fruits immatures	6,55	4,87	/	3,64

Pouvoir réducteur	Moyenne		Ecart type	
	Aflou	Tilghimt	Aflou	Tilghimt
Région				
Feuilles	849,89	638,72	318,44	177,60
Fruits matures	58,16	23,26	58,84	11,42
Fruits immatures	189,94	70,35	/	61,92

La composition en acides gras (feuilles)	Moyenne		Ecart type	
	Aflou	Tilghimt	Aflou	Tilghimt
Région				
Acide palmitique	23,59%	18,34%	5,9%	2,06%
Acide oléique	17,66%	11,83%	4,55%	4,16%
Acide linoléique	13,34%	15,03%	3,56%	2,96%
Acide Linoléique	20,50%	25,92%	6,73%	5,03%

La composition en acides gras (fruits)	Moyenne		Ecart type	
	Aflou	Tilghimt	Aflou	Tilghimt
Région				
Acide palmitique	21,13%	19,36%	3,71%	2,83%
Acide oléique	53,16%	53,61%	3,08%	2,98%
Acide linoléique	22,45%	22,15%	4,09%	3,39%

## Annexe06

## Test de student

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

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.

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s_p \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

avec :

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_{X_1}^2 + (n_2 - 1)s_{X_2}^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

## Tableau de loi de student

k	$\gamma$										
	0.25	0.20	0.15	0.10	0.05	0.025	0.010	0.005	0.0025	0.0010	0.0005
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.71	31.82	63.66	127.3	318.3	636.6
2	0.816	1.061	1.386	1.886	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	2.776	3.747	4.604	5.598	7.173	8.610
5	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	4.773	5.893	6.869
6	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	4.317	5.208	5.959
7	0.711	0.896	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	2.306	2.896	3.355	3.833	4.501	5.041
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	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	4.015
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
$\infty$	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	2.807	3.090	3.291

## Annexe 07

**Tableau :** Données climatiques enregistrées au niveau de la station météorologique de Hassi R'mel

Année	Mois	T moyenne en °C	Précipitation (mm)
2016	Janvier	10,7	00
	Février	12,0	00
	Mars	14,0	00
	Avril	20,3	1,7
	Mai	27,7	00
	Juin	29,6	00
	Juillet	32,3	00
	Aout	30,6	00
	Septembre	26,2	22,7
	Octobre	21,9	5,0
	Novembre	13,4	5,1
	Décembre	9,0	18,3

**Tableau :** Données climatiques enregistrées au niveau de la station météorologique de ElGhaicha

Année	Mois	T moyenne en °C	Précipitation (mm)
2016	Janvier	7,4	10,6
	Février	8,2	40,0
	Mars	8,6	41,1
	Avril	14,8	30,2
	Mai	18,4	5,3
	Juin	23,7	5,2
	Juillet	27,2	00
	Aout	26,0	18,5
	Septembre	21,1	76,5
	Octobre	16,2	4,4
	Novembre	8,8	28,1
	Décembre	5,7	38,4