

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

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

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie des produits naturels*

### THEME

---

## Activité antioxydante des fruits du pistachier de l'Atlas

---

Soutenu le (05/06 /2016)

Présenté par :

Daoudi zahia  
Regagui karima

Devant le jury :

Président : Mr. YOUSFI M

Promoteur : Mr. Guenane H

Examinatrice : Mme. HamiaCh

*Promotion : 2015 – 2016*

## *Dédicaces*

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

*A mon père **Manad**, pour l'encouragement et le soutien*

*A ma mère **Friha**, la meilleure source de conseils*

*A mes frères **Lahcen** et **Houcine** pour le lien fort*

*A mes **sœurs**, pour l'amour.*

*A mes **amis**, pour notre vie sociale*

*très animée : **Sarah, Zahia, Reguia,***

***Massouda, Fatima, Linda***

*Et tous les autres...*

*Karima*

## *Dédicaces*

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

*A mon père qui a tout fait pour mon bien être*

*A ma mère pour son sacrifice et affection*

*A mes frères Mohamed et Mahmoud*

*Et à la mémoire de mon frère Ahmed*

*A mes sœurs Achoura, Zohra, Fatima*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis.*

*Zahia*

# *Remerciements*

*Les travaux présentés dans cette mémoire ont été effectués au  
Laboratoire de recherche des Sciences Fondamentales,  
Université Amar Telidjide Laghouat.*

*Merci ALLAH de nous avoir donné, la puissance et la volonté de  
réalisé ce modeste travail.*

*Nous adressons un très grand merci à nos chers **parents**.*

*Nous adressons nos remerciements à notre promoteur **Mr.**  
**GUENANE hamid** pour, l'encadrement, les encouragements,*

*La confiance, et pour tous ce qu'il nous a fait. Merci.*

*Il est aussi agréable de remercier Mlle **Bentireche Fatna** pour sa  
solidarité.*

*Nous remercions également tous **les membres du jury** pour avoir  
accepté d'examiner notre travail.*

*Un **grand** merci à tous nos chers **professeurs et enseignants**.*

*Et à tous ceux qui ont contribué un jour à notre  
éducation, et toutes les personnes qui ont  
contribué à l'obtention de ce diplôme.*

## Table des matières

Dédicaces	
Remerciement	
Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	I
	V
Introduction.....	1
<b>Première partie : Etude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Généralité sur <i>Pistacia atlantica</i></b>	2
I.1 Présentation de l'arbre <i>Pistacia atlantica</i> .....	3
I.2 Systématique du <i>Pistacia atlantica</i> .....	4
I.3 Distribution de <i>Pistacia atlantica</i> .....	4
I.4 Utilisation de <i>Pistacia atlantica</i> .....	4
<b>Chapitre II : les composés phénoliques</b>	
II.1 Généralités .....	6
II.2 Biosynthèse des composés phénoliques.....	6
II. 2.1. voie de l'acide shikimique.....	7
II. 2.2. voie de l'acide acétique.....	9
II. 2.3. Voie de phénylpropanoïdes.....	11
II. 3. Classification.....	12
II. 3.1 Les composés non flavonoïdes.....	12
II. 3.1.1 Phénols simples et les acides phénoliques.....	12
II. 3.1.1 .1 Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	12
II. 3.1.1.2 Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique .....	13
II. 3. 1.1.3 Coumarines .....	13
II. 3. 1.1.4 Les stilbènes.....	14
II. 3. 1.1.5 Les lignanes.....	14
II. 3. 2 Les flavonoïdes.....	15
II. 3. 2 .1 Les flavonoïdes .....	15
II. 3. 2 .2 Les anthocyanes.....	15
II. 3.2 .3 Les tannins.....	16
II. 3.2 .3.1 Tanins hydrolysables.....	16
II. 3.2 .3.2 Tanins condensés.....	17
II. 4- Rôle et Propriétés biologiques des polyphénols .....	17
<b>Chapitre III : les huiles végétales</b>	
III.1 Généralités .....	19

III.2 Composants des huiles végétales .....	19
III.2-1 Les triglycérides .....	20
III.2-2 Constituants mineurs .....	21
III.2.2.1 lipides à caractère polaire .....	21
phospholipides .....	21
a) Les glycérophospholipides .....	21
b) Les sphingophospholipides .....	22
III.2.2.2 Les constituants non glycéridiques .....	22
III.2.2.2-1 Le tocophérol .....	22
III.2.2.2-2 Les caroténoïdes.....	23
III.2.2.2-3 Les composés phénoliques .....	23
III.2.2.2-4 Les stérols végétaux .....	24
III.2.2.2-5 Les cires .....	25
III. 3 Classification des huiles végétales.....	25
III.3.1 les huiles saturées.....	25
III.3.2 Les huiles (semi-siccatives).....	25
III.3.3 Les huiles tri-insaturées (siccatives).....	25
III.4 Rôles et intérêt biologiques des huiles végétales.....	25
III.4.1 Huiles végétales et nutrition.....	25
III.4.2 Huiles végétales et santé .....	26
III.4.3 Huiles végétales et beauté.....	26
<b><i>Chapitre IV : les radicaux libres et pouvoir antioxydant</i></b>	
IV.A Les radicaux libres.....	27
IV.A.1 Les radicaux libres.....	27
IV.A.2 Origines et types des oxydants.....	27
IV.A.2.1 Types des oxydants .....	27
IV.A.2.2 Origines des oxydants .....	28
IV.A.3 Le stress oxydatif.....	29
IV.A.4 Les conséquences biologiques de stress oxydative.....	29
IV.A.4.1 Les lipides .....	30
IV.A.4.2 Les protéines .....	30
IV.A.4.3 Les acides nucléiques .....	31
IV.B Le pouvoir antioxydant .....	32

IV.B.1 Les antioxydants .....	32
IV.B.1.1 Les antioxydants enzymatiques .....	32
IV.B.1.1.1 le superoxyde dismutase (SOD) .....	32
IV.B.1.1.2 La catalase(CAT) .....	32
IV.B.1.1.3 Les glutathions peroxydases et réductases .....	32
IV.B.1.2 les antioxydants non enzymatiques .....	33
IV.B.1.2.1 les antioxydants non enzymatiques endogènes .....	33
IV.B.1.2.2 les antioxydants non enzymatiques exogènes .....	34
IV.B.1.2.2.1 Vitamine C (acide ascorbique).....	34
IV.B.1.2.2.2 Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) .....	34
IV.B.1.2.2.3 Les Caroténoïdes .....	34

### ***Deuxième partie : Etude Expérimentale***

#### ***Chapitre I : matériels et méthodes***

I.1. Matériels .....	35
I.1.1 Appareillages et produits chimiques .....	35
I.1.2 Matériel végétale .....	35
I.2. Méthodes .....	36
I.2.A. Traitement des tourteaux.....	38
I.2.A.1. Extraction et analyse quantitative.....	38
I.2.A. 1.1. Extraction des polyphénols .....	38
I.2.A.1.2 Analyse quantitative des polyphénols .....	38
I.2.A.1.2.1 Dosage des phénols totaux .....	38
I.2.A. 1.2.1.1 Principe de méthode .....	38
I.2.A. 1.2.1.2 Protocole expérimentale.....	39
I.2.A. 1.2.2.1. Dosage des flavonoïdes .....	39
I.2.A. 1.2.2.2. Protocole expérimentale .....	39
I.2.A. 2. Evaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH....	39
I.2.A .2.1. Principe de la méthode .....	40
I.2.A. 2.2. Protocole expérimental .....	40
I.2.B. traitement des huiles .....	41
I.2.B.1. Extraction des huiles par la technique de soxhlet .....	41
I.2.B.2. Tests avant extraction des composés phénoliques à partir des huiles .....	41
I.2.B.2.2. Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles par le test DPPH .....	42

I.2.B.3. l'extraction et analyse quantitative .....	42
I.2.B.3.1. Extraction des composés phénolique à partir des huiles.....	42
I.2.B.3.2 Analyse quantitative.....	43
I.2.B.3.2.1 Dosage des polyphénols.....	43
I.2.B.3.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	43
I.2.B.4. Evaluation de pouvoir antioxydant des extraits phénoliques par le piégeage de radical libre DPPH.....	44
I.2.B.5. Analyse statistique des donnes.....	44
<b>Chapitre II : résultats discussions</b>	
II.1. Etude des composés phénoliques au niveau des tourteaux et au niveau des huiles correspondantes.....	45
II.1. 1. Traitement des tourteaux.....	45
II.1.1.1. Extraction des polyphénols et analyse quantitative (dosage des phénols totaux, Flavonoïdes) à partir des tourteaux .....	45
II.1.2. Traitement des huiles.....	48
II.1.2.1. Extraction des polyphénols et analyse quantitative (dosage des Phénols totaux, Flavonoïdes) à partir des huiles.....	48
II.2. Activités antioxydantes au niveau des extraits phénoliques des tourteaux et au niveau des huiles.....	51
II.2.1.Résultat d'évaluation de pouvoir antioxydant des extraits phénoliques bruts des tourteaux contre le radical libre DPPH°.....	51
II.2.1.1. Relation entre teneurs phénoliques et activité antioxydante.....	53
II.2.2. Analyse quantitative et évaluation du pouvoir antioxydant des composés des huiles par test de piégeage du radical libre DPPH°.....	54
II.2.2.1. Dosage des tocophérols et l'évaluation d'activité antioxydante avant et après l'extraction des phénols totaux à partir les huiles.....	54
II.2.2.2. Relation entre le pouvoir anti radicalaire et les teneurs en tocophérols totaux avant et après extraction des phénols totaux. ....	58
Conclusion .....	60
Références bibliographiques .....	61
Les annexes .....	
Résumé.....	

## Liste des tableaux

	<b>Pages</b>
<b>Tableau 01.</b> Quelques utilisations de la plante dans différents pays.....	<b>05</b>
<b>Tableau 02.</b> Espèces réactives d'oxygène (EOR).....	<b>27</b>
<b>Tableau 03.</b> Espèce réactive d'azote (ENR).....	<b>28</b>
<b>Tableau 04.</b> Les principaux antioxydants enzymatiques.....	<b>33</b>
<b>Tableau 05.</b> Données géographiques des régions de récolte.....	<b>35</b>
<b>Tableau 06.</b> Caractéristiques des fruits de <i>Pistacia atlantica</i> étudiés.....	<b>36</b>
<b>Tableau 07.</b> Compositions des mélanges des huiles .....	<b>41</b>
<b>Tableau 08.</b> Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes pour les 10 échantillons testés .....	<b>46</b>
<b>Tableau 09.</b> Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les mélanges huileux.....	<b>49</b>
<b>Tableau 10.</b> Comparaison entre les teneurs phénoliques des tourteaux et des huiles. ....	<b>50</b>
<b>Tableau 11.</b> Activité antioxydante des extraits phénoliques bruts exprimée par EC50.....	<b>52</b>
<b>Tableau 12.</b> Corrélation entre les teneurs phénoliques dans les extraits des tourteaux obtenus des fruits de chaque arbre (tous stades de maturation confondus) et l'EC50.....	<b>53</b>
<b>Tableaux 13.</b> Teneurs en tocophérols totaux et activité antioxydante des huiles (exprimée par EC50) avant et après extraction des polyphénols .....	<b>55</b>
<b>Tableaux 14.</b> Activité antioxydante (exprimée par EC50) des extraits phénoliques des huiles .....	<b>57</b>

## Liste des figures

	Pages
<b>Figure 01.</b> le pistachier de l'Atlas.....	02
<b>Figure 02.</b> Fruits de <i>Pistacia atlantica</i> .....	03
<b>Figure 03.</b> Résumé des principales voies de biosynthèse des acides phénoliques.....	07
<b>Figure 04.</b> Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate.....	08
<b>Figure 05.</b> Formation du noyau chalcone, point de départ de la synthèse des flavonoïdes.....	09
<b>Figure 06.</b> La voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	10
<b>Figure 07.</b> La voie de biosynthèse phénylpropanoïdes.....	11
<b>Figure 08.</b> Structure des divers acides hydroxybenzoïques.....	12
<b>Figure 09.</b> Structure des principaux acides hydroxycinnamiques, représentés sous forme trans (à gauche) et cis (à droite).....	13
<b>Figure 10.</b> Structures des coumarine et hydroxycoumarine.....	13
<b>Figure 11.</b> Deux différentes structures des stilbènes.....	14
<b>Figure 12.</b> Structure de lignane.....	14
<b>Figure 13.</b> Structure chimique de base des flavonoïdes.....	15
<b>Figure 14.</b> Structure des principaux anthocyanes.....	16
<b>Figure 15.</b> Structure des principaux tanins.....	17
<b>Figure 16.</b> constituants des huiles végétales.....	20
<b>Figure 17.</b> formule général des triglycérides.....	21
<b>Figure 18.</b> Représentation de diverses structures des glycérophospholipides...	22
<b>Figure 19.</b> Représentation d'un sphingophospholipide (sphingosine).....	22
<b>Figure 20.</b> Structure chimique des tocophérols et tocotriénols.....	23
<b>Figure 21.</b> Les principales composées phénoliques dans l'huile d'olive.....	24
<b>Figure 22.</b> Structure de base des stérols.....	24
<b>Figure 23.</b> Les source des espèces réactives d'oxygène (EOR).....	27
<b>Figure 24.</b> Déséquilibre entre les oxydants et antioxydants.....	28
<b>Figure 25.</b> Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR.....	30

<b>Figure 26.</b> Les effets nocifs du stress oxydatif sur la santé humaine.....	<b>31</b>
<b>Figure 27.</b> Diagramme représentant les grandes lignes de notre étude.....	<b>37</b>
<b>Figure 28.</b> Structure chimique du radical libre DPPH° .....	<b>40</b>
<b>Figure 29.</b> Schéma représentant les étapes d'extraction des polyphénols à partir des huiles.....	<b>43</b>
<b>Figure 30.</b> Courbes d'étalonnage de l'acide gallique (à droite) et de la quercétine (à gauche).....	<b>46</b>
<b>Figure 31</b> Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes pour les échantillons .....	<b>47</b>
<b>Figure 32.</b> : Courbe représente l'activité antioxydante de la vitamine C contre le radical libre DPPH°.....	<b>51</b>
<b>Figure 33.</b> Régression entre l'activité antioxydante (formuler par EC50) et les teneurs en phénols totaux des extraits phénoliques bruts au niveau les tourteaux.....	<b>53</b>
<b>Figure 34.</b> Courbe d'étalonnage de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol).....	<b>54</b>
<b>Figure 35.</b> : Evaluation de l'activité antioxydante de la vitamine E contre le radical libre DPPH° .....	<b>55</b>
<b>Figure 36.</b> Activité antioxydante de mélange 1 d'huile avant et après extraction des composés phénoliques.....	<b>56</b>
<b>Figure 37.</b> Activité antioxydante de mélange 2 d'huile avant et après extraction des composés phénoliques .....	<b>56</b>
<b>Figure 38.</b> Activité antioxydante de mélange 3 d'huile avant et après extraction des composés phénoliques.....	<b>57</b>
<b>Figure 39.</b> Régression entre l'activité antioxydante (formuler par EC50) des trois mélanges huileux et les teneurs en tocophérols avant l'extraction des composés phénoliques. ....	<b>58</b>
<b>Figure 40.</b> Régression entre l'activité antioxydante (formuler par EC50) des trois mélanges huileux et les teneurs en tocophérols après l'extraction des composés phénoliques. ....	<b>59</b>

## Liste des abréviations

AGE : Acide gras essentiels  
AGMI : Acide gras monoinsaturé  
AGPI : Acide gras polyinsaturé  
AGS : Acide gras saturé  
CAT : Catalase  
CHS : Chalcone synthétase  
CoA : acétyl coenzyme A  
Cu : cuivre  
DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl  
EAG : Equivalent d'acide gallique  
EC50 : Concentration effective à 50%  
ENR : Espèces réactives d'azote  
EOR : Espèces réactives d'oxygénées  
Fe : Fer  
Flav : Flavonoïdes  
GSH : Glutathion réduit  
GSH-Px : Glutathion peroxydase  
GSSG : Glutathion oxydé  
GST : Glutathion transférase  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène  
HPLC: chromatographie liquide à haut performance  
Mél : mélange.  
Mn<sup>+</sup> : Métal de transition  
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite  
PAL : phénylalanine-ammoniaque-lyase  
Pht : phénols totaux  
PRxs : peroxiredoxins  
R<sup>2</sup> : Coefficient de détermination  
RN(40) : 40 kilomètres de sud de Laghouat  
SOD: Superoxyde dismutase  
TAG: triacylglycérols  
UV : Ultra-violet

# *Introduction générale*

## Introduction

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a utilisé les plantes pour se nourrir et se soigner. Les propriétés thérapeutiques des plantes étaient connues empiriquement depuis l'antiquité et leur valorisation devrait être une priorité des autorités administratives et scientifiques. Une de vertus de ces plantes est de constituer une source inépuisable en substances bioactives dont les antioxydants.

Il est à indiquer que les espèces réactives oxygénées (ERO) sont à l'origine directe de différents états pathologiques tels que le cancer et les maladies cardiovasculaire. Ces dernières années, on assiste à un regain d'intérêt pour les substances bioactives d'origine naturelle. Pour cet objet, plusieurs études contemporaines se sont orientées vers l'évaluation des différents composés végétaux, pour extraire de nouveaux antioxydants, agents antimicrobiens, hypoglycémiantes.....etc (**Bedllalah, 2012**), car l'efficacité des médicaments décroît à cause de leurs effets secondaires sur la santé publique (**Iseri, 2001**).

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) constitue un écosystème important tant sur le plan écologique et biogéographique (**Faouzi, 2015**). Différentes parties de l'arbre ont été étudiées en vue de mettre en évidence des activités pharmacologiques des extraits ou des molécules purifiées (**Yousfi et al., 2009; Gourine et al., 2010; Bozorgi et al., 2013; Guenane et al., 2015**).

Des travaux antérieurs ont rapporté une variation de la composition et de l'activité antioxydante des extraits huileux et phénoliques des fruits de *Pistacia atlantica* selon leur degré de maturation (**Bellakhdar et Bentireche, 2013; Adila et Belboul, 2014; Kessoum, 2014**).

Notre travail se veut une continuité des études réalisées en 2013 et 2014. Il a pour but d'étudier, d'une part, des paramètres tels que la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes ainsi que l'activité antioxydante, par le test DPPH, au niveau des tourteaux délipidés et, de l'autre part, l'activité antioxydante des extraits phénoliques des huiles à partir des fruits à différents degrés de maturation. Dans la présente étude, des échantillons de fruits de cette plante cueillis en juillet (stade très précoce de maturation) ont été testés pour la première fois. Les résultats obtenus, joints à ceux rapportés précédemment, contribueraient à mieux comprendre la variation des paramètres étudiés en fonction de la maturation des drupes.

# *Etude bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Généralité sur pistachier de L'Atlas*

### **I.1 Présentation de l'arbre *Pistacia atlantica***

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) de la famille des Anacardiacées est l'espèce végétale la plus caractéristique de l'Atlas de l'Algérie comme l'indique son nom (**Yousfi et al. , 2003**) . Le pistachier de l'Atlas ou "Betoum" (*Pistacia atlantica* Desf.) est une espèce spontanée, dioïque, ligneuse, à odeur simplement résineuse, à tronc bien individualisé et à feuilles caduques (**Faouzi, 2015**). C'est un grand arbre qui peut atteindre communément 15 à 20 m de hauteur et 1 à 1,5 m de diamètre dont la croissance est lente et ne produit qu'à partir de l'âge de 5 à 7 ans (Figure 1) (**Harfouche et al., 2005**) . C'est un arbre précieux (grâce à ses molécules bioactives) pour les zones méditerranéennes pré désertiques. De plus, cet arbre possède une aptitude de constituer une barrière contre l'avancée du désert et a une résistance à la sécheresse (**Faouzi, 2015**).



**Figure 1:** le pistachier de l'Atlas (**Yaaqobi et al., 2005**).

Les fruits (Figure 2), dont le nom vernaculaire **EIKhodiri**, appellation due à la prédominance de la couleur verte foncée à maturité (**Belhadj,1999**), ou “Tikouaoueche” par la population du Maroc. Le fruit est une drupe comestible ovoïde et aplatie, sèche, un peu charnue, petite et rougeâtre, de 6 à 8 mm de long, d’abord jaune puis vert foncé à maturité, avec un seul noyau osseux ne contenant qu’une graine. La fructification s’achève en septembre-octobre (**Benaradj et al., 2012**).



**Figure 2 :** Fruits de *Pistacia atlantica* (*in Benaradj et al., 2012*).

La régénération naturelle des pieds de *Pistacia atlantica* se fait en général à l’intérieur de touffes de *Ziziphus lotus* (L.) qui protège les jeunes pousses du pistachier de l’Atlas contre le pâturage, et favorise la germination de ses graines et la croissance de ses jeunes pousses en enrichissant le sol par la matière organique (**Yaaqobi et al., 2005**).

## **I.2 Systématique du *Pistacia atlantica***

*Pistacia atlantica* est classé taxonomiquement de la façon suivant (*in Harfouche et al., 2005*).

**Embranchement :** Phanérogames

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Dialypétales

**Ordre :** Sapindales

**Famille :** Anacardiacees ou Pistaciacees

**Genre :** *Pistacia*

**Espèce :** *atlantica* Desf.

**Noms vernaculaires :** betoum en arabe local et Iggh en berbère.

### **I. 3 Distribution de *Pistacia atlantica***

*Pistacia atlantica* est l'une des rares espèces arborescentes présentes dans les régions semi arides, arides voire sahariennes. *Pistacia atlantica* est un arbre dont la majeure partie de l'aire de distribution se retrouve en Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie). Mais on le rencontre également aux îles Canaries, en Libye, à Chypre et au Proche-Orient (**Harfouche et al., 2005**). On le retrouve aussi en Grèce, en Turquie, en Iran et au Pakistan (**Yousfi et al., 2003**). En Algérie, il existe à l'état disséminé dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussara, Messaad), Laghouat (partie sud) et Ghardaia (dans l'ouest m'zab), sa limite extrême se trouve en plein cœur du Hoggar où il existe à l'état de relique. (*in* **Benabdallah., 2012**).

### **I.4 Utilisation de *Pistacia atlantica***

L'arbre fournit un bois d'artisanat et toutes les espèces du pistachier constituent un apport en fourrage considérable pour l'alimentation du bétail surtout en automne (**Belhadj, 2001**).

- ✓ L'écorce et les feuilles, sont utilisées, en décoction, contre les maux de ventre et les douleurs gastriques. En inhalation, les feuilles sont employées comme fébrifuge (**Lahsissene et al., 2009**).
- ✓ Les fruits riches en huile dense très énergétique. L'huile est souvent mélangée aux dattes écrasées et peut être consommée à toute heure de la journée avec du petit lait (**Belhadj, 2001**).
- ✓ Les galles sont utilisées en poudre comme anti diarrhéique et stomachique (**Benchaâbane et Abbad, 1997**).

Le tableau résume quelques utilisations des différentes parties de la plante dans différents pays du monde.

**Tableau 1** : Quelques utilisations de la plante dans différents pays (*in Bozorgi et al., 2013*).

	Partie utilisée	Utilisation	pays
<i>Pistacia atlantica</i>	Fruits	Pour : Mal d'estomac/ toux/ stress/ tonique/ Anti- diarrhéique	Algérie
		Tannage / comme fourrage/ Antiseptique/	Grec
	Feuilles	Antidiabétique/Infection d'œil/	Jordan
		Comme légumes et nourriture.	Turquie
	Résine	Adoucissant/diurétique, emménagogue	Iran
		Curatif des Blessures	Turquie

*Chapitre II*

*Généralité sur les*

*composes phénoliques*

## II.1 Généralités

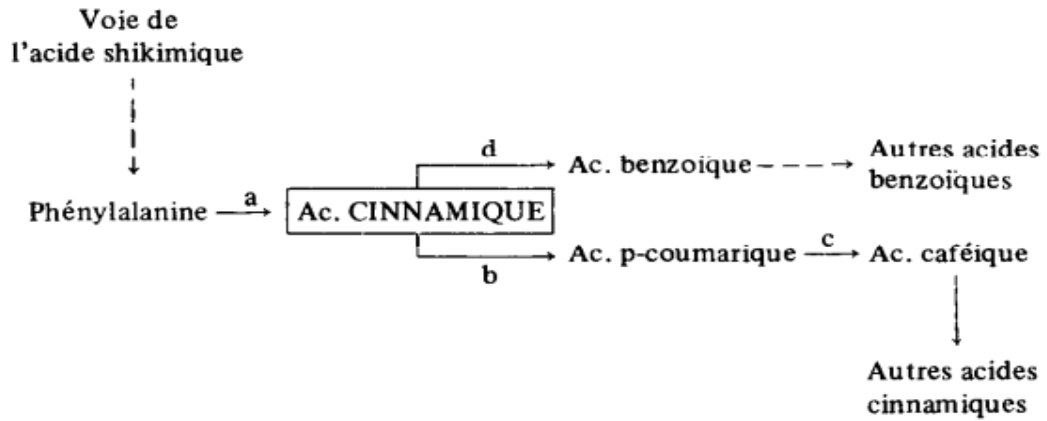
Avec plus de 8000 structures phénoliques connues, les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (**Kabran *et al.*, 2014**). Ils sont caractérisés comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement à masse moléculaire élevée. Ces composés sont le produit du métabolisme secondaire (**N'Guessan *et al.*, 2011**) synthétisés par les plantes pendant leur développement mais aussi comme réponse aux conditions de stress telles que infections, blessures, radiation UV (**Atanasova, 2009**). Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs (**Middleton *et al.*, 2000**).

Leur rôle d'antioxydants naturels dans les plantes est dû à leurs propriétés redox qui leur permettent d'agir soit comme des agents réducteurs (donneurs d'hydrogène), piègeurs de l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) ou des chélateurs de métaux. Grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé, les études sur les polyphénols connaissent une importance croissante. En effet, ils interviennent dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif telles que les cancers, la cataracte, l'athérosclérose, le diabète, l'hypertension artérielle, les maladies neurodégénératives, l'arthrite (**N'Guessan *et al.*, 2011**).

Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué (**Atanasova, 2009**).

## II.2 Biosynthèse des composés phénoliques

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, dérivant tous de l'acide shikimique (Figure 3) (**Bruneton, 1993**). Parmi les enzymes qui catalysent cet ensemble de réactions, il y a la phénylalanine-ammoniaque-lyase (PAL) (a), des hydroxylases des acides cinnamique (b) et p-coumarique (c) ainsi que le system assurant la formation de l'acide benzoïque (d) (**Alibert et Ranjeva, 1971**).



**Figure 3:** résumé des principales voies de biosynthèse des acides phénoliques (Alibert et Ranjeva, 1971).

### II. 2.1. voie de l'acide shikimique

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques (Harra, 2012). La désamination de phénylalanine donne naissance au précurseur directe des phénols (l'acide cinnamique) permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (Figure 4) (Midoun, 2011 ;Yahiaoui, 2012).

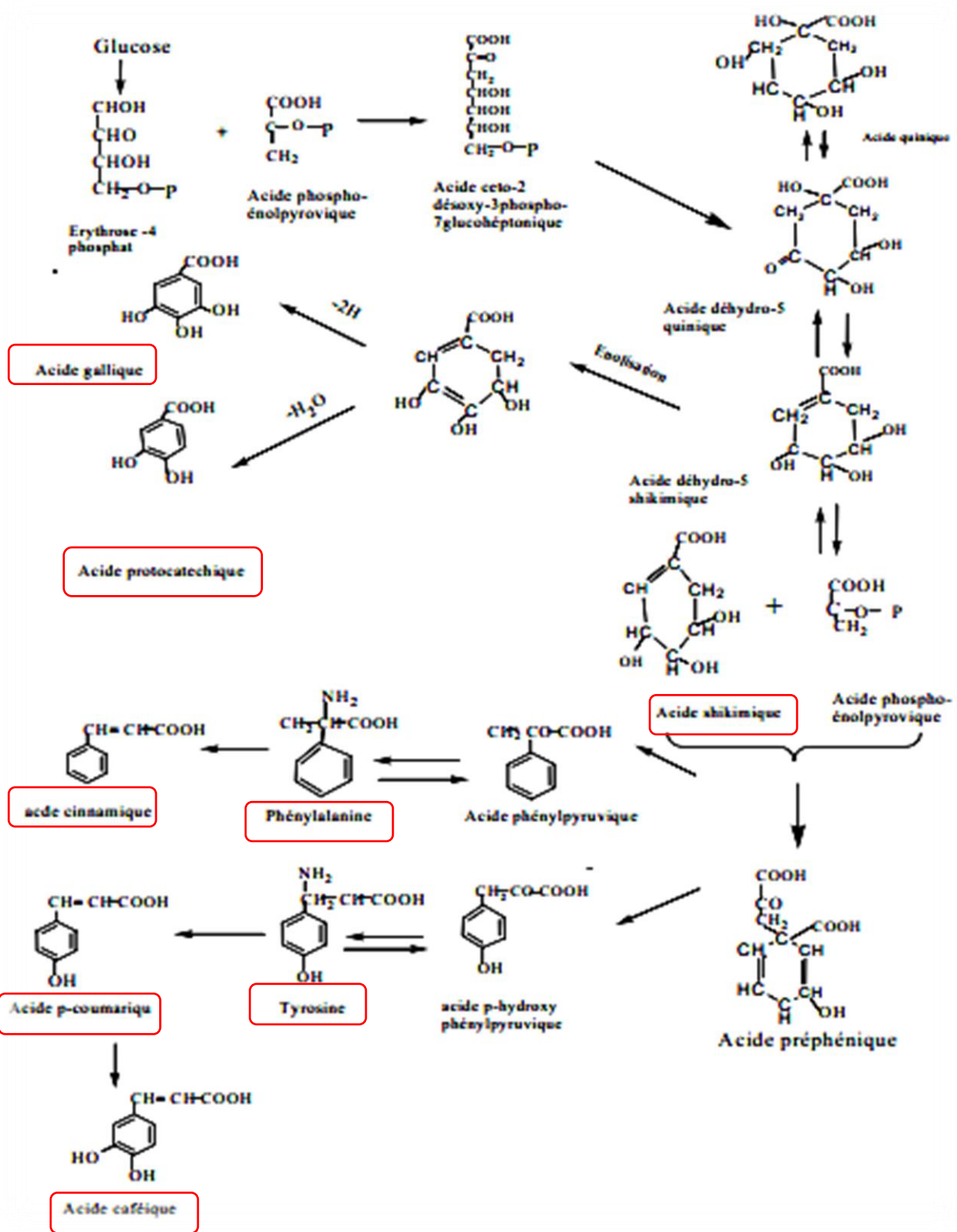


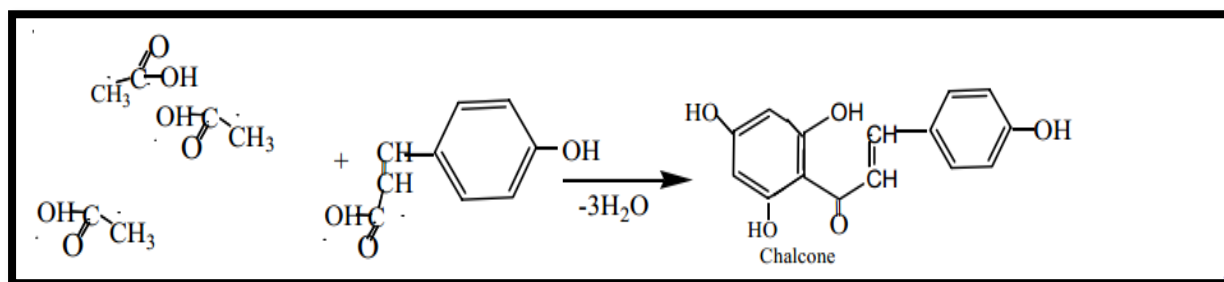
Figure 4 : Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate (Riberreau-Gayon, 1968).

## II. 2.2. voie de l'acide acétique

Cette voie donne naissance aux flavonoïdes (Figure 5) dont le squelette de base a une double origine

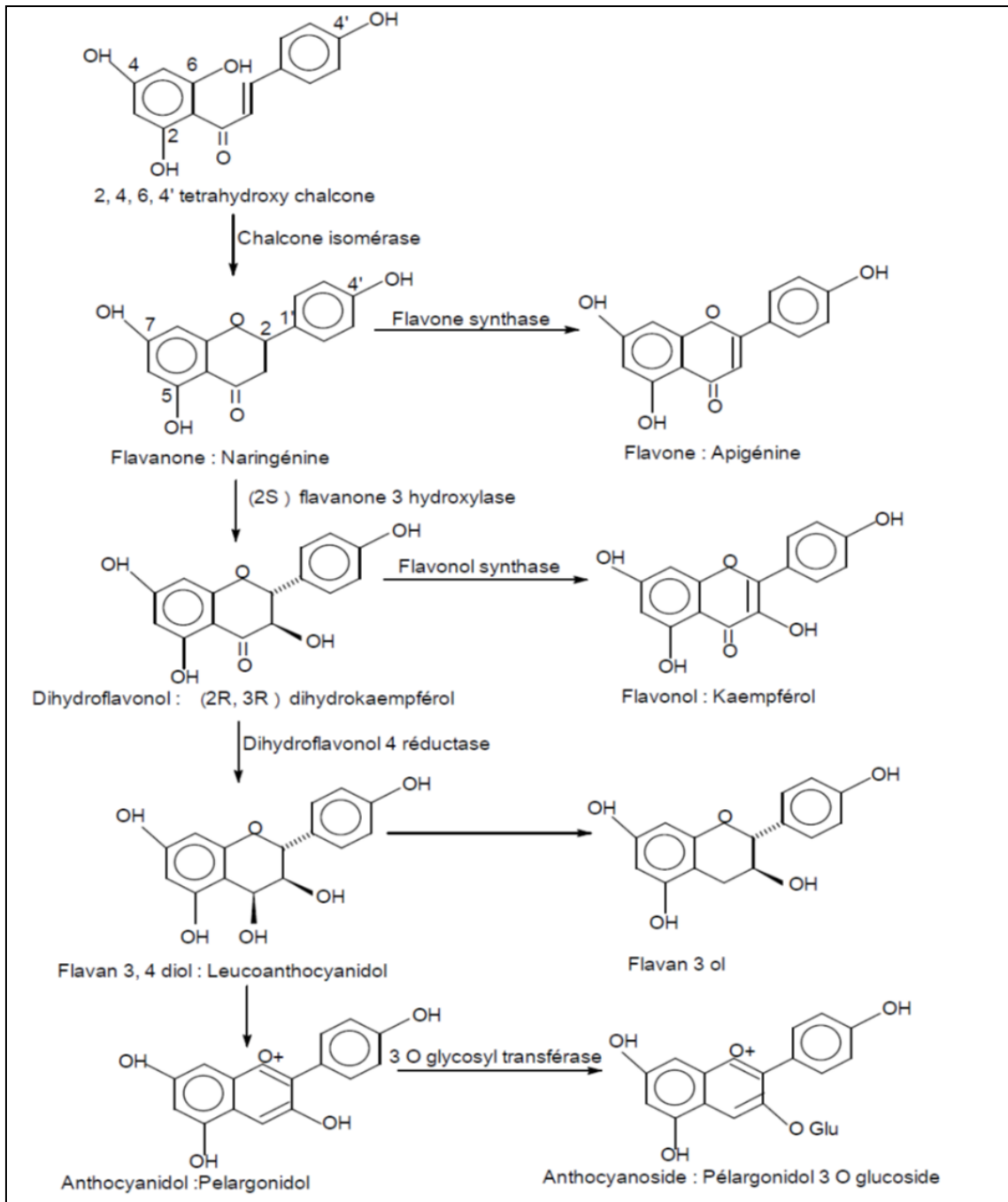
- ✓ 3 molécules d'acétyl COA (cycle A).
- ✓ Une molécule de *p*-coumarique COA (cycle B et l'hétérocycle C).

Cette voie est catalysée par la chalcone synthétase (CHS), est un complexe multienzymatique (**Guignard, 2000**).



**Figure 5** : formation du noyau chalcone, point de départ de la synthèse des flavonoïdes (**Riberreau-Gayon, 1968**).

La condensation de ces unités donne naissance aux flavonoïdes (Figure 6) et particulièrement aux pigments anthocyanes de types flavanols dont la polymérisation conduit aux tanins condensés (**Riberreau-Gayon, 1968**).



**Figure 6:** La voie de biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

## II. 2.3. Voie de phénylpropanoïdes

Cette séquence biosynthétique permet la formation des principaux acides comme les acides hydroxycinnamiques, coumarique, caféique, férulique et sinapique qui se présentent généralement sous forme d'esters ou de glucoside (Yahiaoui, 2012).

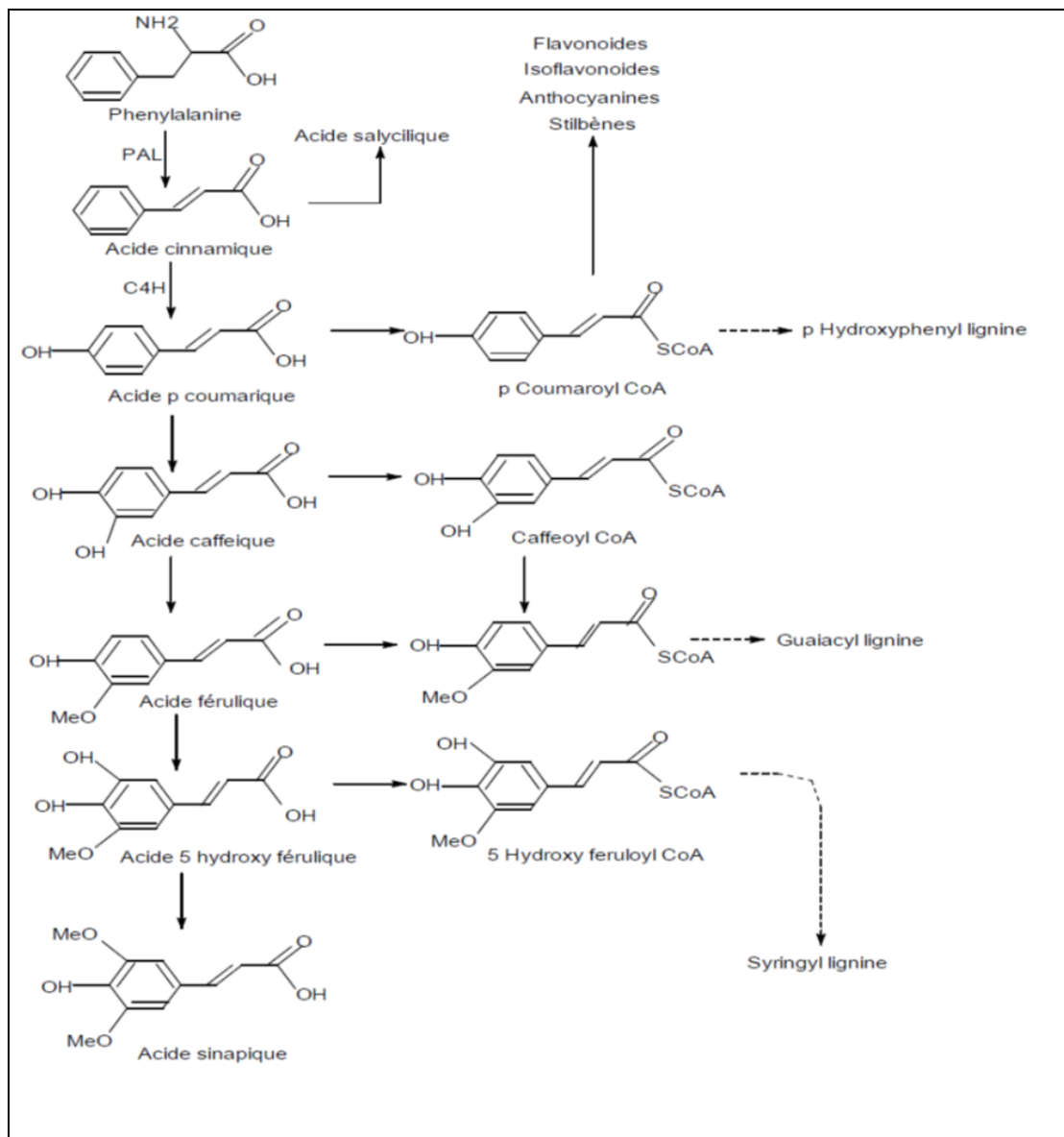


Figure 7 : La voie de phénylpropanoïdes (Hoffmann *et al.*, 2004).

## II. 3. Classification

En se basant sur le nombre des sous-unités de phénols, la classification actuelle forme deux classes : Les composés non flavonoïdes et flavonoïdes. La première classe est représentée par les acides phénols, qui comprennent les acides benzoïques en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> et les acides hydroxycinnamiques, constitués d'un noyau phénolique et d'une chaîne latérale insaturée en C<sub>3</sub>. La seconde classe est basée sur un

squelette en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, comprend plusieurs groupes, qui se distinguent par degré d'oxydation de l'hétérocycle central en C<sub>3</sub> (Zouid, 2011; Atanasova, 2009).

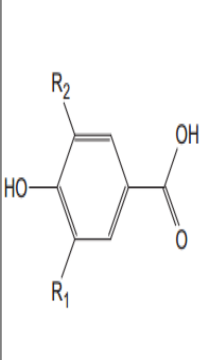
## II. 3.1. Les composés non flavonoïdes

### II. 3.1.1 Phénols simples et les acides phénoliques

Ils sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, comme exemple: acide chlorogénique, acide caféique, acide protocatéchique, acide vanillique, acide férulique, acide sinapique et acide gallique (Midoun, 2011). Le groupe des simples phénols est appelé aussi " groupe des acides phénoliques" ou des phénols avec groupe carboxylique caché (Atanasova, 2009). En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 1993).

#### II. 3.1.1.1 Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque

Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) (Harrar, 2012). Ces acides sont au nombre de 26 parmi les formes phénoliques les plus simples (Khater, 2011). Ils sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique (Bruneton, 1993).

		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
	Acide p-hydroxybenzoïque	H	H
	Acide protocatéchique	OH	H
	Acide vanillique	OCH <sub>3</sub>	H
	Acide syringique	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
	Acide gallique	OH	OH

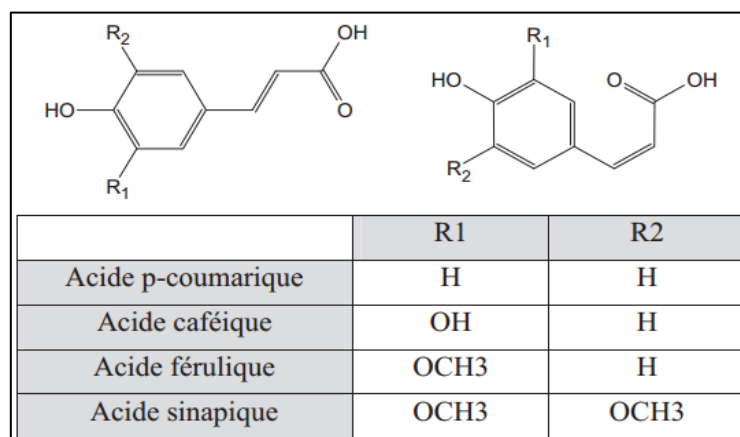
**Figure 8:** structure des divers acides hydroxybenzoïques (*in* Khater, 2011).

#### II. 3.1.1.2 Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique

Ils dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) (Harrar, 2012). A titre d'exemple, l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide sinapique. Ces acides ont une distribution très large. Les autres acides tels que l'acide o-coumarique, o-férulique sont peu fréquents.

Les acides cinnamiques et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffèrent par son degré d'hydroxylation et de méthylation. On les trouve principalement sous forme trans mais les isomères cis existent aussi (**Khater, 2011**).

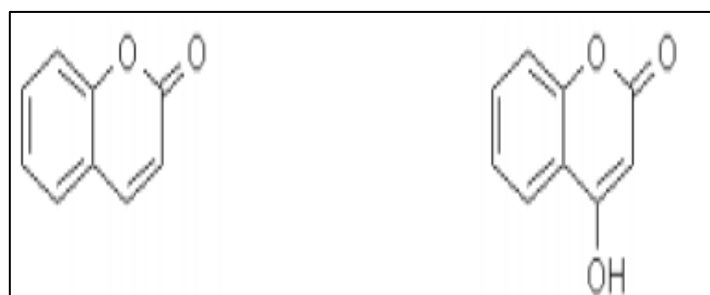
Les acides hydroxycinnamiques sont souvent complexés à diverses molécules. Les acides hydroxycinnamiques existent généralement dans la plante sous forme de glucosides, ou sous forme d'esters (**Ribéreau-Gayon, 1965; Singleton et al., 1978**).



**Figure 9** : Structure des principaux acides hydroxycinnamiques, représentés sous forme trans (à gauche) et cis (à droite) (**Ribéreau-Gayon, 1965**).

### II. 3. 1. 1. 3 Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (**Harrar, 2012**). Les coumarines sont classées en tant que membres de la famille des benzopyrones. Ils sont tous constitués d'un noyau benzénique solidaire d'un anneau de pyrone (**Jain et Himanshu, 2012**).



**Figure 10** : Structures de coumarine et hydroxycoumarine (**Jain et Himanshu, 2012**).

### II. 3. 1.1.4 Les stilbènes

Les stilbènes font partie d'un vaste groupe de polyphénols naturels de défense qui se produisent dans de nombreuses espèces végétales, y compris le vin de raisin, l'arachide, le sorgho et de nombreuses espèces d'arbres (Reinisalo *et al.*, 2015). Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison (C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) (Krisa *et al.*, 1997). Resvératrol est un phytoalexine polyphénolique bien connu qui se trouve principalement dans la peau. Les stilbènes seraient responsables d'un noircissement des bois lors de leur exposition à la lumière (Perez, 2008).

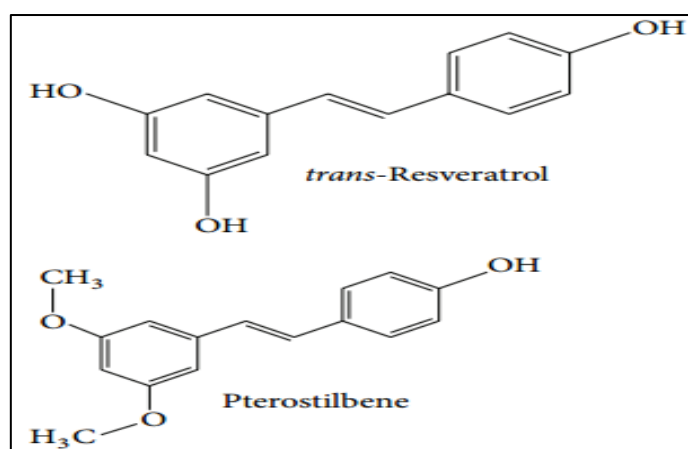


Figure11 : Deux différentes structures des stilbènes (Reinisalo *et al.*, 2015).

### II. 3.1.1.5 Les lignanes

Le terme "Lignane" pour décrire un groupe de phénylpropanoïdes formés de deux unités Phénylpropane (C<sub>6</sub>C<sub>4</sub>) liées entre-elles de différentes manières (Perez, 2008). La plupart des lignanes naturels connus sont oxydés à C<sub>9</sub> et, en fonction de la manière dont l'oxygène est incorporé dans le squelette et les motifs de cyclisation (Cunha *et al.*, 2012).

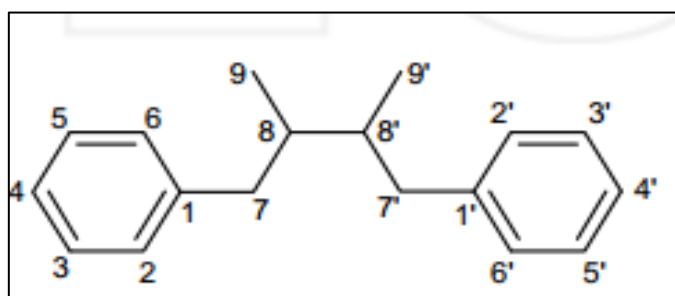


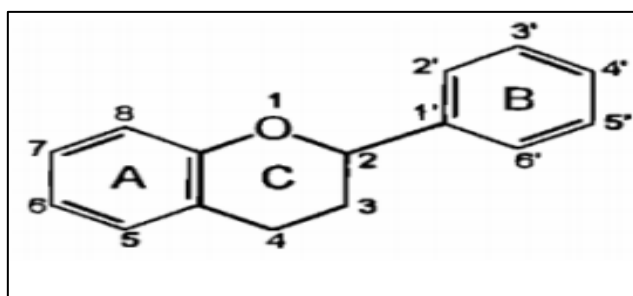
Figure 12: structure de lignane (Cunha *et al.* , 2012).

## II. 3. 2 Les flavonoïdes

### II. 3. 2 .1 Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme *flavedo*, désignant la couche externe des écorces d'orange. Cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du *flavus*; (*flavus* = jaune) (Harrar, 2012). Les flavonoïdes sont présents presque partout dans les plantes et ils peuvent être reconnus comme pigments responsables de la couleur des feuilles surtout en automne (Atanasova, 2009).

Les flavonoïdes, comprenant au moins 6000 molécules. Ils sont les composés phénoliques les plus abondants dans notre alimentation (Khater, 2011). La structure de base est le noyau flavane qui contient 15 atomes de carbone disposés en trois anneaux ( $C_6-C_3-C_6$ ), qui sont étiquetés A, B et C. Les Flavonoïde sont eux-mêmes divisés en six sous-groupes: les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanines, selon l'état d'oxydation de l'anneau central C. Leur variation structurelle dans chaque sous-groupe est en partie due au degré et le mode d'hydroxylation, méthylation ou glycosylation (Dai et Mumper, 2010). Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, et de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phenyl-2 chromane (Figure 13) (Harrar, 2012).



**Figure 13:** structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna *et al.*, 2001).

### II. 3. 2 .2 Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *kuanos*, bleu violet). Elles sont constituées de deux cycles phénoliques A et B reliés par un hétérocycle flavylum (2-phénylbenzopyrylium) (Figure14). Les anthocyanidols, suite à leur ionisation, présentent des couleurs différentes pour les divers pH : du rouge orangé en milieu acide, au bleu mauve en milieu alcalin (Guignrd, 2000).

L'aglycone de l'anthocyane est appelé anthocyanidine. Leurs structures se différencient par le nombre et la position de groupes hydroxyles et méthyles sur le noyau B. Les anthocyanidines sont le plus souvent glycosylées en position 3 et 5 avec le plus fréquemment des monosaccharides (glucose, galactose, rhamnose et arabinose) des di- et tri-saccharides formés par la combinaison des monosaccharides précédents (Khater,2011 ., Zouid, 2011).

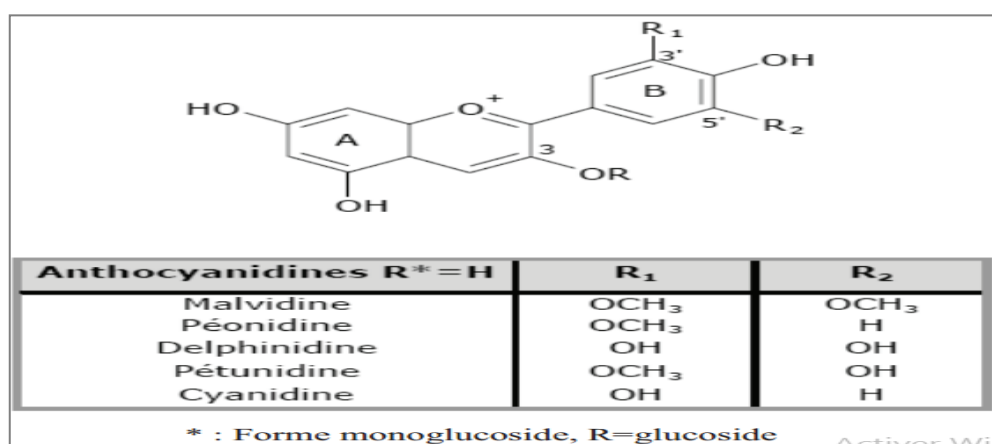


Figure 14 : structure des principaux anthocyanes (in Khater, 2011).

### II. 3. 2 .3 Les tannins

Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes (Harrar, 2012). Ils sont solubles dans l'eau, l'alcool et l'acétate, peu soluble dans l'éther. Ces substances ont une saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000 g /mol (Midoun, 2011). Les tanins sont un autre grand groupe de polyphénols dans notre alimentation et généralement subdivisés en deux groupes: (1) tanins hydrolysables et (2) tanins condensés (Dai et Mumper, 2010).

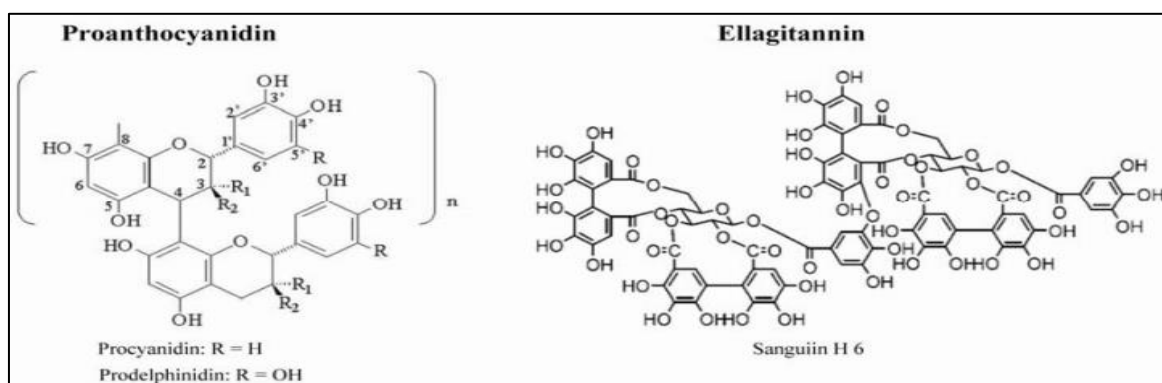
#### II. 3. 2 .3 .1 Tanins hydrolysables

Ce sont des composés contenant un noyau central de glucose ou d'un autre polyol estérifié avec de l'acide gallique, également appelés gallotannins ou avec acide diphénique, également appelé ellagitannins. La grande variété dans la structure de ces composés est due aux nombreuses possibilités de formation de liaison oxydante.

Les réactions d'oxydation intermoléculaires donnent naissance à de nombreux composés oligomère ayant un poids moléculaire compris entre 2000 et 5000 Daltons **(Dai et Mumper, 2010)**.

### II. 3. 2 .3.2 Tanins condensés

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavan-3-ol lié par l'intermédiaire d'une liaison carbone inter flavan. Ils sont également appelés proanthocyanidines, car ils se décomposent à anthocyanidines par une réaction d'oxydation par catalyse acide par chauffage dans des solutions alcooliques acides **(Dai et Mumper, 2010)**.



**Figure 15** : structure des principaux tanins **(Dai et Mumper, 2010)**.

### II. 4. Rôle et Propriétés biologiques des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir:

- ✓ Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...).
- ✓ Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux **(Bouras et Houchi, 2013)**.

Les composés phénoliques ont attiré une attention croissante en raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes et leurs effets marqués dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydatif telles que le cancer **(Dai et Mumper, 2010)**.

Les acides phénols et leurs dérivés sont considérés comme responsables des activités antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés (**Hennebelle *et al.*, 2004**). Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (**Cowan, 1999**).

Les flavonoïdes peuvent agir sur le système vasculaire en limitant l'agrégation des plaquettes et présentent des propriétés antitumorales par induction de l'apoptose et par l'inhibition à la fois de la multiplication des cellules carcinogènes (**Khater, 2011**). Ces composés peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) (**Hodek *et al.*, 2002**).

# *Chapitre III*

## *Les huiles végétales*

### III.1 Généralités

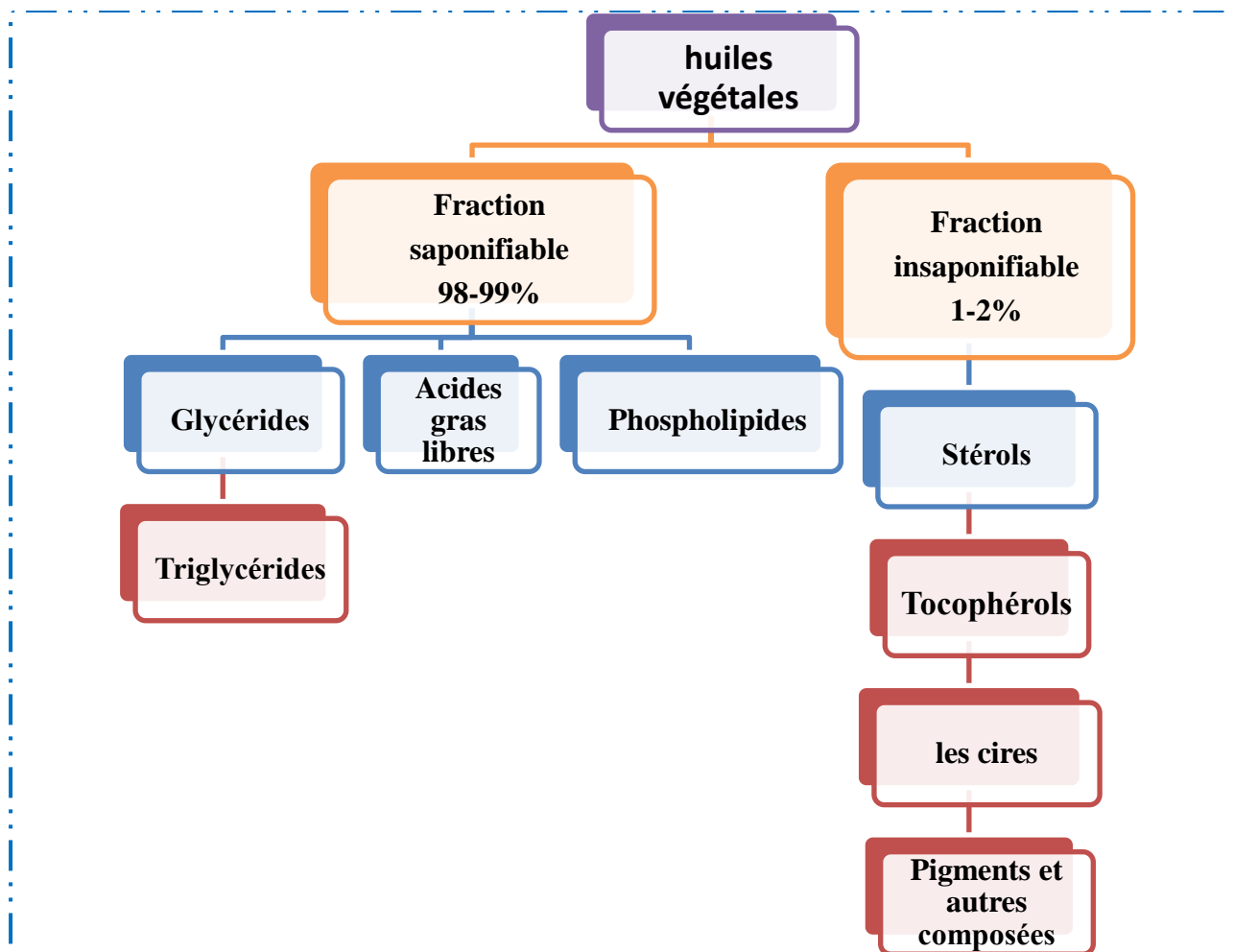
Depuis la plus haute antiquité, les huiles végétales sont intimement liées aux soins de beauté. Les plus grandes civilisations antiques (Égypte, Empire Romain, Grèce, Mésopotamie) ont accordé une place prépondérante aux huiles végétales, considérées alors comme des produits nobles, signes de luxe et de pouvoir (**Clergeaud, 2004**). L'huile qu'elle soit d'olive (première huile utilisée), de noix ou de noisette au Moyen-Âge, puis d'œillette et d'amande douce au 17<sup>ème</sup> siècle, enfin d'arachide, de tournesol, de carthame et de sésame, est présente à toutes les étapes de notre vie terrestre : alimentation, éclairage (lampes à huile, veilleuses, ...), santé (massages, plaies), économie domestique (entretien des meubles, ... ) (**Clergeaud, 2003**).

Les huiles végétales sont des substances hydro-insolubles (**Diallo et al., 2010**). Les substances à partir desquelles sont produites les huiles sont soit des graines ou des amandes soit des fruits. En fait, toutes les graines, tous les fruits et toutes les amandes contiennent de l'huile, mais seuls sont appelés oléagineux ceux qui servent à produire industriellement de l'huile et qui sont cultivés dans ce but. Parmi les graines de plantes cultivées pour leur huile, les plus connues sont : l'arachide, le colza, le ricin, le soja et le tournesol (**Marion et al., 2008**).

L'oxydation des huiles ou rancissement est catalysée par la lumière, la chaleur et certains métaux (cuivre, fer,...) (**Lambert, 2005**).

### III.2 Composants des huiles végétales

Les huiles végétales sont composées de fraction panoramique ; les triglycérides sont très largement majoritaires (95-99 %) : ils sont composés de glycérol (3-5 %) et d'acides gras (90-95 %). D'autres constituants sont naturellement présents en plus faible quantité : des lipides à caractère polaire tels que les phospholipides (0,1-0,2 %) et des composés dits insaponifiables appartenant à une fraction non glycéridiques (0,1 à 3 %) (Figure 16) (**Diallo et al, 2010; Morin et al., 2012**).



**Figure 16** : constituants des huiles végétales (Cuvelie, 2012; Morin *et al.*, 2012).

### III.2-1 Les triglycérides

Les triglycérides encore appelés triacylglycérols (TAG) sont des triesters. Ils résultent de l'estérification des 3 fonctions alcool du glycérol par 3 molécules d'acides gras (Figure 17) (Marion *et al.*, 2008 ; Lambert, 2005) , lesquels peuvent être :

- saturés (AGS) : ne contenant aucune double liaison (saturation)
- monoinsaturés (AGMI) : contenant une seule double liaison (insaturation)
- polyinsaturés (AGPI) : contenant deux, trois (voire plus) doubles liaisons (insaturations) (Cuvelier, 2012).

De fait, la répartition entre les différents acides gras donne à l'huile des caractéristiques intrinsèques et physiques différentes :

- Plus une huile est riche en acide gras saturées, plus elle est concrète, plus sa texture est proche du beurre (exemple : beurre de karité, huile de palme...).
- Plus l'huile est riche en acides gras polyinsaturés (ex : huile de noix) ou monoinstaurés (ex : huile d'olive), plus elle sera fluide.

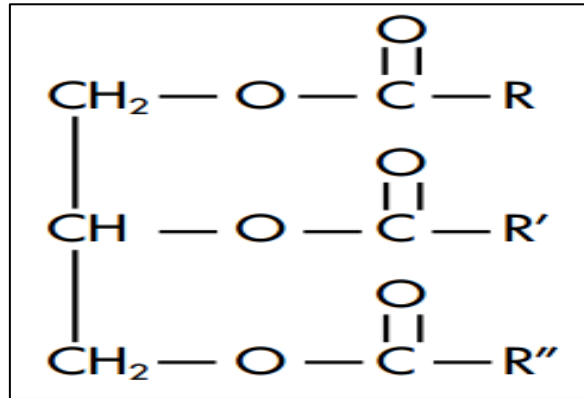


Figure 17: formule général des triglycérides (Marion *et al.*, 2008).

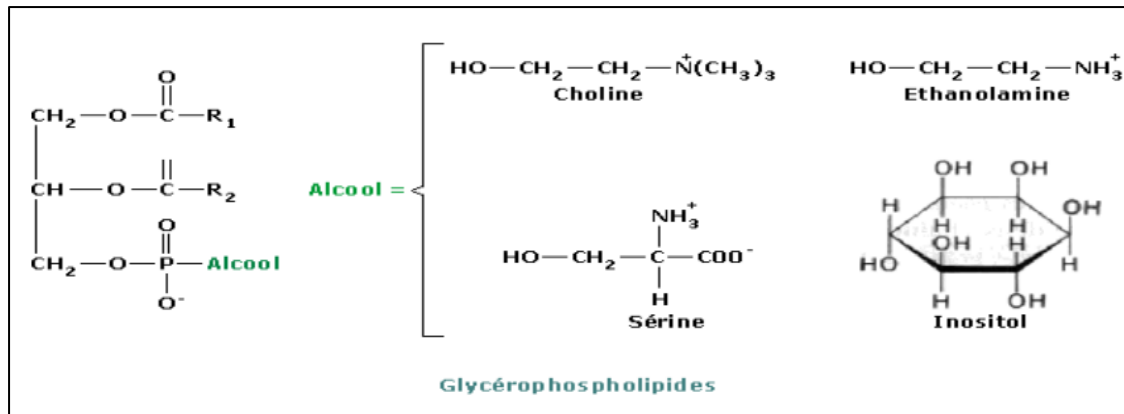
### III.2-2 Constituants mineurs

Les constituants mineurs se retrouvent à hauteur de 1% à 5% pour les plus riches dans les huiles végétales. Ils peuvent être de différentes natures et comprennent :

- des **lipides à caractère polaire**
- des **constituants non glycéridiques**, tels que :
  - les tocophérols.
  - les phytostérols.
  - les caroténoïdes.
  - les phénols.

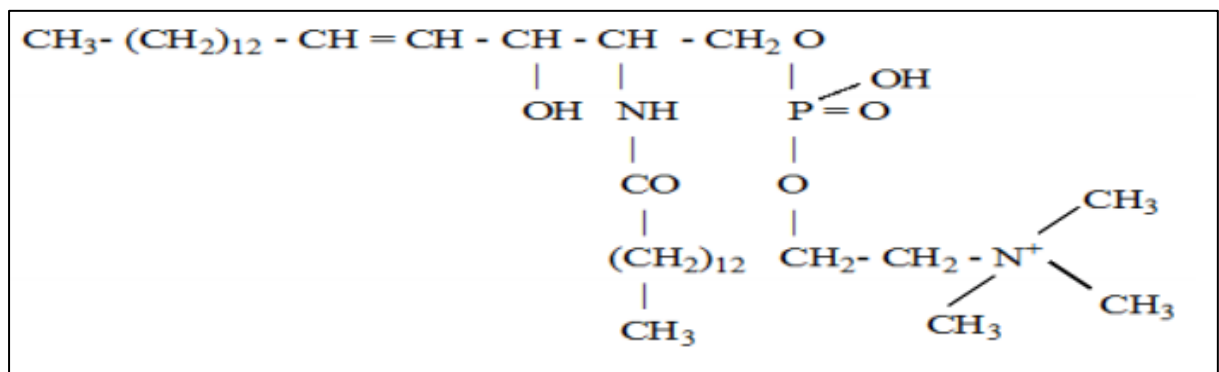
#### III.2.2.1 lipides à caractère polaire

- **phospholipides** : les composés lipidiques contenant du phosphore.
  - a) Les **glycérophospholipides**: sont des esters de glycérol deux acides gras, un phosphate et un alcool (Figure18)



**Figure 18 :** Représentation de diverses structures des glycérophospholipides (Seghiry, 2014).

- b) Les **sphingophospholipides** : sont des lipides membranaires ne contenant pas de glycérol. Ce sont composés d'un acide gras à longue chaîne, un alcool gras aminé un phosphate (Figure 19) (Seghiry, 2014).



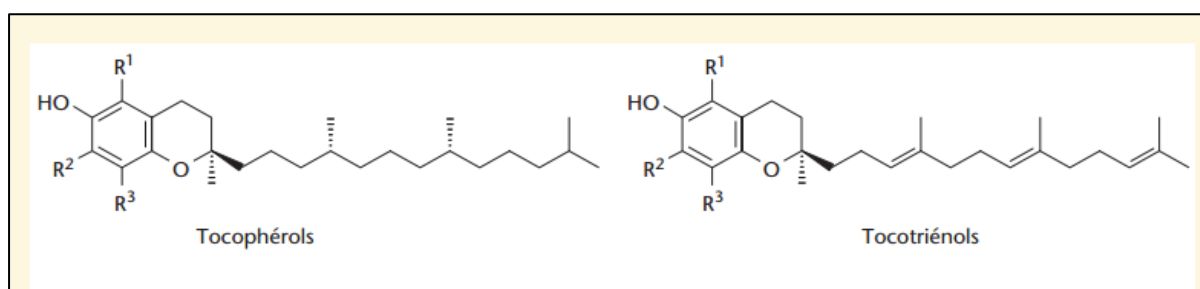
**Figure 19 :** Représentation d'un sphingophospholipide (sphingosine) (Seghiry, 2014).

### III.2.2.2 Les constituants non glycéridiques

#### III.2.2.2-1 Le tocophérol

Fait partie de la famille des tocophérols. Cette famille comprend 4 substances : l' $\alpha$ -tocophérol, qui est la vitamine E proprement dite, le  $\beta$ -tocophérol, le  $\gamma$ -tocophérol et le  $\delta$ -tocophérol. Ces composés ont, par ailleurs, beaucoup de similitudes structurales avec 4 autres molécules appartenant à la famille des tocotriénols : l' $\alpha$ -tocotriénol, le  $\beta$ -tocotriénol, le  $\gamma$ -tocotriénol et le  $\delta$ -tocotriénol (Cuvelie, 2003).

La vitamine E est une vitamine liposoluble, La structure chimique des tocophérols se compose d'un cycle chromanol mono-, di-, ou tri-méthylé auquel se trouve rattachée une chaîne carbonée latérale saturée de 16 carbones, La structure chimique des tocophérols des est identique au celle tocotriénols, mais celle-ci contient 3 doubles liaisons en position 3', 7' et 11' (Cuvelier, 2003). La forme biologiquement la plus active est l' $\alpha$ -tocophérol, la plus abondante dans l'alimentation étant le  $\gamma$ -tocophérol. Ces molécules sont présentes en grande quantité dans les huiles végétales. Elles agissent, parallèlement à la vitamine C, essentiellement comme antioxydants contre les dérivés réactifs de l'oxygène produits notamment par l'oxydation des acides gras (Seghiry, 2014).



R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Nom
CH <sup>3</sup>	CH <sup>3</sup>	CH <sup>3</sup>	$\alpha$
CH <sup>3</sup>	H	CH <sup>3</sup>	$\beta$
H	CH <sup>3</sup>	CH <sup>3</sup>	$\gamma$
H	H	CH <sup>3</sup>	$\delta$

**Figure 20** : structure chimique des tocophérols et tocotriénols (Cuvelier, 2012).

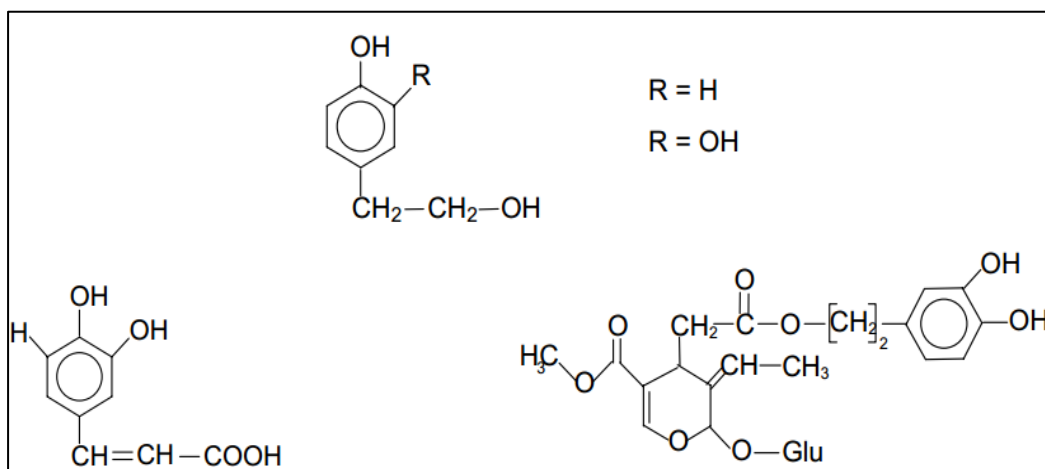
### III.2.2.2-2 Les caroténoïdes

Sont des pigments plutôt orange et jaunes (Seghiry, 2014), lipophiles sensibles à la lumière (rayonnement ultraviolet) et à la chaleur, précurseurs, tout particulièrement le trans b-carotène et de la vitamine A (rétinol). Présents en forte quantité (1 à 2 g/kg) dans l'huile de palme rouge, les autres huiles végétales en contiennent quelques centaines de mg/kg, ces pigments sont éliminés au raffinage (Morin *et al.*, 2012).

### III.2.2.2-3 Les composés phénoliques

L'effet bénéfique de l'huile d'olive sur la santé humaine est attribué, entre autres, à sa teneur en composés phénoliques possédant d'importantes propriétés antioxydantes. On rencontre des phénols acides mono-di-tri hydroxylés, des phénols neutres (esters, éthers...) mais les plus connus sont le tyrosol (4-

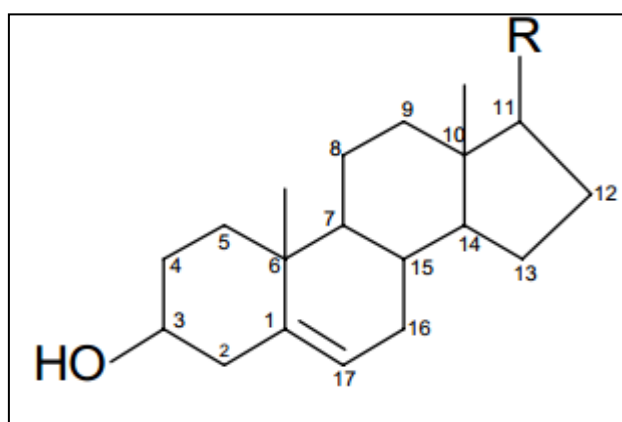
hydroxyphényléthanol), l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine qui est le composé phénolique principal de la graine d'olive vierge (Figure 21) (Morin *et al.*, 2012; Aouid, 2009).



**Figure 21** : les principales composées phénoliques dans l'huile d'olive (Jahouach, 2002).

#### III.2.2.2-4 Les stérols végétaux

Les stérols végétaux ou phytostérols, forment une catégorie de composés naturels, les stérols sont des alcools tétracycliques (en C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub> et C<sub>29</sub> possédant un groupe OH en C<sub>3</sub> et une chaîne aliphatique greffée en C<sub>11</sub>) (Figure 22) (Jahouach, 2002), de poids moléculaire élevé avec un alcool (Bouhadjra, 2011) ressemblant à des corps gras et structurellement semblables au cholestérol. Les stérols végétaux sont présents dans les légumes, les fruits, les légumineuses, les huiles végétales (Patterson, 2008).



**Figure 22** : Structure de base des stérols (Jahouach, 2002).

### III.2.2.2-5 Les cires

Ce sont des mélanges complexes d'esters d'acides gras et d'alcools gras (C<sub>18</sub> à C<sub>30</sub>). Chez les végétaux, elles contribuent à la formation des pellicules protectrices des graines et des fruits. Elles peuvent également s'accumuler dans certains tissus (Jahouach, 2002).

## III.3 Classification des huiles végétales

Les huiles végétales peuvent être classées en 3 grandes catégories :

### III.3.1 les huiles saturées

Comprenant les chaînes carbonées les plus longues telles que l'huile de lin et les huiles de poisson (Lambert, 2005). Les huiles dites saturées de type :

- lauriques : coprah
- palmitiques : palme
- stéariques : karité

ces huiles sont résistantes à l'oxydation, mais sont souvent très visqueuses, voire pâteuses aux températures moyennes (ce qui imposera un dispositif de pré-réchauffage pour les utiliser).

### III.3.2 Les huiles (semi-siccatives)

- Oléiques : olive, arachide, colza, sésame, curcas, ricin
- linoléique : tournesol, coton, maïs, soja,....

### III.3.3 Les huiles tri-insaturées (siccatives)

- linoléiques : lin
- éléostariques : huile de bois de chine (Marion *et al.*, 2008).

## III.4 Rôles et intérêt biologiques des huiles végétales

### III.4.1 Huiles végétales et nutrition

Les huiles végétales jouent un rôle essentiel dans notre alimentation. Elles assurent tout d'abord une fonction nutritionnelle : elles contribuent à l'apport d'énergie, sont sources d'acides gras indispensables, en particulier d'acide linoléique (C18:2) et d'acide alphalinoléique (C18:3), et participent à l'apport et au transport de vitamines liposolubles (dont E, D et pro-A) et d'autres constituants d'intérêt nutritionnel comme des Phytostérols ou des composés phénoliques (cas de l'huile d'olive notamment) (Cuvelier, 2012).

### **III.4.2 Huiles végétales et santé**

Les huiles végétales sont de véritables médicaments au sens où l'entendaient les médecins de l'Antiquité. Médicaments, car elles vont nous apporter des éléments vitaux indispensables comme les vitamines liposolubles notamment de **vitamine E** qui est recommandée pour ses vertus antioxydantes. Elle neutralise les radicaux libres et **prévient de ce fait le vieillissement des cellules** (derme, globules rouges, vaisseaux sanguins, ...). Sources de lipides (riches en acides gras essentiels poly-insaturés (AGE)) pour l'organisme, les huiles végétales jouent un rôle primordial dans l'organisme. Ils participent au **renouvellement des membranes cellulaires** et interviennent dans le fonctionnement de plusieurs systèmes physiologiques (cardiovasculaire, immunitaire, agrégation plaquettaire, rénal et la stimulation de l'activité cérébrale ...) (**Clergeaud, 2003**).

### **III.4.3 Huiles végétales et beauté**

Les huiles végétales sont des substances hypoallergéniques qui procurent à l'épiderme tous les éléments nécessaires à sa structure, son hydratation et sa vitalité. Les huiles végétales sont riches en vitamines liposolubles (vitamines A,D, E et K) qui protègent la peau contre les risques de dégénérescence et d'oxydation qui entraînent son vieillissement prématuré. Ces vitamines favorisent également l'absorption et le métabolisme des acides gras essentiels avec lesquels elles agissent donc en synergie (**Clergeaud, 2004**).

# *Chapitre IV*

## *Les radicaux libres et le pouvoir antioxydant*

## IV.A Les radicaux libres

### IV.A.1 Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute espèce chimique (atome / molécule) possédant un nombre impair d'électrons, cette espèce est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants (**Denisov et Afanas'ev, 2005**), essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche au lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Boudjourf, 2011**).

### IV.A.2 Origines et types des oxydants

#### IV.A.2.1 Types des oxydants

Les molécules fortement réactives incluent les espèces réactives de l'oxygène (EOR) et les espèces réactives d'azote (ENR) sont indiquées dans les tableaux 2 et 3 (**Rahman et al., 2012**).

**Tableau 2.** Espèces réactives d'oxygène (EOR) (**Rahman et al., 2012**).

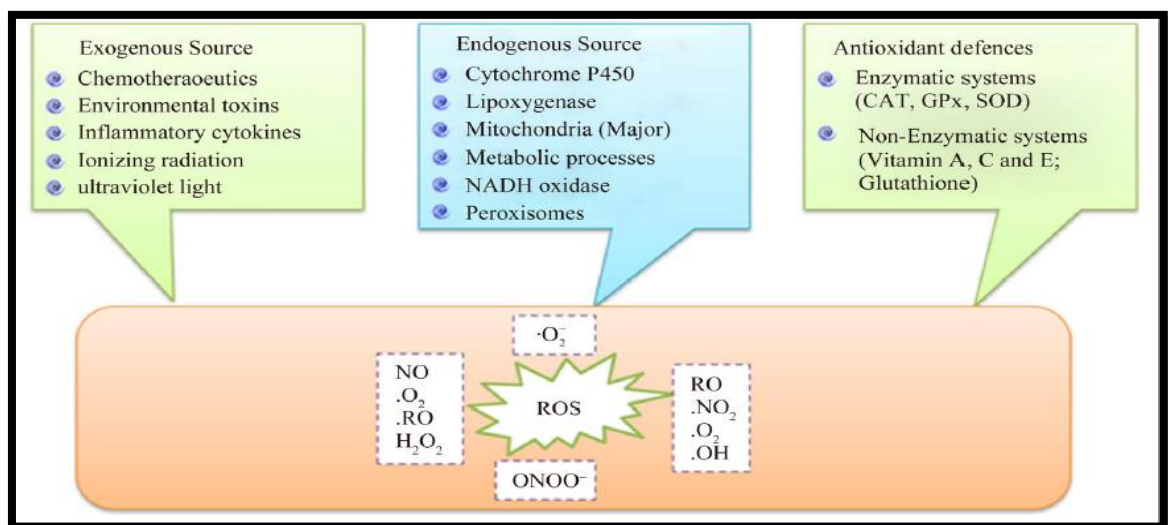
Radicaux	Non- Radicaux
<b>Superoxide:</b> $O_2^-$	Peroxyde d'hydrogène <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>
<b>Hydroxyle :</b> $OH^-$	Acide de Hypochlorus: <b>HOCL</b>
<b>Peroxyle:</b> $RO_2^-$	Acide de Hypobrromus: <b>HOBBr</b>
<b>Alcoxyle:</b> $RO^-$	Ozone: <b>O<sub>3</sub></b>
<b>Hydroperoxyl:</b> $HO_2^-$	oxygène singulet ( <b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b> )

**Tableau 3.** Espèce réactive d'azote (ENR) (**Rahman et al., 2012**).

Radicaux	Non- Radicaux
<b>Oxyde nitrique:</b> NO <sup>-</sup>	Bioxyde d'azote: NO <sub>2</sub>
<b>Acide nitreux</b> HNO <sub>2</sub>	Cation nitrosylique: <b>NO</b>
<b>anion nitrosylique:</b> NO <sup>-</sup> NO <sup>-</sup>	
	<b>Tetroxide de Dinitrogen:</b> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
	<b>Trioxide de Dinitrogen:</b> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
	<b>Peroxynitrite:</b> ONOO <sup>-</sup>
	<b>Acide de Peroxinitrous:</b> ONOOH
	<b>Alkylperoxynitrites</b> ROONO

#### IV.A.2.2 Origines des oxydants

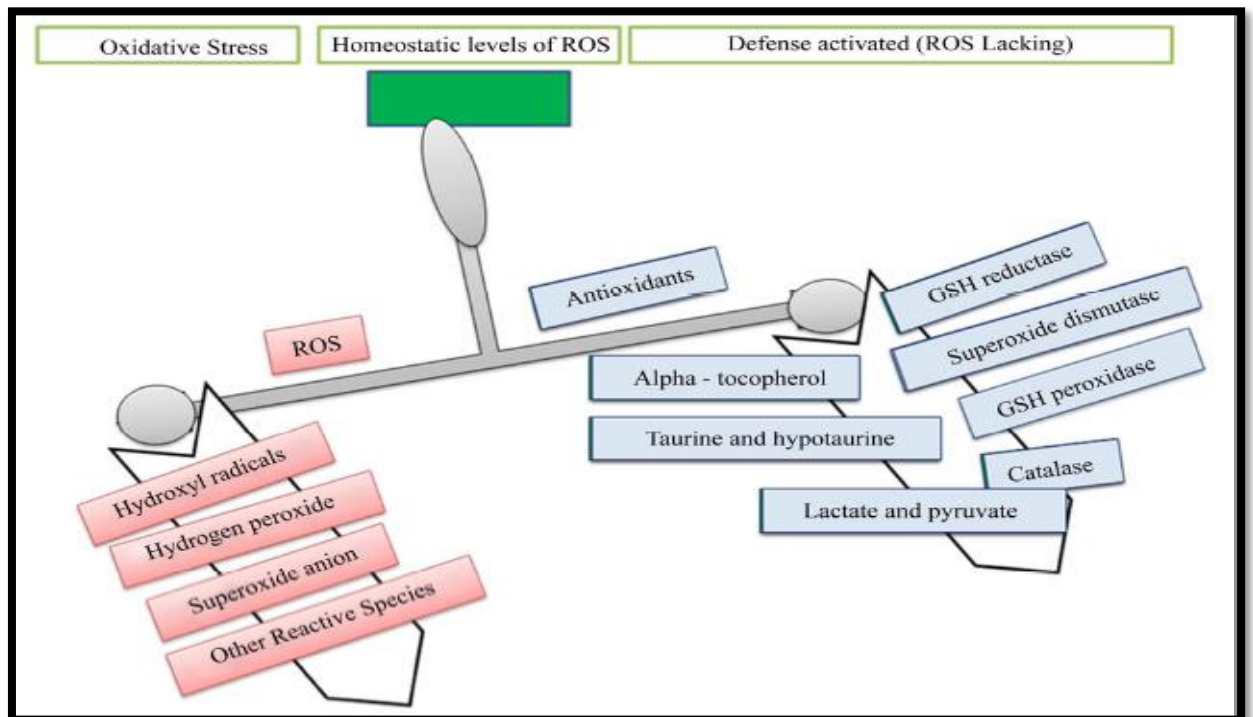
Des oxydants sont produits en raison du métabolisme intracellulaire normal dans les peroxysomes et les mitochondries, Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (**Kanoun, 2011**) aussi bien que d'une variété de systèmes cytosolique d'enzymes. En outre, un certain nombre d'agents externes peuvent déclencher la production de EOR (Reactive Oxygen Species : ROS) (**Rahman et al., 2012**).



**Figure 23 :** les source des espèces réactives d'oxygène (EOR) (**Rahman et al., 2012**).

### IV.A.3 Le stress oxydatif

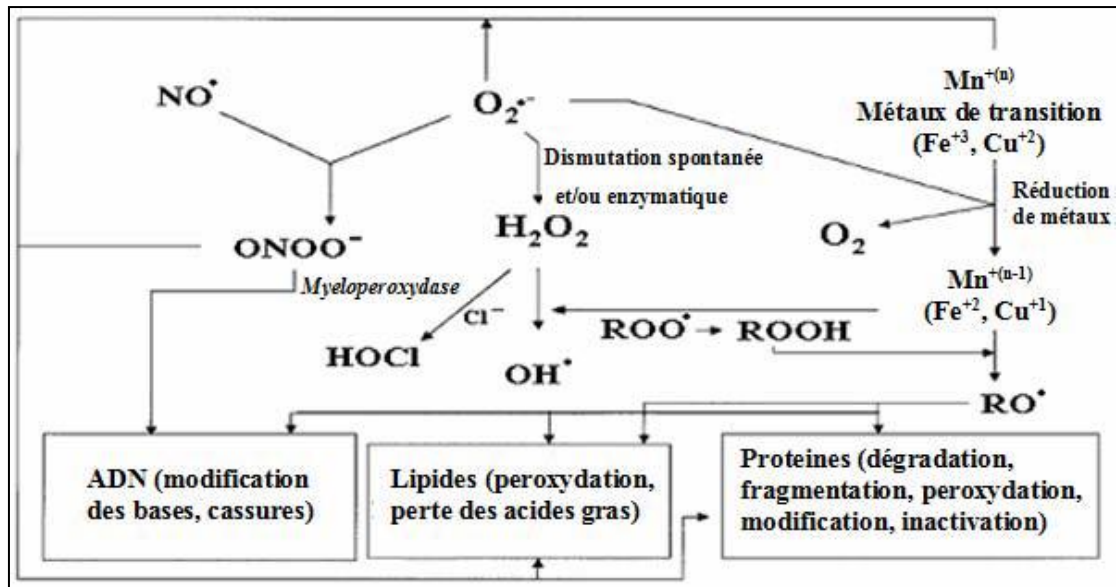
Le stress oxydatif se produit quand la génération des radicaux libres dans un système est dépasser la capacité du ce système de les neutraliser et éliminer, ou par une diminution des défenses antioxydants (**Rahman et al., 2012**). Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents pro oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets du soleil, herbicides, métaux toxiques), plus l'eau et les aliments que nous consommons., l'exercice excessif sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système) (**Kanoun, 2011 ; Mezit, 2009**).



**Figure 24:** Déséquilibre entre les oxydants et antioxydants (**Rahman et al., 2012**).

### IV.A.4 Les conséquences biologiques de stress oxydative.

L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique.



**Figure 25:** Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR (in Meziti, 2009).

#### IV.A.4.1 Les lipides

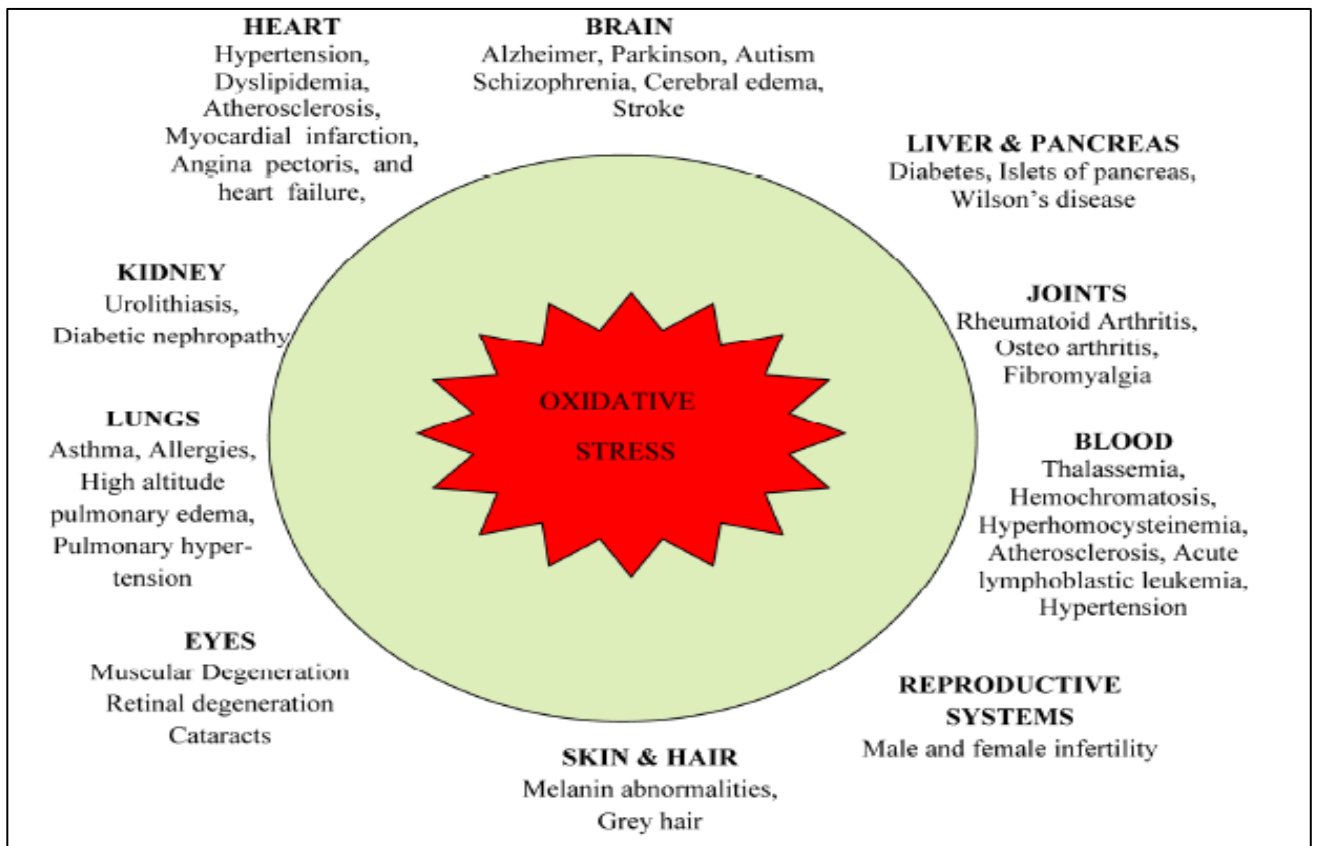
Les acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée des EOR en raison de leurs hydrogènes bis allyliques facilement oxydable. C'est le cas des lipides majeurs des membranes cellulaires et des lipoprotéines, les produits d'oxydation peuvent comporter des substances toxiques responsables des dysfonctionnements et d'altération cellulaires (perte d'acides gras polyinsaturés, diminution de la fluidité membranaire, modification de l'activité des enzymes et des récepteurs membranaires, libération du matériel à partir du compartiment subcellulaire) (Meziti, 2009).

#### IV.A.4.2 Les protéines

Les acides aminés des protéines sont la cible des EOR soit au niveau de leur chaîne latérale, avec formation des produits d'oxydation. Soit au niveau de la liaison peptidique, entraîne la fragmentation de la chaîne. L'oxydation des acides aminés génère des groupements hydroxyles et carbonyles sur les protéines mais peut également induire des modifications structurales plus importantes comme des réticulations intra ou intermoléculaires, ce qui affecte leurs fonctionnements. Les protéines modifiées deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont alors dirigées vers la dégradation protéolytique au niveau du protéasome (Meziti, 2009).

#### IV.A.4.3 Les acides nucléiques

Les bases azotes et le désoxyribose sont la cible privilégiée des EOR, ils sont alors transformés en produits de fragmentations et en bases oxydées, les altérations du matériel génétique s'accumuleront au sein de l'ADN représentant ainsi la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement (**Meziti, 2009**). Donc le stress oxydatif a été impliqué dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques (**Kanoun, 2011**), comprenant le cancer, l'athérosclérose, la malaria, le syndrome chronique de fatigue, l'arthrite rhumatoïde et les maladies neurodégénérative telles que la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, et la maladie de Huntington (Figure 26) (**Rahman et al., 2012**).



**Figure 26** : Les effets nocifs du stress oxydatif sur la santé humaine (**Rahman et al., 2012**).

## **IV.B Le pouvoir antioxydant**

### **IV.B.1 Les antioxydants**

Un antioxydant est une espèce chimique capable à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de d'autres substances chimiques (**Penche, 2010 ; Meziti, 2009**).

Quelques antioxydants ont produit dans le corps (endogène) et d'autres obtenus à partir du régime (alimentation) (exogène) (**Rahman *et al.*, 2012**).

Les antioxydants se divisent en deux catégories : enzymatique (Tableau 04), et non enzymatique.

#### **IV.B.1.1 Les antioxydants enzymatiques**

Les antioxydants enzymatiques principaux des poumons sont le superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), et la glutathion peroxydase (GSH-Px). En plus de ces enzymes principales, d'autres antioxydants, y compris l'hème oxygénase-1, et les protéines redox, telles que des thioredoxins (TRXs), peroxiredoxins (PRXs), et glutaredoxins, se sont également avérés pour jouer des rôles cruciaux dans les défenses anti-oxydantes pulmonaires (**Birben *et al.*, 2012**).

##### **IV.B.1.1.1 le superoxyde dismutase (SOD)**

La dismutation de superoxyde ( $O_2^-$ ) est effectuée par SOD, pour on avoir le oxygène moléculaire ( $O_2$ ). Donc cette dismutation est important pour chaque cellule. Le  $H_2O_2$  est produit par l'action de SOD ou par l'action des oxygénases (xanthine oxydase), qui réduit en eau par la catalase et glutathion peroxydase (**Birben *et al.*, 2012**).

##### **IV.B.1.1.2 La catalase(CAT)**

Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques (**Meziti, 2009**). La CAT est dégradé le  $H_2O_2$  en eau, donc il y'a une synergie entre le SOD et CAT (**Birben *et al.*, 2012 ; Meziti, 2009**).

##### **IV.B.1.1.3 Les glutathions peroxydases et réductases :**

GSH peroxydase catalyse la réduction de  $H_2O_2$  en présence de GSH. En plus le GSH réductase régénérer le GSH à partir de GSSG tout en utilisant le NADPH comme cofacteur (**Rahman *et al.*, 2012**).

**Tableau 04** : Les principaux antioxydants enzymatiques (**Birben et al., 2012**).

Name of Scavenger	Acronym	Catalyzed Reaction
Superoxide dismutase	SOD	$M^{(n+1)+}\text{-SOD} + O_2^- \rightarrow M^{n+}\text{-SOD} + O_2$ $M^{n+}\text{-SOD} + O_2^- + 2H^+ \rightarrow M^{(n+1)+}\text{-SOD} + H_2O_2$
Catalase	CAT	$2 H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2 H_2O$ $H_2O_2 + Fe(III)\text{-E} \rightarrow H_2O + O = Fe(IV)\text{-E}(.)$ $H_2O_2 + O = Fe(IV)\text{-E}(.) \rightarrow H_2O + Fe(III)\text{-E} + O_2$
Glutathione peroxidase	GTPx	$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$ $2GSH + ROOH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$
Thioredoxin	TRX	Adenosine monophosphate + sulfite + thioredoxin disulfide = 5'-adenylyl sulfate + thioredoxin Adenosine 3',5'-bisphosphate + sulfite + thioredoxin disulfide = 3'-phosphoadenylyl sulfate + thioredoxin
Peroxiredoxin	PRX	$2 R'\text{-SH} + ROOH = R'\text{-S-S-R}' + H_2O + ROH$
Glutathione transferase	GST	$RX + GSH = HX + R\text{-S-GSH}$

#### IV.B.1.2 les antioxydants non enzymatiques

##### IV.B.1.2.1 les antioxydants non enzymatiques endogènes

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi les quelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulier, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Meziti, 2009**).

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents

Pro-oxydants, comme les ions  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  ou  $Cu^{2+}/Cu^+$  permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (**Meziti, 2009**).

##### IV.B.1.2.2 les antioxydants non enzymatiques exogènes

###### IV.B.1.2.2.1 Vitamine C (acide ascorbique)

Est un antioxydant hydrosoluble, qui neutraliser les radicaux libres oxygénés de la phase aqueuse intracellulaire et extracellulaire. Elle régénéré par ascorbates réductases (**Birben et al., 2012 ; Meziti, 2009**).

#### **IV.B.1.2.2.2 Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)**

La vitamine E est reconnue comme antioxydant, grâce à sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques. À cet égard, elle participe, avec de nombreuses autres substances, à la lutte contre les formes réactives de l'oxygène c'est-à-dire la lutte contre les radicaux libres et les éléments non radicalaires produits lors de la formation de radicaux libres (Cuvelier, 2003).

#### **IV.B.1.2.2.3 Les Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des colorants trouvés chez les plants (Birben *et al.*, 2012). L'activité antioxydant de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure. Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres : peroxyde ( $\text{ROO}^\cdot$ ), Superoxide:  $\text{O}_2^-$ , Hydroxyle :  $\text{OH}^\cdot$  par 3 mécanismes, soit Par l'abstraction d'hydrogène, transfert d'électron et addition du radical (*in* Belyagoubi - Benhammou, 2011).

# *Partie expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériel et méthodes*

## Partie II : Etude expérimentale

### I. Matériel et méthodes

#### I.1. Matériel

##### I.1.1 Appareillages et produits chimiques

Tous les appareils et les produits chimiques utilisés sont indiqués dans l'Annexe1.

##### I.1.2 Matériel végétale

Ce travail concernera les fruits de pistachier d'Atlas (*Pistacia atlantica*) cueillis à deux sites différents: Dayet Ennous (entre Elkheneg et Elhouita) et à proximité de la route nationale N°1 (RN) à 40 km au sud de Laghouat. Les données géographiques de ces sites sont mentionnées dans le tableau 5.

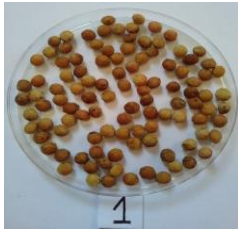









Nous avons travaillé sur des fruits, cueillis en juillet et août 2015 et triés selon leur couleur qui indique en grande partie leur degré de maturation (Tableau 6).

**Tableau 05** : Données géographiques des régions de récolte.

Sites	Longitude	Latitude	Altitude
Dayet Ennous	2°39'44.19"E	33°41'23.50"N	836 m
PK 440 RN1	2°59'32.58"E	33°30'37.07"N	873 m

NB : Les données géographiques ont été obtenues à partir de Google Earth .

**Tableau 06 :** Caractéristiques des fruits de *Pistacia atlantica* étudiés.

Arbres	Echantillons				Lieu de récolte	Date de récolte
1	1D(J)	1D(R-F)	1D(N)		Dayet Ennous	22/07/2015 09h:45
						
2	2D(J)	2D(R-F)	2D(V)	2D(N)	Dayet Ennous	22/07/2015 10h:00
						
3	3RN(J)	3RN(R-V)	3RN(V)		RN (40km au sud de Laghouat)	06/08/2015 18h:00
						

NB : A chaque échantillon est attribué un code comprenant un chiffre indiquant l'arbre et une première lettre indiquant l'initial du nom du site et des lettres (entre parenthèse) indiquant la couleur des drupes.

Exemple :

2 D (V) : 2 : l'arbre 2 ; D : Dayet Ennous , V : vert (la couleur des drupes).

## II. Méthodes :

Nous avons travaillé dans un premier temps sur les tourteaux délipidés (dosage et activité antioxydante des extraits phénoliques) puis nous sommes passés à l'étude des huiles (mélangées selon la couleur des fruits dont elles sont extraites). Notre démarche expérimentale est résumée dans le diagramme suivant :

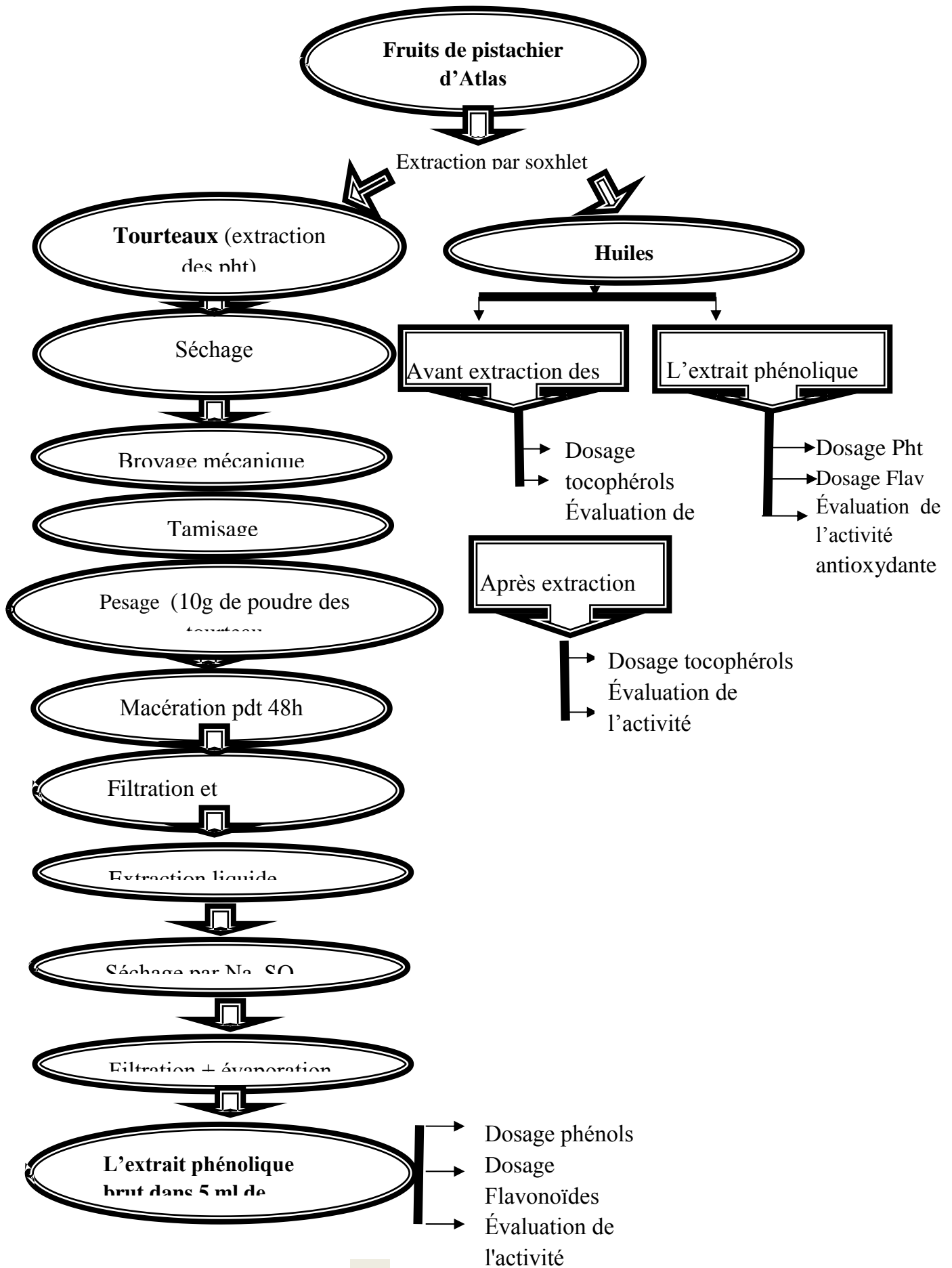


Figure 27: Diagramme représentant les grandes lignes de notre étude.

## **II.A. Traitement des tourteaux.**

### **II.1. Extraction et analyse quantitative**

#### **II.1.1. Extraction des polyphénols**

L'extraction des polyphénols à partir des tourteaux a été accomplie en 3 étapes selon le protocole rapporté par **Hertog et Hollman (1992)** avec quelques modifications:

##### **✚ Macération**

Après le séchage complet des tourteaux délipidés à l'abri de la lumière (évaporation de l'hexane) et à température ambiante, ils ont été finement broyés à l'aide d'un mortier traditionnel puis tamisés ( $\varnothing = 250\mu\text{m}$ ). Une masse de 10g de la poudre est macérée dans un volume de 100 ml d'un mélange formé de 70 ml acétone et 30 ml eau distillée pendant 48h avec renouvellement du solvant d'extraction après 24h dans le but d'extraire le maximum des phénols. Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite à 40°C, la phase aqueuse est obtenue.

##### **✚ Dépigmentation et délipidation :**

La phase aqueuse a été lavée trois fois par l'éther de pétrole avec un volume de 20ml afin d'enlever toute trace de lipides et de dépigmenter la préparation.

##### **✚ Isolement des phénols**

Une triple extraction liquide-liquide est réalisée par l'acétate d'éthyle, avec un volume de 20ml. Les extraits organiques sont séchés par l'ajout de sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) suivi d'une filtration. Le filtrat obtenu a été concentré sous pression réduite à 40°C. Le résidu sec est solubilisé dans 5ml de méthanol puis conservé à +4°C.

#### **II.1.2 Analyse quantitative des polyphénols**

Le rendement en composés phénolique est déduit du rapport entre la masse d'extrait phénolique brut et la masse initiale de matière végétale utilisée pour la macération (10g).

##### **II.1.2.1 Dosage des phénols totaux**

###### **II.1.2.1.1 Principe de méthode**

L'évaluation des composés phénoliques a été réalisée selon la méthode de Singleton en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Singleton *et al.*, 1999**). Le réactif, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ), est réduit lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes de tungstène ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) et de molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm (**Bonnaillie *et al.*, 2012**)

### **II.1.2.1.2 Protocole expérimentale**

100µl de chaque solution diluée de l'acide gallique ou de l'extrait végétal, sont ajoutés à 500µl du réactif de Folin-Ciocalteu 10% (diluée 10 fois dans l'eau distillée). Deux minutes plus tard, 2ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 2% sont ajoutés au milieu réactionnel pour favoriser un milieu basique. Ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc.

Une gamme étalon d'acide gallique à différentes concentrations a également été préparée dans les mêmes conditions. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par g de matière végétale sèche.

### **II.1.2.2.1. Dosage des flavonoïdes**

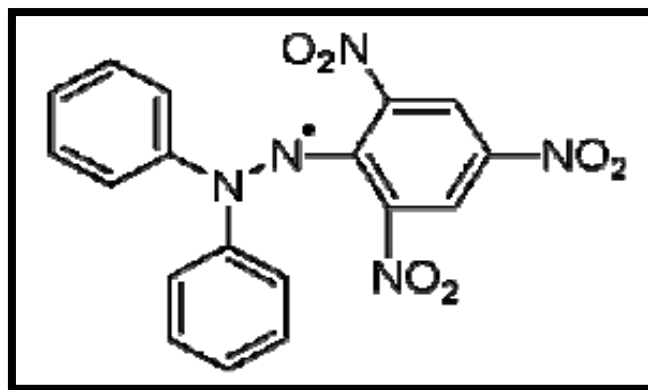
La quantification des flavonoïdes dans les extraits des tourteaux délipidés est basée sur la formation de complexes stables entre les flavonoïdes et l'Aluminium du réactif trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) selon la méthode de **Zhishen *et al* (1999)**.

### **II.1.2.2.2. Protocole expérimentale**

1 ml d'échantillon ou standard est ajouté à 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Après 20 minutes d'incubation, l'absorbance est lu à 409 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g MS).

## **II.2. Evaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH°.**

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits des tourteaux, nous avons adopté la méthode qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre (Figure 28)

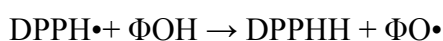


**Figure28** : Structure chimique du radical libre DPPH° (Popovici *et al.*, 2009)

### II.2.1. Principe de la méthode.

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphenyle picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due a une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie a 515-518 nm.

Dans le cas des composés phénoliques (Φ-OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH (Popovici *et al.*, 2009).



### II.2.2. Protocole expérimental.

1ml de chaque extrait phénolique dilué dans l'eau distillé est ajouté à 1ml d'une solution de DPPH 250µM. ce dernier est préparé dans le méthanol. Après 30min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lu à l'aide d'un spectrophotomètre à 517nm contre un blanc. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique (Vitamine C) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les absorbances mesurées ont permis de déterminer le pouvoir antiradicalaire des extraits phénoliques par le calcul du pourcentage d'inhibition (P%) selon la formule suivant :

$$\text{P}\% = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs témoin}] * 100$$

**P%** : pourcentage d'inhibition

**Abs témoin** : absorbance du contrôle négatif (DPPH sans extrait)

**Abs extrait** : absorbance de la solution de DPPH avec l'extrait

*Efficient concentration* « EC50 » qui est défini comme étant la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH est déterminé graphiquement par la régression linéaire.

## II.B. traitement des huiles

### II.1. Extraction des huiles par la technique de soxhlet

L'huile est obtenue après 8 heures d'extraction par soxhlet. L'hexane est utilisé comme solvant d'extraction. Après déshydratation par sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et filtration, le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite à 40 °C. Le rendement en huile exprimé en pourcentage est déterminé par la formule suivante :

$$R\% = (Mh / Mp) * 100$$

Où

R% : rendement en huile.

Mh : La masse d'huile (g).

Mp : La masse de la prise d'essai (g).

### II.2. Tests avant extraction des composés phénoliques à partir des huiles

Etant donné la polarité des composés phénoliques et donc leurs niveaux bas dans l'huile, il a été question de mélanger 10 échantillons huileux pour en avoir 3, selon leur degré de maturité. La composition de ces trois mélanges est donnée dans le tableau 07.

**Tableau 07:** Compositions des mélanges des huiles

Stade de maturité	Composant en échantillons d'huile	La couleur des fruits	La masse des huiles groupées (g)
<b>Mélange 1 immature</b>	2D	Jaune impérial	15
	3RN	Jaune impérial-Rouge	
	1D	Ocre jaune	
<b>Mélange 2 intermédiaires</b>	2D	Rouge foncé	25 ,4
	1D	Noires	
	1D	Rouge foncé	
	2D	Rouge foncé	
<b>Mélange 3 mature</b>	2D	Noires	24,44
	3RN	Rouge-vert	
	3RN	vert	

NB: Nous avons pris en considération lors du regroupement des échantillons huileux l'aspect de l'huile, la couleur des drupes et la date de la cueillette.

Le dosage des tocophérols totaux et évaluation de l'activité antioxydante ont été menés **avant** et **après** extraction des composés phénoliques.

### **II.2.1 Dosage des tocophérols totaux**

#### **🚦 Le principe.**

La teneur en tocophérols est déterminée grâce à la méthode colorimétrique **d'Emmerie-Engel (1939)**. Nous avons utilisé les propriétés réductrices des tocophérols, qui réduisent le fer ferrique en fer ferreux. Ce dernier est complexé par l'onthrophénantroline donnant un complexe rouge-orangé stable dont le coefficient d'extinction molaire à 510nm est élevé.

#### **🚦 Protocole expérimentale**

Nous avons préparé des dilutions à partir de l'huile ou  $\alpha$ -tocophérol commercial (Vitamine E) dans le butanol. 1ml de chaque dilution est additionné à 1ml du réactif onthrophénantroline à 0,4%, et 0,5ml de  $FeCl_3$  à 0,12% préparé dans l'éthanol. L'absorbance est lue après 5min à une longueur d'onde de 510nm.

Les teneurs des tocophérols sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E, et exprimées en milligrammes équivalents de vitamine E par 100g d'huile

### **II.2.2. Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles par le test DPPH**

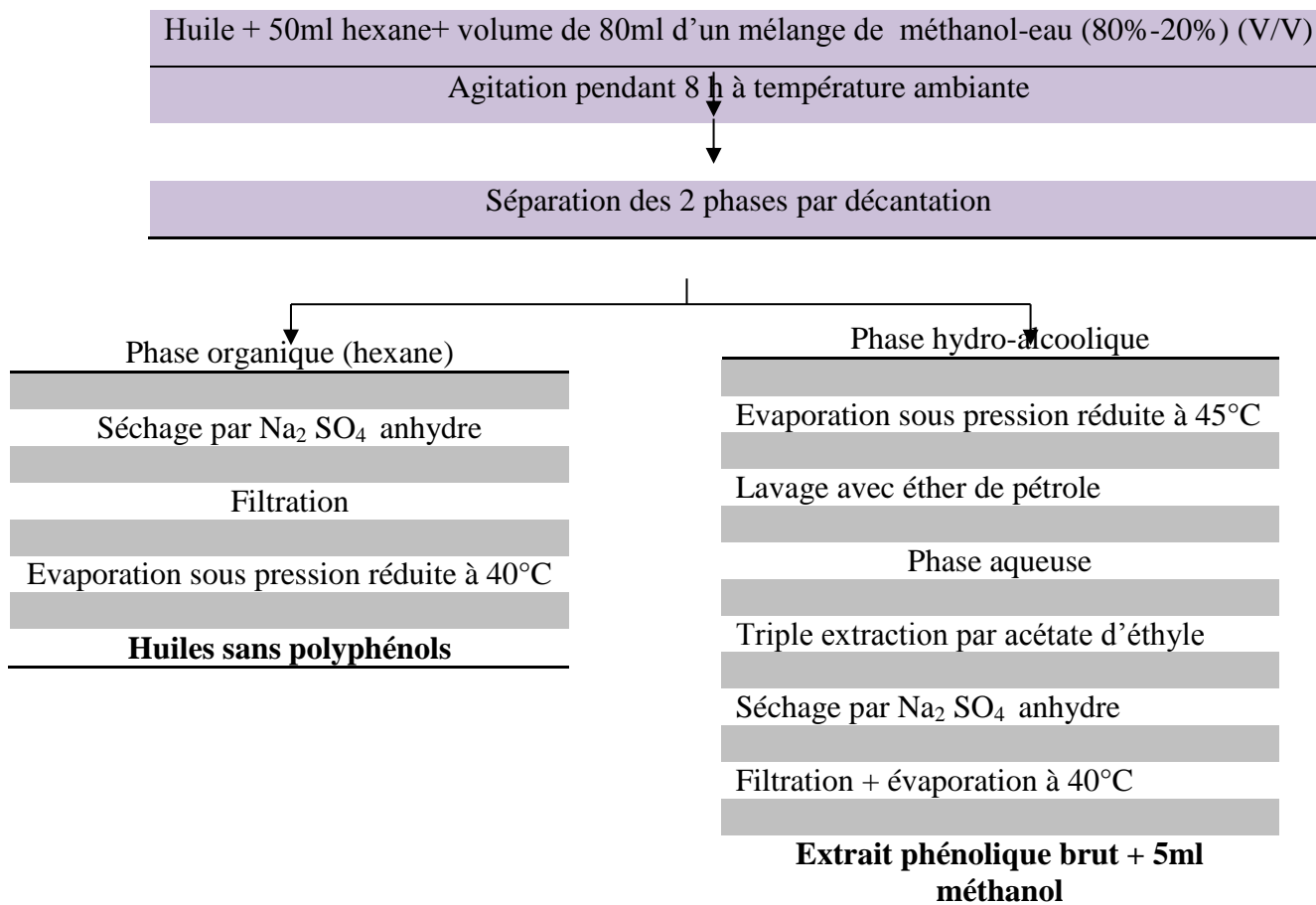
#### **Protocole expérimental**

Pour les mélanges d'huiles, nous avons suivi le même protocole décrit précédemment pour les extraits phénoliques bruts, avec des modifications concernant l'emploi du butanol pour les dilutions et  $\alpha$ -tocophérol (Vitamine E) comme antioxydant de référence.

### **II.3. l'extraction et analyse quantitative**

#### **II.3.1. Extraction des composés phénolique à partir des huiles.**

Les étapes importantes pour l'extraction des polyphénols à partir de l'huile sont résumées comme suit :



**Figure 29:** Schéma représentant les étapes d'extraction des polyphénols à partir des huiles

### II.3.2 Analyse quantitative.

Le rendement en polyphénols exprimé par le rapport entre la masse d'extrait phénolique brut et la masse d'huile de départ en gramme.

#### II.3.2.1 Dosage des polyphénols.

L'extraction des composés phénoliques à partir des huiles est suivie par un dosage spectrophotométrique par la même méthode précédente de **Singleton (1999)**. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par kilogramme d'huile.

#### II.3.2.2 Dosage des flavonoïdes.

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de **Zhishen et al(1999)**.

(Le même protocole adopté pour les extraits phénoliques bruts extraits à partir des tourteaux). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par kilogramme d'huile.

#### **II.4. Evaluation de pouvoir antioxydant des extraits phénoliques par le piégeage de radical libre DPPH.**

Pour les extraits phénoliques obtenus à partir des huiles, nous avons suivi les mêmes démarches décrites pour les extraits phénoliques des tourteaux.

#### **II.5. Analyse statistique des données.**

Dans toutes les expériences du dosage et d'évaluation de l'activité antioxydant, les données expérimentales obtenues ont été exprimées en tant que Moyenne  $\pm$  l'écart-type. Le coefficient de corrélation entre certains paramètres est calculé par Excel.

Le test de Student est utilisé pour la comparaison des moyennes.

# *Résultats et discussion*

Afin de pouvoir établir d'éventuelles relations entre les paramètres étudiés au niveau des tourteaux et ceux au niveau de l'huile, nous présentons les résultats selon le plan suivant

1/ Composés phénoliques au niveau des tourteaux délipidés et au niveau des huiles correspondantes

2/ Activités antioxydantes au niveau des extraits phénoliques des tourteaux et au niveau des huiles.

Dans cette dernière partie, nous présentons également l'activité antioxydante des composés phénoliques extraits à partir des huiles.

Il convient de dire que nous avons travaillé sur des huiles et des tourteaux après extraction huileuse par nos collègues Aouiffat Yacine et Benlhbib Zineb. De ce fait, nous ne nous sommes pas intéressés au rendement d'extraction d'huile.

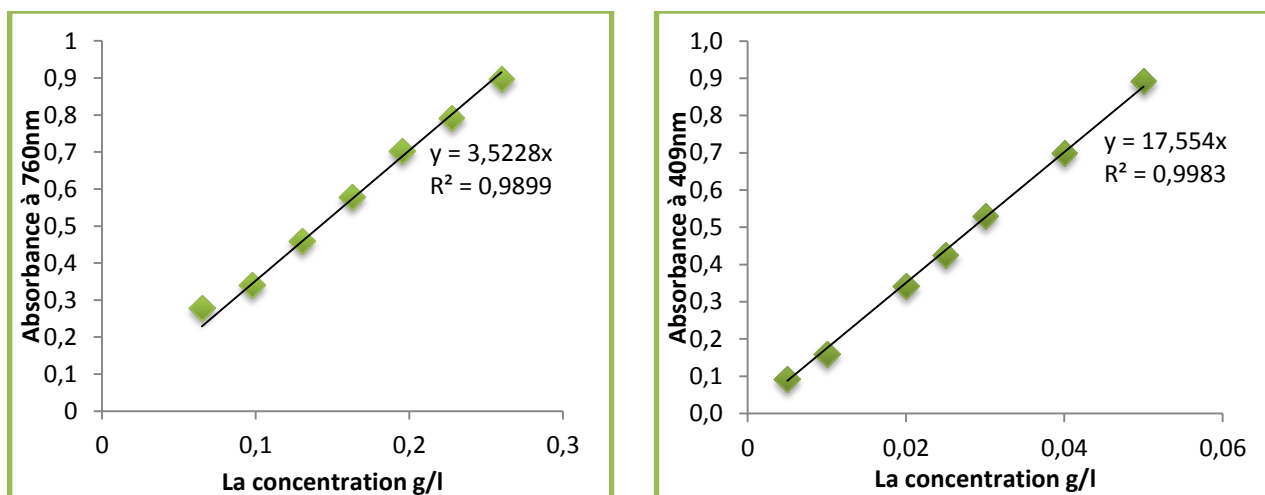
## **II.1. Etude des composés phénoliques au niveau des tourteaux et au niveau des huiles correspondantes**

### **II.1.1. Traitement des tourteaux**

Notre série d'étude comprend dix échantillons issus de trois arbres de régions différentes. Les fruits collectés en juillet et août 2015 ont été triés selon leur couleur. Ainsi, les drupes jaunes ou rouges sont considérées immatures par contre celles de couleur verte ou noire sont considérées matures.

#### **II.1.1.1. Extraction des polyphénols et analyse quantitative (dosage des phénols totaux, Flavonoïdes) à partir des tourteaux**

Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les échantillons des tourteaux ont été déterminées à partir des courbes d'étalonnage d'acide gallique et de quercétine (Figure 30). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique et en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière végétale sèche pour, respectivement, les phénols totaux et flavonoïdes (Tableau 8). Chaque résultat individuel est la moyenne de trois essais.



**Figure 30** : Courbes d'étalonnage de l'acide gallique (à droite) et de la quercétine (à gauche)

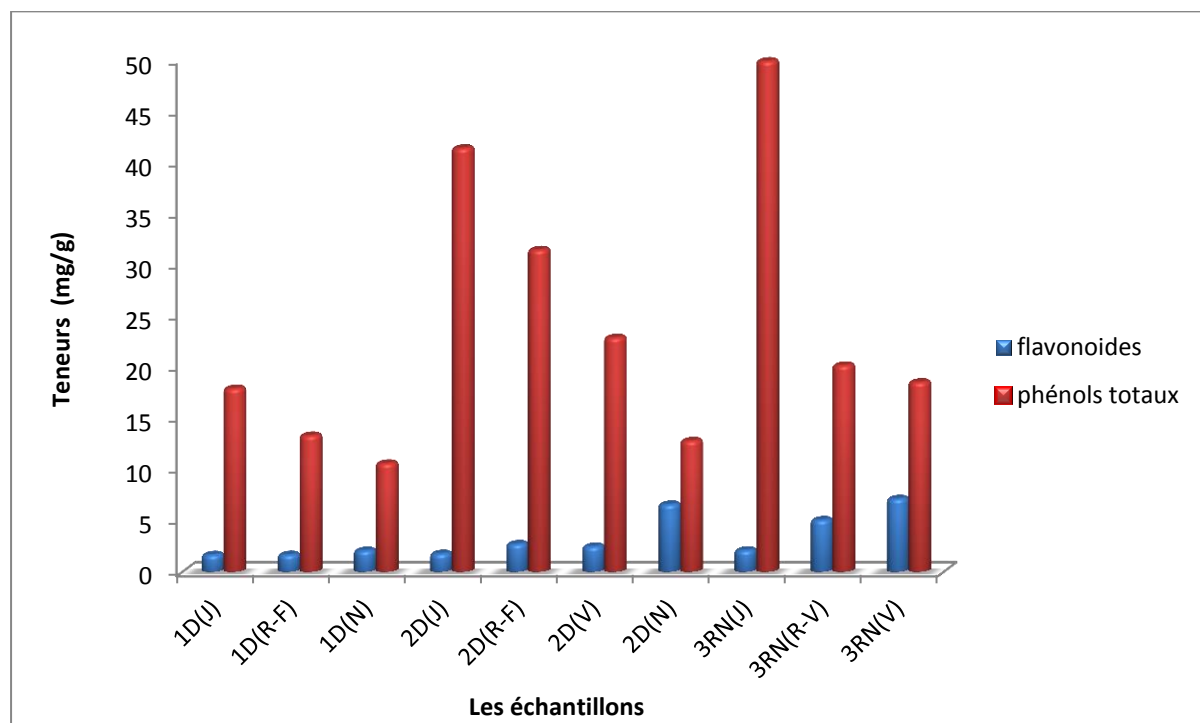
La masse d'extraits brut (g), les teneurs en phénols totaux (mg/g), les teneurs en flavonoïdes (mg/g) ainsi que les pourcentages des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%) sont montrés dans le tableau 08. Les moyennes pour chaque catégorie (immature, intermédiaire, mature) y sont également mentionnées.

<b>Tableau 8: Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes pour les 10 échantillons testés</b>					
<b>Echantillons</b>	<b>Masse d'extrait brut(g)</b>	<b>Rendement (%)</b>	<b>teneurs en phénols totaux (mg/g)</b>	<b>Teneur en Flavonoïde (mg/g)</b>	<b>Pourcentage des Flavonoïdes par rapporte aux phénols totaux (%)</b>
1D (J)	0,41	4,1	17,90	1,66	10,77
1D (R- F)	0,42	4,2	13,31	1,67	15,60
1D (N)	0,35	3,5	10,59	2,07	23,48
2D (J)	0,67	6,7	41,39	1,77	4,28
2D (R-F)	0,34	3,4	31,45	2,72	9,53
2D (V)	0,58	5,8	22,86	2,47	13,53
2D (N)	0,49	4,9	12,79	6,58	51,44
3RN (J- R)	0,63	6,3	49,91	2,10	4,21
3RN (R-V)	0,64	6,4	20,16	5,06	25,12
3RN (V)	0,52	5,2	18,52	7,13	38,51
Moyenne pour les immatures	0,5±0,14		36,40±16,57	1,85±0,23	6,43±3,77
Moyenne pour les intermédiaires	0,495±0,14		21,95±7,51	2,98±1,46	15,95±6,61
Moyenne pour les matures	0,45±0,12		16,19±5,56	4,56±2,66	31,74 ±16,67

Il convient de dire que pour des contraintes de temps, nous n'avons pas atteint l'épuisement en ce qui concerne l'extraction des composés phénoliques. C'est ainsi que nous ne discutons pas les résultats relatifs au rendement d'extraction de ces composés.

Pour les autres paramètres, nous remarquons une diminution des teneurs en phénols totaux et une légère augmentation de celles des flavonoïdes au cours de la maturation des drupes. Nous notons avec intérêt la grande augmentation, en fonction de la maturation des fruits, de la proportion de ces derniers par rapport aux phénols totaux. Les tourteaux des fruits immatures sont riches en phénols totaux par rapport à ceux des fruits matures. Bien que cette différence ne soit pas significative, celle concernant la proportion des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux l'est à un  $p < 0,05$ . Le niveau des flavonoïdes ne semble varier que légèrement entre les deux catégories (Figure 31). Ces résultats sont extrêmement intéressants car ils pourraient rendre compte d'une variation quantitative et/ou qualitative d'autres composés phénoliques au cours de la maturation des fruits de *Pistacia atlantica*.

Pour le groupe de drupes de maturité moyenne (couleur rouge foncée ou rouge-verte), les valeurs de paramètres testés sont pratiquement intermédiaires entre les deux catégories mature et immature.



**Figure 31** : Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes pour les échantillons.

La comparaison des trois arbres montre des différences notables signifiant des variations d'un arbre à un autre. Nous relevons une différence importante entre les deux arbres de Dayet Ennous. Nous nous interrogeons si cette différence entre fruits cueillis simultanément à partir du même site n'était due à des facteurs propres à chaque arbre (âge, facteurs génétiques, présence d'éventuelles endophytes,...).

Les fruits de l'arbre 3 (site 40Km au sud de Laghouat), cueillis en aout ont des teneurs légèrement élevé en phénols totaux et flavonoïdes par rapport à ceux des arbres de Dayet Ennous (arbre 1 et 2) cueillis en juillet. Cette différence pourrait être due aux facteurs multiples tels que le sol et/ou des factures génétiques.

Nous insistons sur le fait que c'est pour la première fois qu'une étude des composés phénoliques de fruits de cette plante cueillis en juillet c'est-à-dire à un stade très précoce de maturation est réalisée.

Dans la littérature il y a peu de données sur la variation des teneurs des composés phénoliques des fruits de *Pistacia atlantica* selon le stade de maturité. Nous comparons nos résultats avec ceux de Kessoum(2014) pour les mêmes fruits (de maturité différente) où une diminution remarquable des teneurs en phénols totaux au cours la maturité des fruits a été observée (77,07, 46,78 et 26,71mg/g pour respectivement, des fruits immatures, intermédiaires et matures(**Kessoum,2014**).

Une étude sur les fruits matures (couleur noire) de même espèce de la région de Telghimt de Laghouat a révélé une teneur faible en polyphénols (5,93mg/g) et des flavonoïdes (4,85mg/g) (**Maamri, 2008**). D'autre part, Belyagoubi-Benhammou a montré dans sa thèse de doctorat un niveau très élevé en phénols totaux (285,956 mg EAG/ g MS) et un niveau modéré pour les flavonoïdes (12,441 mg EAG/ g MS) pour des fruits rouges de la même espèce de la région Aïn Fezza (Tlemcen) cueillis très précocement (en mai) (**Belyagoubi- Benhammou, 2011**).L'ensemble de ces résultats conforte les nôtres.

## **II.1.2. Traitement des huiles**

### **II.1.2.1. Extraction des polyphénols et analyse quantitative (dosage des Phénols totaux, Flavonoïdes) à partir des huiles.**

Etant donné le caractère polaire des composés phénoliques et donc leur taux, théoriquement, faible dans l'huile, nous avons groupé des échantillons huileux selon la couleur des drupes afin d'augmenter le rendement d'extraction phénolique. C'est ainsi que nous avons obtenu trois mélanges selon le degré de maturation des fruits.

Le rendement d'extraction phénolique à partir de l'huile ainsi que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes (mg/kg) sont indiqués dans le tableau 09. Les analyses quantitatives des phénols totaux et des flavonoïdes sont accomplies à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage (Figure 30). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique et en milligrammes équivalents de quercétine par kilogramme d'huile pour respectivement les phénols totaux et les flavonoïdes. Ce dernier paramètre, pour des raisons expérimentales, n'a pu être analysé que pour l'échantillon Mél 1.

**Tableau 09 :** Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les mélanges huileux.

Mélanges huileux	Masse d'huiles (g)	Masse d'extrait phénolique brut (g)	Rendement d'extraction phénolique (% , m/m)	Teneurs des phénols totaux (mg /kg)	Teneurs des Flavonoïdes (mg /kg)	Pourcentage des Flavonoïdes par rapporte aux phénols totaux (%)
<b>Mél 1 (immature)</b>	15	0,0861	0,574	25,12	16,39	65,24
<b>Mél 2 (intermédiaire)</b>	25 ,40	0,0279	0,109	2,23	-	-
<b>Mél 3 (mature)</b>	24,44	0,0151	0,062	1,27	-	-

Nous constatons que le mélange 1 (représentant des fruits immatures) enregistre le rendement d'extraction phénolique le plus élevé de l'ordre de 0,574 % (m/m) suivi par le mélange 2 (fruits à maturité moyenne) à raison de 0,109%, puis le mélange 3 (fruits matures) avec 0,062%.

Les phénols totaux des huiles gardent la même variation de ceux des tourteaux. En effet, nous enregistrons une diminution de leurs teneurs au cours de la maturation des drupes (25,12, 2,23 et 1,27mg/kg pour respectivement Mél1, Mél2 et Mél 3. Nos résultats sont parfaitement concordants avec ceux d'Adila et Belboul (2014) qui avaient trouvé des valeurs atteignant 178 et 65 mg/kg pour respectivement des échantillons immatures et matures. (**Adila et Belboul, 2014**).

Il est à relever que la proportion des flavonoïdes dans les phénols totaux pour Mél 1 est assez élevée (65,24 %). La moyenne de cette proportion pour les échantillons de tourteaux correspondant à Mél 1 dépassait à peine 5 %. Celle pour les mêmes échantillons de tourteaux correspondant à Mél 2 et Mél 3 était respectivement 11,4

et 36,48 %. Suite à ces données, nous nous interrogeons si la variation de la proportion des flavonoïdes était inversée dans l'huile par rapport aux tourteaux. L'absence de résultats concernant les flavonoïdes dans l'huile pour Mél 2 et Mél 3 nous a été limitant.

Dans la littérature, nous n'avons trouvé que les données rapportées par Saber-Tehrani *et al.* pour la même plante et qui indiquent une teneur de 57,57 mg/kg (Tehrani *et al.*, 2012). Pour les autres espèces, Charef rapporte dans sa thèse de doctorat des niveaux extrêmement élevés dans l'huile des fruits rouges (7400 mg/kg) et noirs (3000 mg/kg) de *Pistacia lentiscus* (Charef, 2011). L'huile d'olive est connue par sa teneur phénolique appréciable (Nakbi *et al.*, 2010)

En vue d'établir le degré de la relation entre teneurs des phénols totaux au niveau des tourteaux et celles des huiles, nous avons calculé le coefficient de corrélation entre elles. Pour ce faire, nous avons calculé la moyenne des teneurs phénoliques au niveau des tourteaux des mêmes échantillons huileux mélangés pour pouvoir comparer (Tableau 10).

**Tableau 10** : comparaison entre les teneurs phénoliques des tourteaux et des huiles.

Echantillons	Teneur phénolique moyennes pour les tourteaux mg/g	Teneur phénolique pour les huiles mg/g	Coefficient de corrélation entre teneur phénolique dans les tourteaux et les huiles (r)
mél1	36,405 ± 16,57	0,02512	0,99688439
mél2	19,558 ± 9,52	0,00223	
mél 3	17,162 ± 3,86	0,00127	

Nous remarquons que les teneurs phénoliques des tourteaux sont nettement supérieures à celles des huiles. C'est tout à fait logique sachant que la nature hydrosoluble des composés phénoliques. Une corrélation positive très étroite ( $r = 0,99$ ) est obtenue entre les niveaux des phénols totaux des tourteaux et ceux des huiles. De ce fait, la charge phénolique totale varie, au cours de la maturation des drupes, d'une manière identique entre les tourteaux et les huiles.

Il est crucial de savoir si la composition phénolique au niveau de ces deux compartiments était identique ou différente. Nos résultats concernant les flavonoïdes dans l'huile, quoique limité à Mél 1 uniquement, semble plaider en faveur d'une composition différente. Seule l'identification (sur le plan qualitatif et quantitatif), par des procédés perfectionnés tels que l'HPLC, des composés phénoliques constitutifs

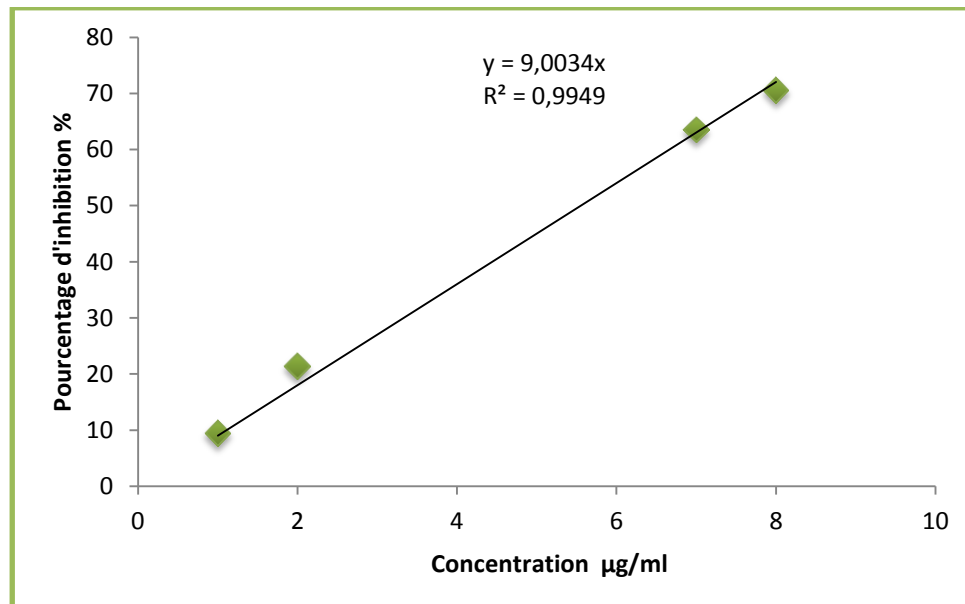
apportera des réponses formelles. Il a été rapporté que l'acide caféique, l'acide cinnamique et le pinosésinol étaient les composés phénoliques dominants dans l'huile des fruits de *Pistacia atlantica* (Saber-Tehrani *et al.*, 2012).

## II.2. Activités antioxydantes au niveau des extraits phénoliques des tourteaux et au niveau des huiles.

### II.2.1. Résultat d'évaluation de pouvoir antioxydant des extraits phénoliques bruts des tourteaux contre le radical libre DPPH°.

Pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des phénols totaux par le piégeage du radical libre DPPH, nous avons utilisé l'acide ascorbique (Vitamine C) comme contrôle positive. Ce qui a permis de tracer la courbe de référence représentant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations en vitamine C afin de calculer l'EC50 (la concentration nécessaire d'un antioxydant pour neutraliser 50% du radical libre) (Figure 32).

Nous avons réalisé le même traitement avec les échantillons testés. Les représentations graphiques ayant servi au calcul de l'EC50 pour chaque échantillon sont données en Annexe 4. Les valeurs de l'EC50 qui en sont déduites sont récapitulées dans le tableau 11.



**Figure 32 :** Courbe représentant l'activité antioxydante de la vitamine C contre le radical libre DPPH°.

**Tableau 11** : Activité antioxydante des extraits phénoliques bruts exprimé par EC50.

Echantillons	EC 50(µg/ml)
1D (J)	20,41
1D(R-F)	27,20
1D (N)	31,28
2D (J)	10,90
2D (R-F)	12,68
2D (V)	27,39
2D (N)	23,77
3RN (J-R)	19,78
3RN (R-V) + 3RN(V)	34,56*
Moyenne pour les immatures	17,03±5,31
Moyenne pour les intermédiaires	24,81±10,29
Moyenne pour les matures	27,48±9,65
Acide ascorbique	5,55

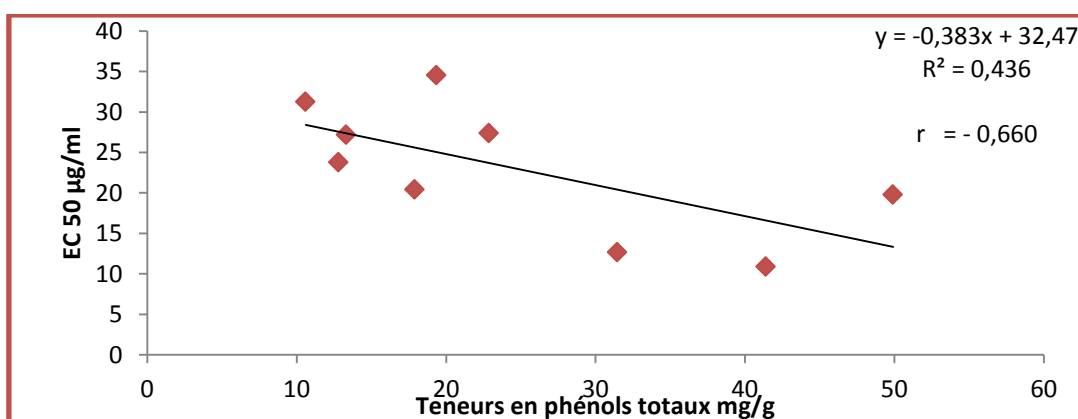
\*: Moyenne de deux valeurs presque identiques.

Il ressort du tableau 11 que les extraits des drupes immatures ont le pouvoir antioxydant le plus élevé qui diminue d'une manière légère avec la maturation caractérisée par le changement de la couleur du fruit (passage de la couleur du jaune vers le vert ou le noir en passant par le rouge foncé). Le test de Student n'indique pas de différence significative entre les échantillons immatures et ceux matures. Ce résultat ne concorde pas avec celui rapporté par Kessoum (2014) où une nette différence avait été décelée. L'EC50 de nos échantillons matures oscille entre 23 et 34 µg/ml contre un intervalle compris entre 24 et 217 µg/ml pour l'étude réalisée par Kessoum. Cette différence concernant les drupes matures pourrait être expliquée par la cueillette très précoce de nos fruits (juillet et aout) par rapport à ceux de Kessoum (aout et septembre). Ceci est conforté par la valeur de l'EC50 (24,85 µg/ml) d'un échantillon mature cueillis en Aout 2013 (**Kessoum, 2014**). Cette observation indique clairement que la couleur du fruit indique mais en partie son degré de maturation. La date de la cueillette est un autre paramètre à prendre en considération. En dernier lieu, il ne faut pas omettre l'effte de la variation des saisons (entre 2013 et 2015). Dans la

littérature, il a été rapporté que les fruits matures de *Pistacia atlantica* dans l'ouest de l'Azerbaïdjan étaient moins actifs (EC50 de 0,921mg/ml) (Hatamnia *et al.*, 2013). Cette différence serait due en grande partie à l'emplacement géographique.

### II.2.1.1. Relation entre teneurs phénoliques et activité antioxydante

Nous avons calculé le coefficient de corrélation entre les niveaux des polyphénols dans les tourteaux et les valeurs d'EC50 pour l'ensemble des échantillons. Nous avons trouvé une corrélation négative assez appréciable ( $r = -0,66$ ) comme le montre la régression présentée dans la figure 33. Dans un souci d'enlever l'effet de différences inter arbres (âge, emplacement géographique,...), nous avons également calculé le coefficient de corrélation pour les échantillons de chaque arbre (Tableau 12). Nous remarquons une corrélation négative très étroite entre les deux paramètres testés. Les valeurs proches de -1 indiquent clairement une relation cause à effet entre composés phénoliques et activité antioxydante.



**Figure33** : Régression entre l'activité antioxydante (formuler par EC50) et les teneurs en phénols totaux des extraits phénoliques bruts au niveau les tourteaux.

**Tableau 12** : Corrélation entre les teneurs phénoliques dans les extraits des tourteaux obtenus des fruits de chaque arbre (tous stades de maturation confondus) et l'EC50.

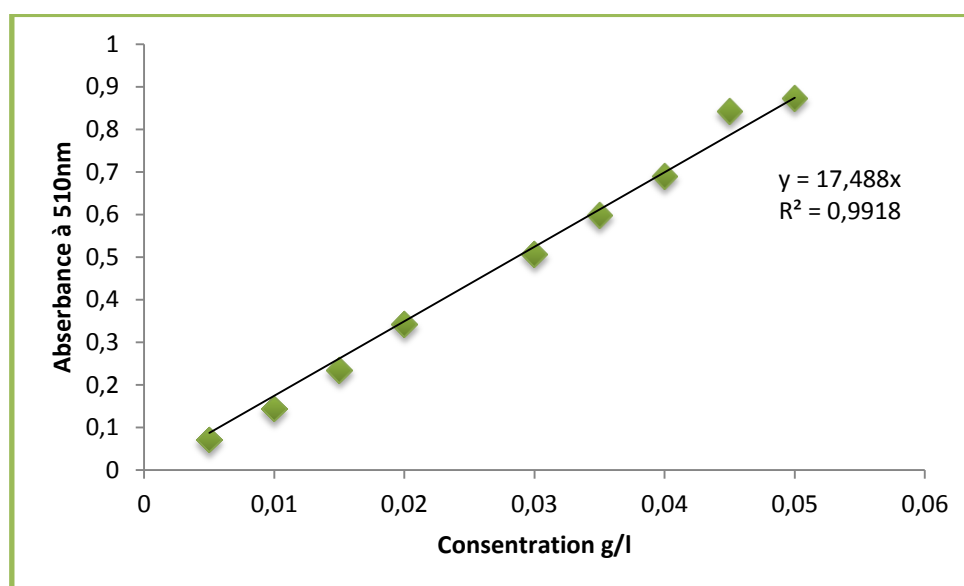
Les arbres	Lieu de récolte	Coefficient de corrélation(r)
1	DayetEnnous	-0,999
2	DayetEnnous	-0,830
3	RN (40 Km au sud de Laghouat)	-0,962

## II.2.2. Analyse quantitative et évaluation du pouvoir antioxydant des composés des huiles par test de piégeage du radical libre DPPH°

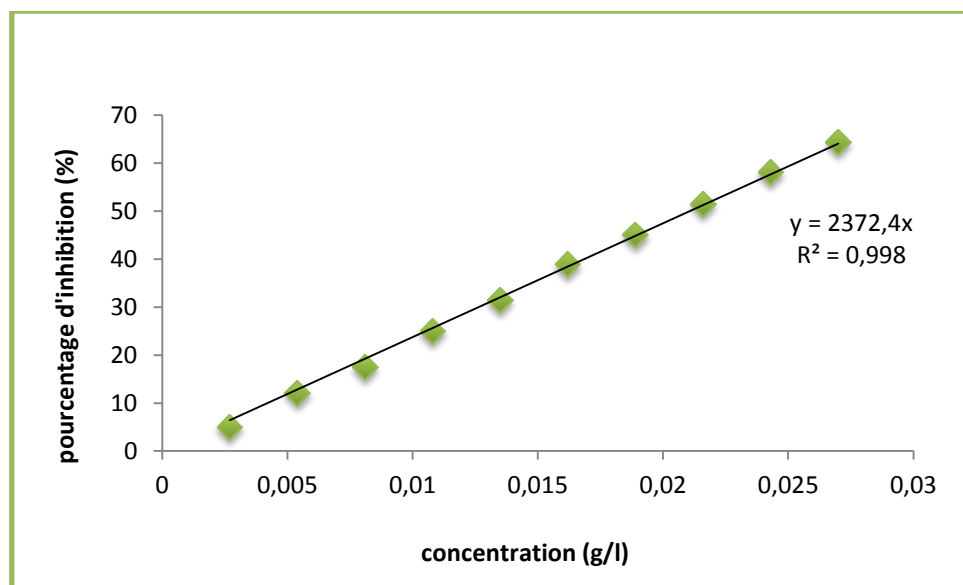
Etant donné que, généralement, les tocophérols sont les molécules les plus antioxydants des huiles, nous nous y sommes intéressés avant et après extraction phénolique. Comme nous l'avons indiqué précédemment, nous avons travaillé sur des huiles groupées donnant trois mélanges selon le degré de maturation des fruits dont elles sont extraites. Nous avons réalisé le dosage des tocophérols totaux, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles et ce avant et après extraction des composés phénoliques. Nous avons également testé le pouvoir antiradicalaire des extraits phénoliques obtenus à partir des huiles.

### II.2.2.1. Dosage des tocophérols et l'évaluation d'activité antioxydante avant et après l'extraction des phénols totaux à partir les huiles.

A l'aide de la courbe d'étalonnage de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérols) (Figure 34), nous avons déterminé les teneurs en tocophérols totaux. La vitamine E a également été utilisée comme antioxydant de référence (Figure 35). Les résultats du dosage sont exprimés en milligrammes équivalents de vitamine E par 100 gramme d'huile et ceux relatifs au pouvoir antioxydant sont exprimés en EC50 (mg/ml). L'ensemble de ces résultats est présenté dans le tableau 13.



**Figure 34** : Courbe d'étalonnage de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol).



**Figure 35** : Evaluation de l'activité antioxydante de la vitamine E contre le radical libre DPPH°

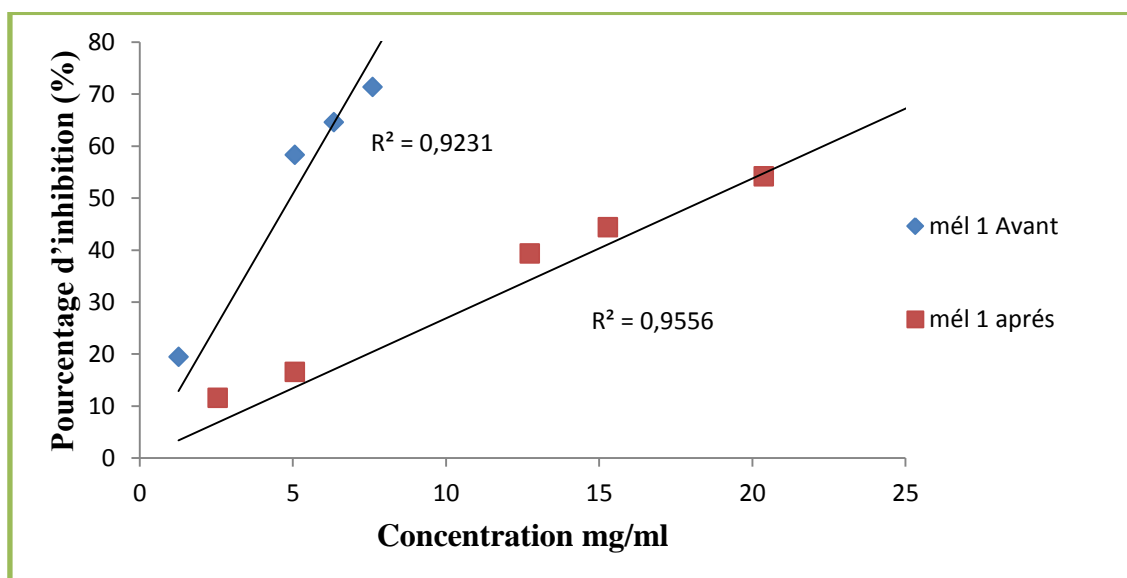
**Tableaux 13** : Teneurs en tocophérols totaux et activités antioxydantes des huiles (exprimée par EC50) avant et après extraction des polyphénols

	Avant extraction des composés phénoliques		Après extraction des composés phénoliques	
	Teneurs en tocophérols (mg/100g)	Les valeurs d'EC50 (mg/ml)	Teneurs en tocophérols (mg/100g)	Les valeurs d'EC50 (mg/ml)
<b>Mél 1 (huile)</b>	584,678	4,926	219,556	18,368
<b>Mél2 (huile)</b>	213,487	15,515	76,516	38,0807
<b>Mél 3 (huile)</b>	143,251	20,946	73,718	40,816

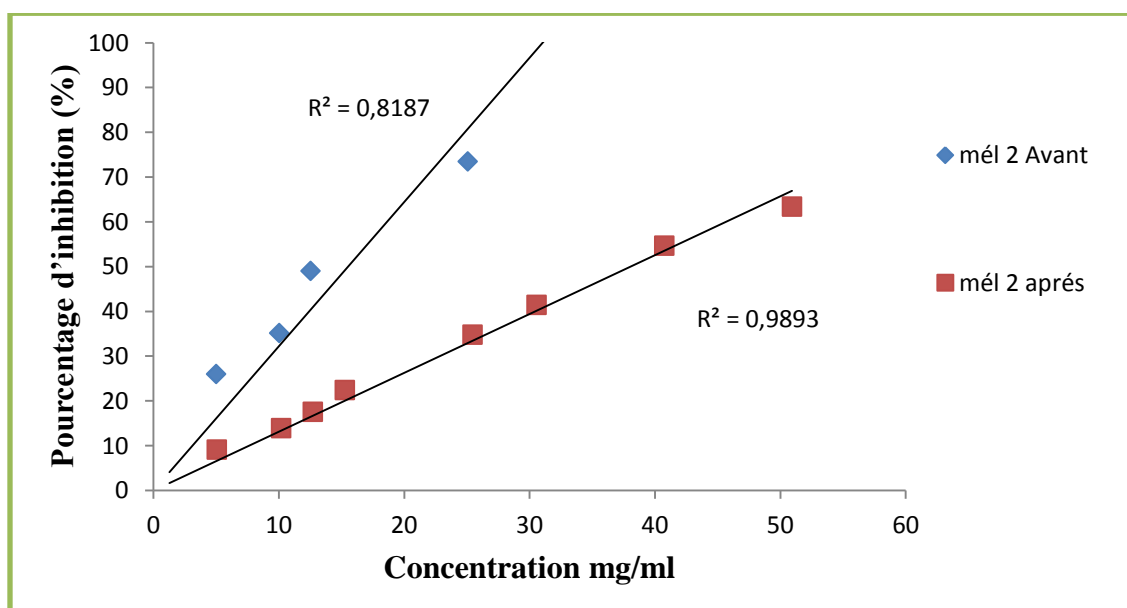
Nous constatons, à partir des données du tableau 13, que l'huile des fruits immatures a les teneurs les plus importantes en tocophérols lesquelles sont associées au pouvoir antioxydant le plus important. De ce fait, il est évident que la teneur en tocophérols totaux dans l'huile des fruits de notre plante ainsi que son activité antioxydante diminue au fur et à mesure de la progression de leur maturation.

Nous notons avec un grand intérêt une diminution importante et significative de la teneur des tocophérols totaux ainsi que l'activité antioxydante des huiles après extraction phénolique et ce pour tous les mélanges (Tableau 13).

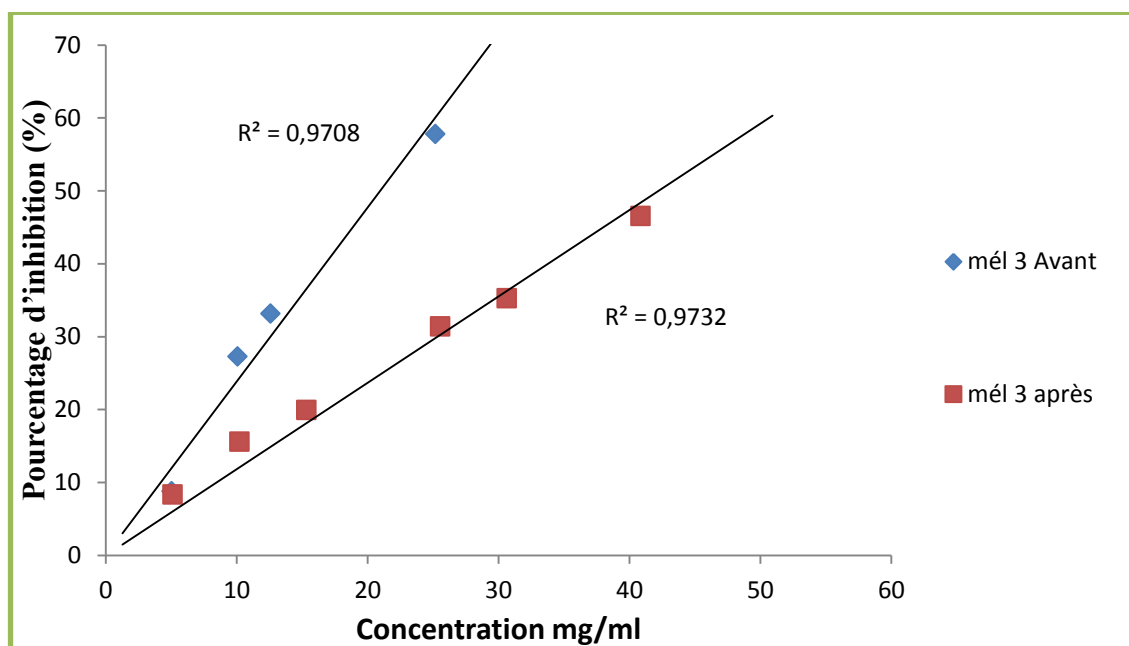
Ceci pourrait être expliqué par le passage d'une partie des tocophérols dans l'extrait phénolique. La diminution du pouvoir antioxydant de l'huile après extraction phénolique est évidente dans l'allure des droites présentées pour respectivement dans les figures 36, 37, 38 des mélanges 1, 2, 3. Cette diminution indique clairement l'implication des composés phénoliques dans l'activité antioxydante avant l'extraction phénolique.



**Figure 36** : Activité antioxydante de mélange 1 d'huile avant et après extraction des composés phénoliques



**Figure 37**: Activité antioxydante de mélange 2 d'huile avant et après extraction des composés phénoliques



**Figure 38:** Activité antioxydante de mélange 3 d'huile avant et après extraction des composés phénoliques

Il est à relever que la variation des deux paramètres testés n'a pas changé après extraction phénolique.

Nos résultats concernant la diminution de l'activité antioxydante des huiles après extraction phénolique confortent ceux rapportés par Adila et Belboul (2014) et plaident en faveur d'un rôle important des composés phénoliques dans le pouvoir antioxydant de l'huile des fruits de *Pistacia atlantica*.

L'activité antioxydante des extraits phénoliques à partir des huiles a été testée uniquement pour les échantillons Mél 1 et Mél 2. Vu la masse très faible de l'extrait obtenu pour Mél 3 (environ 15mg), ce dernier n'a pu être testé. Les résultats sont montrés dans le tableau 14.

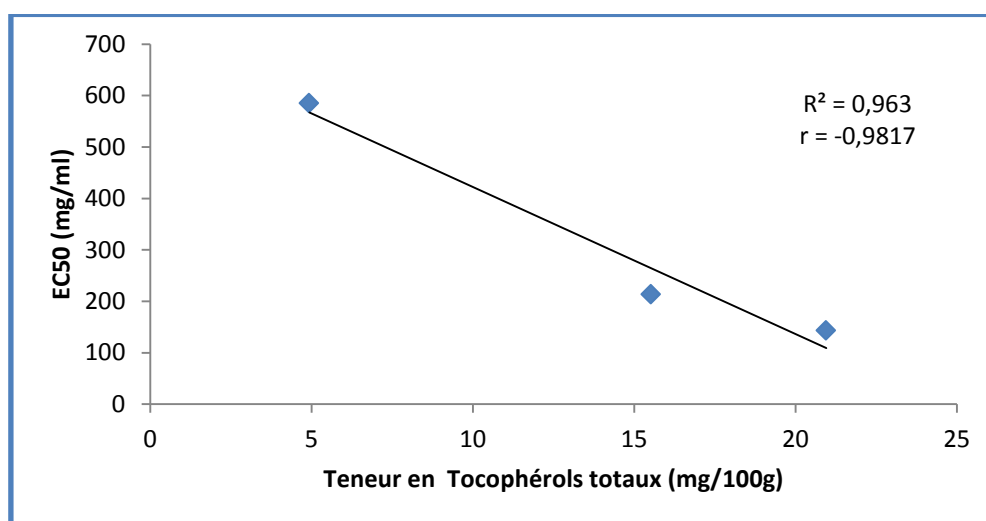
**Tableau14:** Activité antioxydante (exprimé par EC50) des extraits phénoliques des huiles

Les mélanges des huiles	EC50 µg/ml
Mél 1	89,2
Mél 2	1309
Mél 3	-

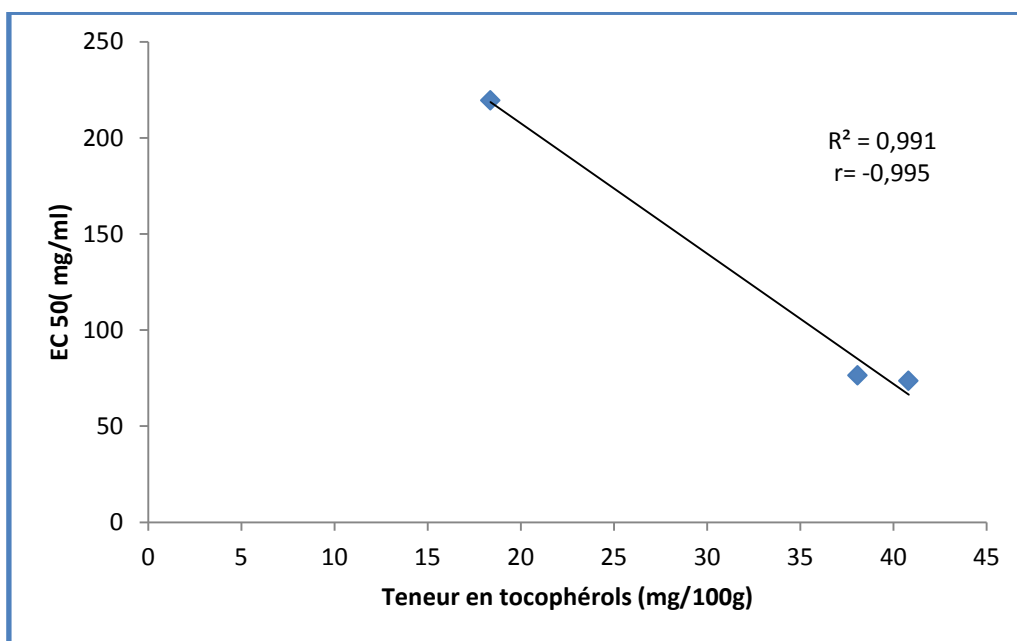
Il en ressort que l'activité antioxydante des extraits obtenus à partir de l'huile des fruits immatures est extrêmement élevée traduite par un EC50 relativement bas. Par contre, Mél 2 (intermédiaire) a une activité beaucoup plus faible traduite par un EC50 élevé. Cette variation semble être identique à celle des extraits de tourteaux où les valeurs moyennes correspondant à Mél 1, Mél 2 et Mél 3 étaient respectivement 17,03, 24,64 et 30,96 µg/ml. Ces derniers extraits se montrent plus actifs par rapport à ceux de l'huile.

### II.2.2. 2. Relation entre le pouvoir anti radicalaire et les teneurs en tocophérolstotaux avant et après extraction des phénols totaux.

En dépit que nos résultats sur les composés phénoliques dans l'huile ne concernent que trois échantillons mélanges, nous avons essayé quand même d'établir des régressions linéaires reliant l'activité antioxydante à la teneur en tocophérols totaux avec calcul du coefficient de corrélation pour les huiles et ce avant et après extraction phénoliques. Nous décelons une corrélation négative très étroites entre ces deux paramètres avec un coefficient de corrélation légèrement supérieur après extraction des composés phénoliques (-0,995 contre -0,981, figures 39 et 40). Cette légère augmentation renseigne sur l'implication, dont le degré mérite d'être déterminé, des composés phénoliques dans le pouvoir antioxydant de l'huile des fruits de *Pistacia atlantica*.



**Figure 39** : Régression entre l'activité antioxydante (formuler par EC50) des trois mélanges huileux et les teneurs en tocophérols avant l'extraction des composés phénoliques.



**Figure 40 :** Régression entre l'activité antioxydante (formuler par EC50) des trois mélanges huileux et les teneurs en tocophérols après l'extraction des composés phénoliques.

# *Conclusion*

*Pistacia atlantica*, plante aux vertus multiples ne cesse de révéler ses mystères aux scientifiques. Dans cette modeste contribution, nous nous sommes intéressés à l'étude des extraits phénoliques et huileux à partir de fruits de couleur différente indiquant des stades de maturation différents. Nous en tirons les conclusions suivantes:

- ✓ Les teneurs en polyphénols totaux ainsi que l'activité antioxydante des extraits phénoliques bruts des tourteaux sont influencées par le degré de maturité. En effet, les fruits immatures sont plus riches en polyphénols et possèdent l'activité antioxydante (contre le DPPH) la plus élevée.
- ✓ La proportion des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux semble augmenter au cours de la maturation des drupes de *Pistacia atlantica*.
- ✓ L'huile des fruits de *Pistacia atlantica* contient des teneurs assez appréciables en composés phénoliques particulièrement aux stades précoces de maturation. Ce résultat conforte celui rapporté par Adila et Belboul en 2014.
- ✓ La variation de la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante varient dans le même sens aussi bien dans les extraits phénoliques de tourteaux que ceux des huiles. Cependant, il se pourrait que la composition relative ne soit pas la même. L'identification de ces composés dans chaque fraction par des procédés perfectionnés tels que l'HPLC est à même d'apporter des réponses formelles.
- ✓ L'activité antioxydante des huiles est due en grande partie aux tocophérols et aux composés phénoliques.

Notre travail a apporté des informations complémentaires aux études précédentes sur les fruits du *Pistacia atlantica*. Néanmoins, des études plus poussées sont encore nécessaires visant notamment l'identification et la caractérisation des molécules bioactives ainsi que leur variation sur le plan qualitatif et quantitatif au cours de la maturation des drupes de cet arbre.

*Références  
bibliographiques*

## A

**Adila, R., Belboul, I. (2014).**Activité antioxydant des huiles des fruits du pistachier de l'Atlas .Mémoire de master. Université Amar Telidji Laghouat.111p.

**Alibert,G ., Ranjeva, R.(1971).**Recherches sur les enzymes catalysant la biosynthèse des acides phénoliques chez *Quercus pedunculata* (Ehrh): I formation des premiers termes des séries cinnamique et benzoïque . *Febs letters*.**19**, (1).11-14.

**Aouidi, F., Perraud-Gaime,I., Roussos,S ., Hamdi, M. (2009).** Etude de la répartition quantitative des phénols totaux dans l'olivier en fonction des organes et leur degré de maturité. *Olivebioteq* .**5**. 376-379.

**Atanasova , M., Ribarova, F.(2009).** Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits secs des feuilles des bouleaux argentés bulgares (*Betula pendula*) .*Revue de génie industriel*. **4**. 21-25.

## B

**Belhadj, S.(2001).** Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. *CIHEAM Options méditerranéennes*. **56**.107- 109.

**Bellakhdar, A., Bentireche, F.(2013).** Etude des huiles des fruits du *Pistacia atlantica* : composition en acides gras et activité antioxydant. Mémoire de master. Université Amar Telidji Laghouat.85p.

**Belyagoubi – Benhammou, N.(2011).** Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P 5-14.

- Benabdallah , F.,(2012).**Etude morphologique des feuilles et des fruits du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf) et valorisation des huiles essentielles des feuilles et de l'oléorésine. Mémoire de magister. Université Mohamed Kheider Biskra. pp 4-36.
- Benaradj, A., Hasnaoui, O., Boucherit, H., Mederbal, K., Baghdadi, D., Aibout, F.(2012).** Efficacité de la technique de Miseendéfenssur la préservation des plantes d'intérêts médicinales dans la région de Naâma: Cas de la station de Zaboudja-Tiout. *PhytoChem & BioSub Journal*. **6** (1). 2170-1768.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O.(2012).** Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*.Turkey .5.9-19.
- Bonnaillie ,C., Salacs .M., Vassiliova ,E., Saykova. I .(2012).** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L). *Revue de Génie Industriel* .**7**. 35-45.
- Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas, Sétif.P 34.
- Bouhadjra, K. (2011).** E3tude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.
- Bouras, F., Houchi, A. (2013).**Etude de l'activite antioxydante de la plantes *Rumex vesicarius l*. Mémoire de master. Universite kasdi marbah Ouargla.
- Bozorgi, M., Memariani,Z.,Mobli,M., surmaghi,M,H,S.,Shams Ardekani,M.R.,Rahimi,R.(2013).** Five Pistacia species (*P.vera,P.atlantica, P.terebinthus, P.khinjuk, and P. lentiscus*) :A review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. The scientific World journal.**10**.219-815.
- Bruneton, J(1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition, *Lavoisier Techniques & Documentation*, Paris.1120p.

**Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Techniques & Documentation. Paris.

## C

**Clergeaud, C., Clergeaud, L. (2003).** Les huiles Végétales Huiles de santé et de beauté. *Editions Amyris SPRL*. Bruxelles. 66p

**Clergeaud, C., Clergeaud, L. (2004).** Les huiles végétales nutriment et cosmétique Source de Santé Perles de Beauté. *PRANARÔM*. 20p.

**Charef, M. (2011).** Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus*. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah Ouargla. pp95-108.

**Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rew.* **12 (4)**. 564- 582.

**Cucha, W.R., Silva, M.L.A., Veneziani R.C S., Ambrósio, S.R., Bastos, J.K. (2012).** Lignans: Chemical and Biological Properties. *Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. **10**. 214-225.

**Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Formation Continue – Article De Synthèse*. *Ann. Méd. Vét.* **147**. 315-324.

**Cuvelier, M., Maillard, M. (2012).** Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Qualité–Sécurité Alimentaire*. **19(82)** 125-132.

## D

**Dai, J. R., Mumper, J. (2010).** Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Review Molecules*. **15**. 7313-7352.

---

**Denisov, E., Afanas'ev, I. (2005).** Chain Mechanism of Liquid-Phase Oxidation of Hydrocarbons *In* oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Taylor & Francis. p54.

**Diallo, F. B., Bégin, D., Gérin, M. (2010).** La substitution des solvants par les esters méthyliques d'acide gras d'huiles végétales. *Bilans de connaissances*. **79**. 5-24.

## E

**Emmerie, A., Engel, C. (1939).** Colorimétric determination of tocopherol (Vitamin E). II. Adsorption experiment. *Rec. Trav. Chim.* **58**. 283-289.

## F

**Faouzi, K., Rharrabti, Y., Dardour, M., Boukroute, A., Mahyou, H., Labghial, M., Berrichi, A. (2015).** Délimitation des peuplements du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) dans la région orientale du Maroc par le G.P.S. COMBINE AU S.I.G. *Algérien journal of arid environment*. **5**(1). 32-39.

**Farhoosh, R., Tavakoli, J., Haddad Khodaparast, M.H. (2008).** Chemical Composition and Oxidative Stability of Kernel Oils from Two Current Subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. **85**. 723-729.

## G

**Gordaliza, M., Garcia, P.A., Corral, J.M., Castro, M., AGomez-Zurita, M.A. (2004).** Podophyllotoxin: distribution, sources, applications and new cytotoxic derivatives. *Toxicon*. **44** (4). 441-459.

**Gourine, N., Yousfi, M., Bombardab, I., Nadiemi, B., Stocker, P., Gaydou, E.-M. (2010).** Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Ind. Crops Products*. **31**. 203-208.

**Guignard, J. I. (2000).** *Biochimie Végétale*. 2<sup>ème</sup> édition. *Dunod. Paris*. P 168-174.

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

## H

**Hansel, B., Bruckert, E. (2006).** Stanols, stérols et cholestérol: que répondre aux patients. *Lipidologie -Réalités Cardiologiques*. **217**

**Harfouche, A.b ., Chebouti-Mezioun, N., Chebouti, Y. (2005).** Comportement comparé de quelques provenances algériennes de pistachier de l'Atlas introduites en réserve naturelle de Mergueb (Algérie). *Forêt méditerranéenne* .**2**.135-142.

**Harrar, A.N. (2012).** Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de magister. Université de Ferhate Abbas –Sétif .pp7-14.

**Hatamnia,A.A., Abbaspour, N., Darvishzadeh, R. (2013).** Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemistry*. **145**. 306–311.

**Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F.(2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*.**1**. 3-6.

**Hertog, M. GL., Hollman, P.C.H.(1992).**Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J Agric. Food Chemistry* **40**.1591-1598.

**Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, **139**.1–21.

**Hoffmann, L., Besseau, S., Geoffroy, P., Ritzenthaler, C., Meyer, D., Lapierre, C., Pollet B., Legrand, M.(2004).** Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. **16** (6).1446-1465.

## I

**Iserin, P.(2001).** Larousse Encyclopédie des Plantes Médicinales .2<sup>ème</sup> Edition .Larousse-Bordas. p 9-10.

## J

**Jahouach, W.(2002).** Décoloration des huiles végétales sur des argiles étude de la stabilité physico- chimique des huiles décolorées. Mémoire pour l'obtention du d'études approfondies en chimie organique. Université de Sfax.pp 4-23.

**Jain, P.K., Himanshu, J. (2012).** Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* .**02** (06). 236-240.

## K

**Kabran, G.R., Akhanovna Mamyrbekova-Bekro, J., Pirat, J.L., Bekro, Y.A., Sommerer, V ., Verbaere, A., Meudec, E .(2014).** Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne .*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*. **038** .57 - 63.

**Kanoun, K. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen(Honaine).Mémoire de magister. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.pp 21-27.

**Kessoum, M. (2014).** Fruits de pistachier de l'Atlas : composés phénoliques et activité antioxydant. Mémoire de master. Université Amar Telidji Laghouat. 37p.

**Khater, F.(2011).** Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse des composés phénoliques. Thèse de Doctorat. Centre International D'études Supérieures En Sciences Agronomiques - Montpellier Supagro. pp 25-36

**Krisa, S., Waffo-Tegu, P., Decendit, A., Deffieux, G., Huguet, F., Fauconneau, B., Mérillon, J.M.(1997).** Production, Purification Et Activité Biologique Des Picéïdes (Stilbènes) Extraits De Cultures Cellulaires De *Vitis Vinifera* L Soc. *Pharm Bordeaux*.**136.** 7-18.

**Krishna, D.,Chaluvadi,M.,Raj,N.,Sripal,R. (2001).** Bioflavonoïdes classification, pharmacologique, biochimique effets et thérapeutique potentiel. *Indian J.Pharmacol*.**33.**2-16.

## L

**Lambert, J. (2005).** Les huiles végétales : 2000 plantes oléagineuses répertoriées. Institut *Français Des Huiles Végétales Pures*.**122-5,** (2°).23p

**Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M., Hseini, S. (2009).**Catalogie des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaer (Maroc occidental). *LEJUNIA* Revue de Botanique. (186).1-26.

## M

**Maamri, S. (2008).** Etude de pistacia atlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magister.UniversitéM'hamed Bougara Boumerdes. p : 37-71.

**Marion ,C.,Costa, F.C ; Silva,O.,Bélot, J. L., Berthaud, A., Clement,D.,Abigail ,F., Girard, Ph., Prades, A., Rousset, P., Silvie, P., Roscoe, R., Bedrossian,Ch., Azevedo,A.C., Quirino, F.,Da -Silva ,D.A.(2008).** Guide technique pour une utilisation énergétique des huiles végétales. *Cirad Patrick Rousset* .Brasília. 288p

**Meziti, A.(2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L etude in vitro et in vivo. Mémoire de magister. Université el-haj lakhdar Batna. pp17-29.

**Middleton, E.J.r., Kandaswami, C., Theoharis, C.t ( 2000).** The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological. Rev . 52*, (4).673–751.

**Midoun, T.(2011).** Extraction des composés phénoliques et étude leurs activités antioxydants par la voltamétrie cyclique .Mémoire master .Université kasdi merbah Ouargla. pp17-28.

**Morin, O., Pagés-Xatart-Parés,X.(2012).** Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *Dossier Fonctionnalités Des Huiles.19(2)* 63-75.

## N

**N'Guessan ,A.H.O., Déliko, C.E.D., Akhanovna., Békro J.M., Békro, Y.A. (2011).** Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de Génie Industriel. Côte d'Ivoire. 6.55-61*

**Nakbi, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Koubaa, N., Echbili, A., Hammami, M., Attia, N. (2010).** Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oils. *Journal of Food Composition and Analysis 23.711–715.*

## P

**Patterson, C. A. (2008).** Phytostérols et stanols Complémentaires à une saine alimentation. Canada .AAFC N<sup>o</sup>. 10075F.

**Penchev, P.I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat. Université de toulouse. p : 5-7.

**Perez.M.E.M.G.(2008).** Caractérisation de composés phénoliques des extraits de RAMILLES DU BOULEAU jaune : étude de leur capacité antioxydante. Mémoire présenté Pour l'obtention du grade de maîtrise sciences (M.Se) Université Laval QUÉBEC. pp 16-33.

**Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B .(2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.* **4.** 25-39.

## R

**Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. M, T., Shekhar, H. U. (2012).** Oxidative stress an human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology.* **3.** pp 997-1019.

**Reinisalo, M ., Kårlund,A., Koskela, A., Kaarniranta, K., Karjalainen, R.O .(2015) .**Polyphenol Stilbenes: Molecular Mechanisms of Defence against Oxidative Stress and Aging-Related Diseases. *Hindawi Publishing Corporation.* **340520.**

**Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. (1965).** Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bulletins de la Société de Chimie* **9.** 2649-2652.

**Riberreau-Gayon, P. (1968).** Les composées phénoliques des végétaux. Edition Dumond. Paris.245 pp.

## S

**Saber -Tehrani, M. H., Givianrad, P., Aberoomand-Azar, S., Waqif-Husain, J. M. S. A. (2012).** Chemical Composition of Iran's *Pistacia atlantica* Cold-Pressed Oil. *Hindawi journal of chemistry.*, **6.**

---

**Seghier, Y., Benahmed ,L. (2014).** Raffinage de l'huile de soja et élimination des acides gras libres au niveau de l'usine d'Affia. Mémoire de Master en Génie des Procédés. Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.pp32-38.

**Singleton, V.L, Timberlake, C.F., Lea, A. G. H. (1978).**The phenolic cinnamates of grapes and wine, *Journal of Sciences and Food Agriculture*. **29**: 403-410.

**Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M.(1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Met. Enzym.* **299**.152-178.

## T

**Tuberos, C.I.G., Kowalczyk, A., Sarritzu, E., Cabras, P.(2007).** Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oil seeds for food use. *Food Chemistry*. **103**.1494–1501

## Y

**Yaaqobi, A.b., hafid, L. E.I., Haloui, B. (2009).** Etude Biologique de *Pistacia atlantica* Desf. De La Region Orientale Du Maroc.*Biomatec Echo*. **3 N 6**.pp 39-49.

**Yahiaoui , N. (2012).**Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margarines d'olive sur carbonate de calcium hydroxyapatite et charbon actif. Mémoire de magister. Université de moulod mammeri tizi ouzou.pp 21-32.

**Yousfi, M., Djeridane, A., Bombarda, I., Hamia, Ch., Duhem, B., Gaydou, E.M.(2009).** Isolation and characterization of a new hisplone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*.*phytother.Res.*23: 1237-1242.

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

---

## Z

**Zhishen,J., Mengcheg,T., Jianming,W.(1999).**The determination of falconoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. **64**.555-559.

**Zouid, I.**(2011). Etude de l'évolution et de l'extractibilité des composés phénoliques du raisin en milieu hydroalcoolique pendant la maturation lien avec les propriétés mécaniques de la baie. Université d'Angers , French. pp 9-23.

*Les annexes*

## Annexe n°1

### Les réactifs et les produits chimiques :

1	Acétate D'éthyle
2	Acétone
3	Acide Ascorbique (Vitamine C)
4	Acide Gallique
5	Butanol
6	Carbonate De Sodium( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
7	DPPH : 1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl
8	Ethanol
9	Ether De Pétrole
10	Folin-Ciocalteu
11	Hexane
12	Méthanol
13	Quercétine
14	Réactif Onthrophénantroline
15	Sulfate De Sodium Anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
16	Trichlorure D'aluminium ( $\text{Al Cl}_3$ )
17	$\alpha$ -Tocophérol (Vitamine E)

### Les équipements :

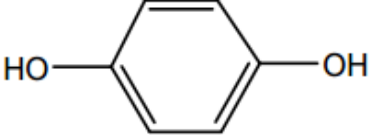
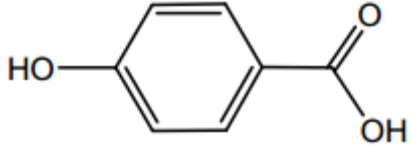
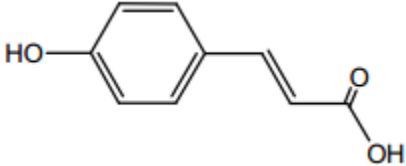
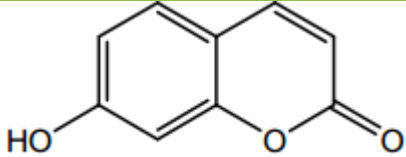
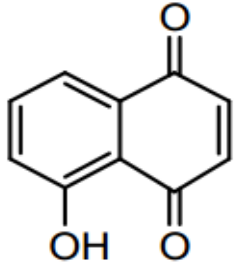
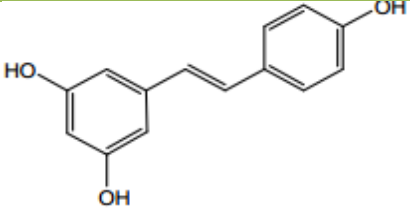
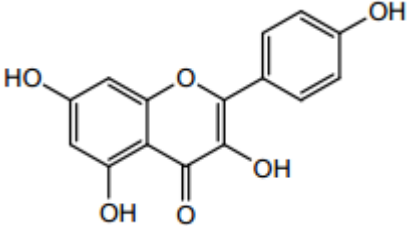
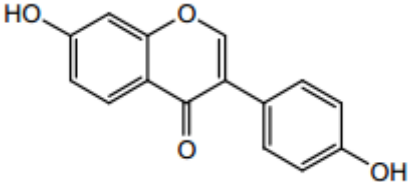
Les équipements	La marque commerciale
Agitateur magnétique	Heidolph MR 3002
Balance électronique	KERN ABS max : 220g
Etuve	Memmert
Chouffe ballon	Wise therm, Heating mantle
Rotavapeur	Buchi Heating Bath B-490
Spectrophotomètre UV-visible	Schimadzu
Soxhlet	
Vortex	VELP®scientifica

### Les matériels :

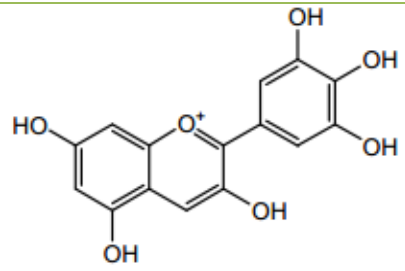
1	Ampoules à décanter
2	Ballon à rond et plat, 250ml, 500ml
3	Bécher, 100ml,200ml
4	Cuvette de spectrophotomètre (en plastique)
5	Entonnoir
6	Eprouvette graduée de 10ml, 100ml
7	Erlenmeyer de 250ml
8	Fiole jaugée de 50ml, 100ml
9	Papier filtre
10	Réfrigérant
11	Spatules
12	Tubes à essais

## Annexe 2

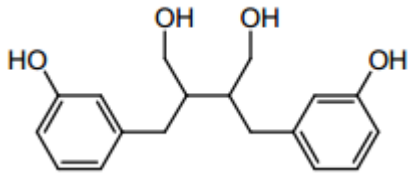
**Tableau** : les principales classes de composés phénoliques dans les plantes  
(Middleton *et al.*, 2000).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Hydroquinone	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïque	Acides <i>p</i> -hydroxybenzoïque	
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinamiques	Acide <i>p</i> -coumarique	
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarines	Ombelliférone	
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Napthoquinones	Juglone	
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbénoïdes	Trans-Resvératrol	
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Kaempférol	
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Isoflavonoïdes	Daidzéïne	

**C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>** Anthocyanes Delphinidol

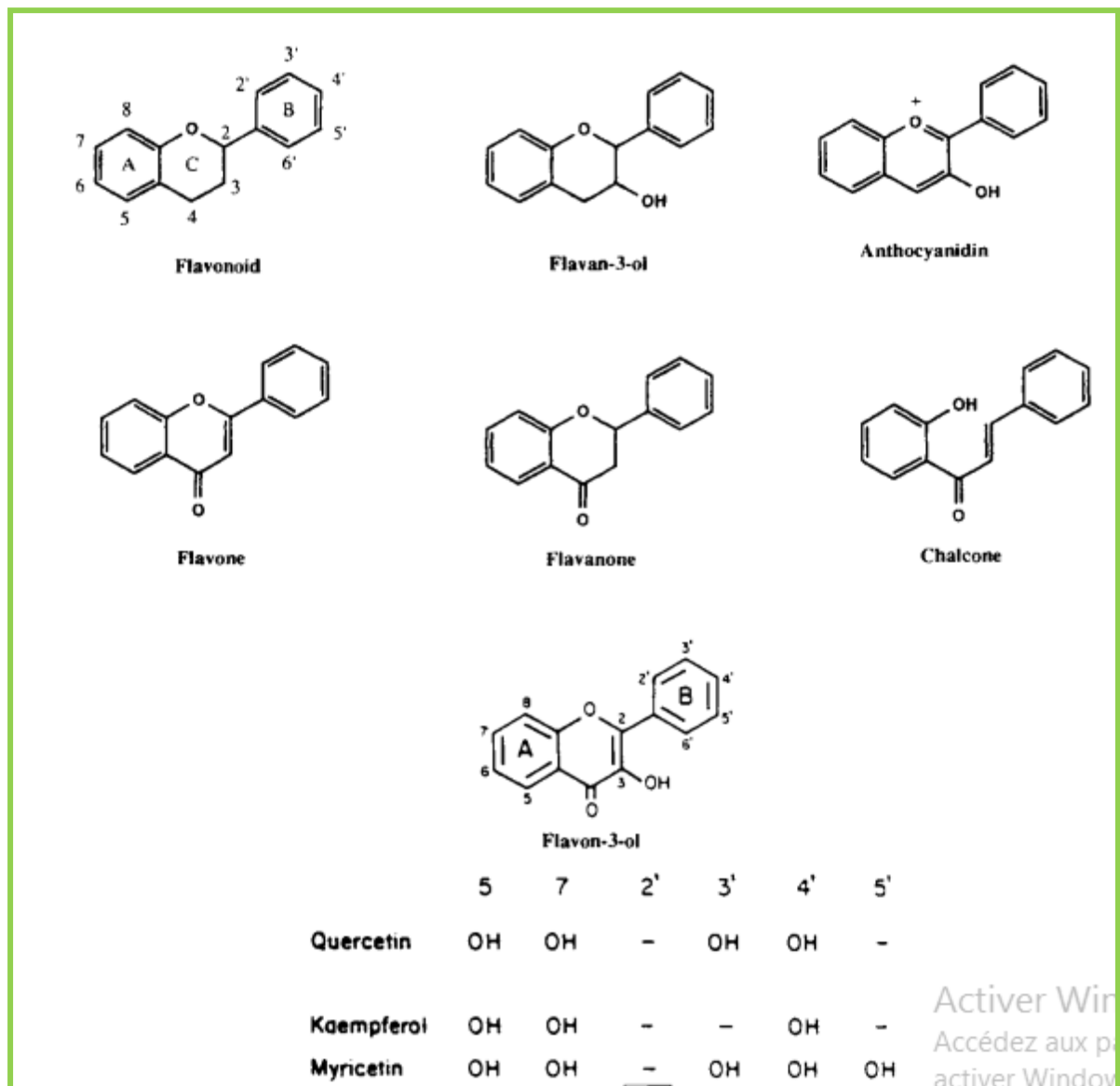


**(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2</sub>** Lignanes Entérodiol



**(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>n</sub>** Tanins condensés Procyanidol

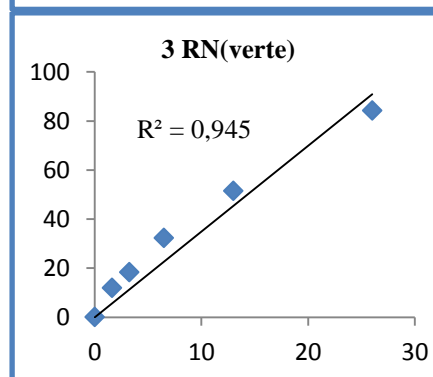
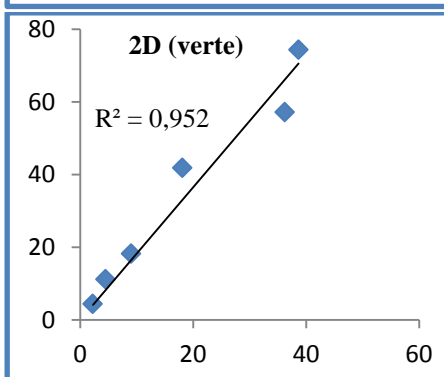
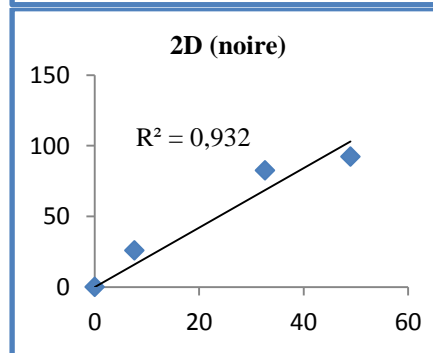
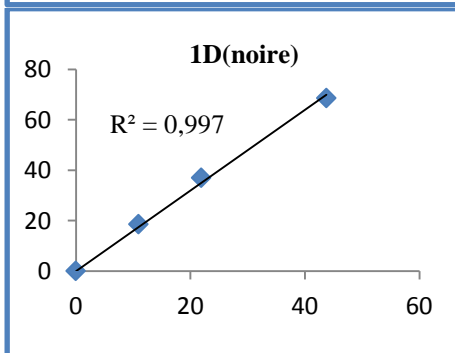
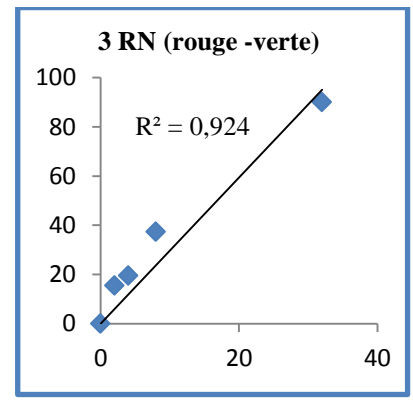
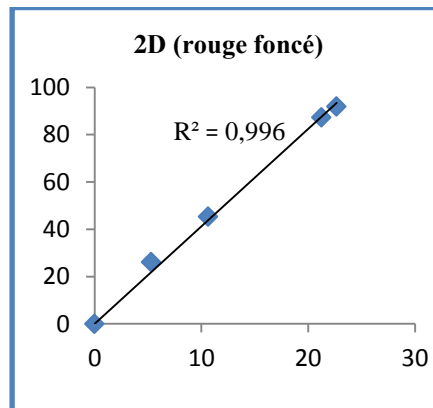
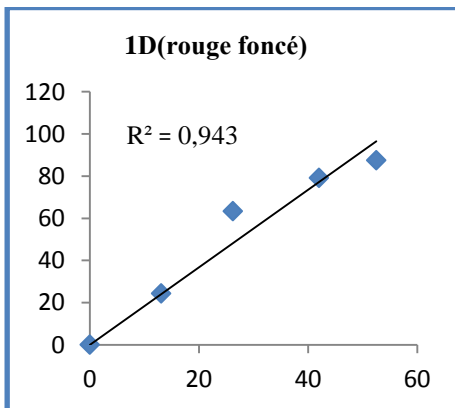
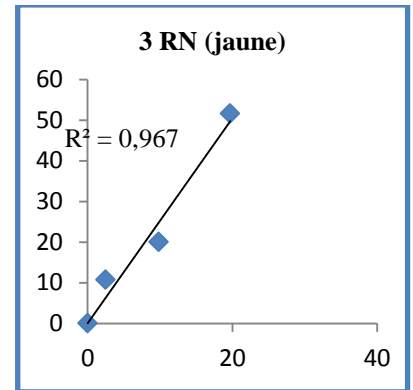
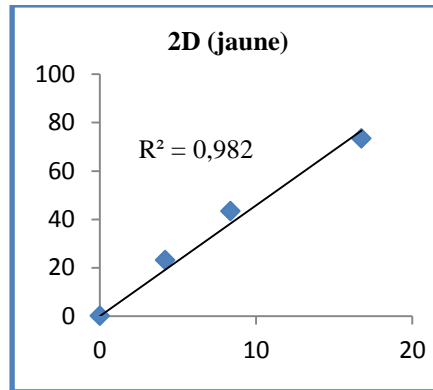
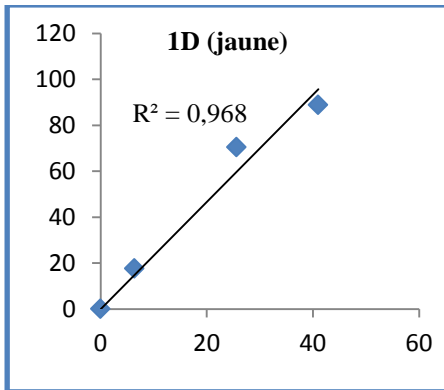
### Annexe 3



**Figure :** Les structures chimiques des sous-classes de flavonoïdes les plus communs (Middleton *et al.*, 2000).

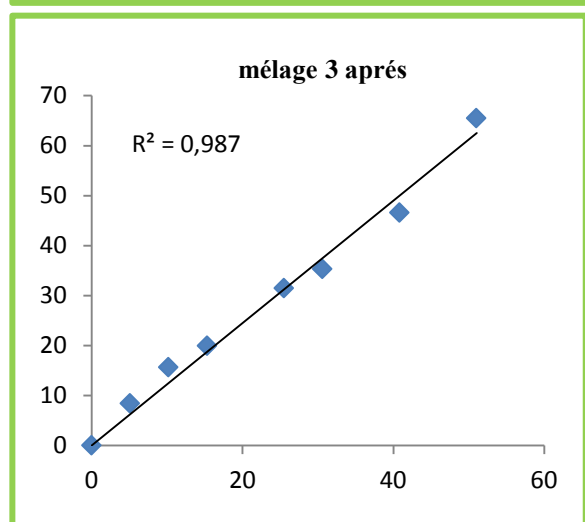
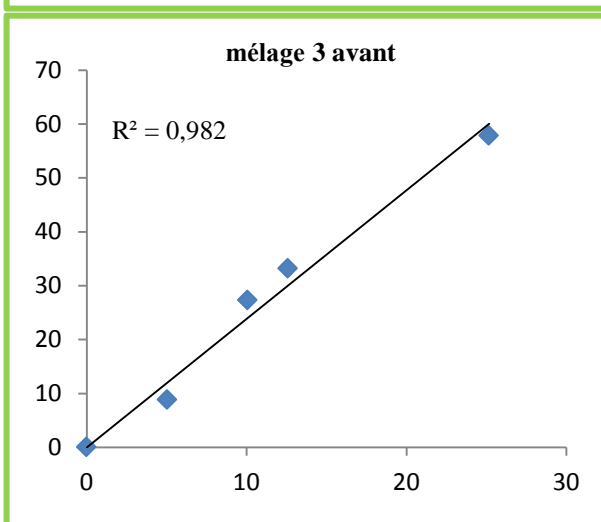
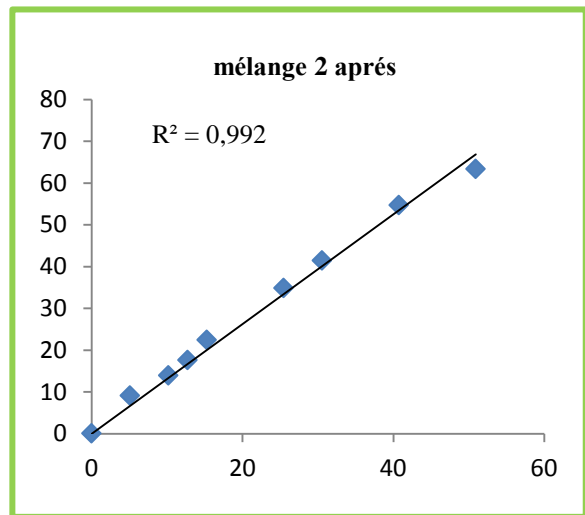
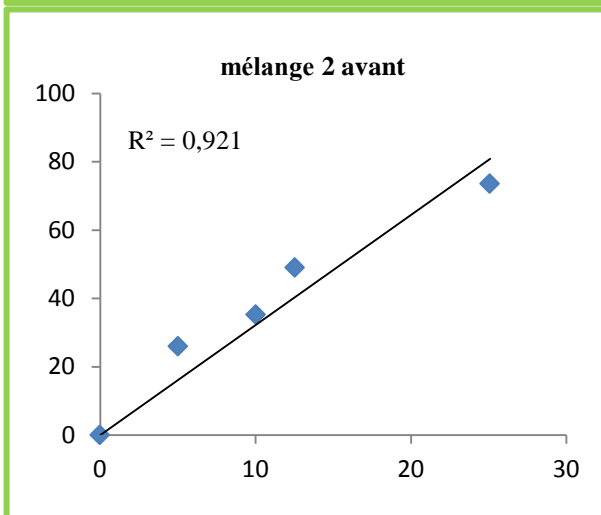
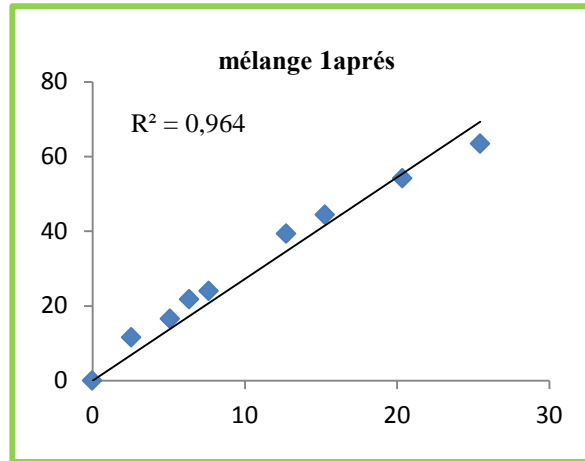
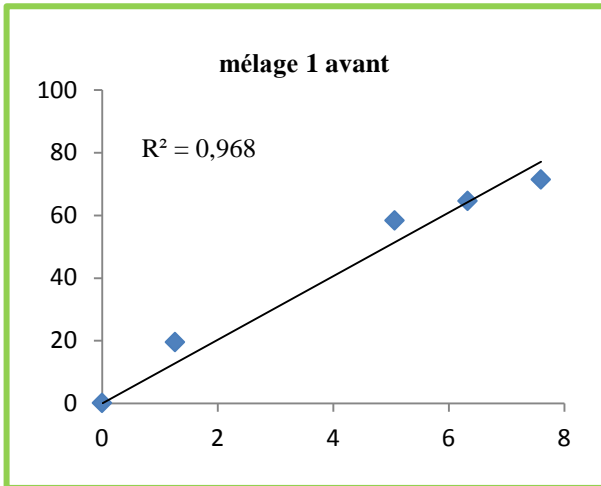
### Annexe 4

Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition(%) des radicaux libres DPPH en fonction de la concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) des extraits phénoliques bruts des tourteaux pour chaque échantillon.



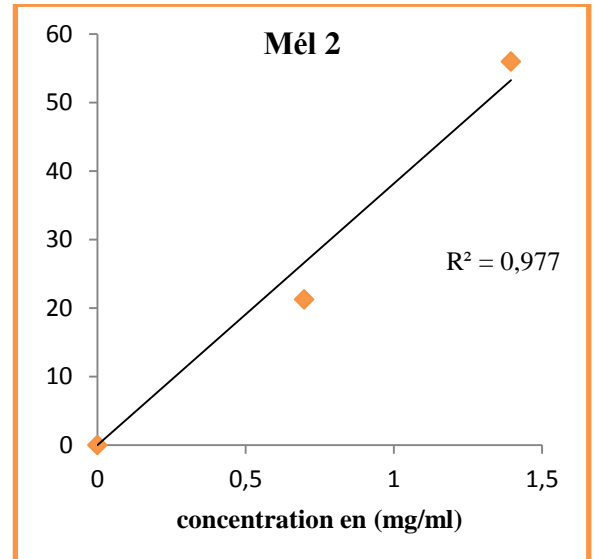
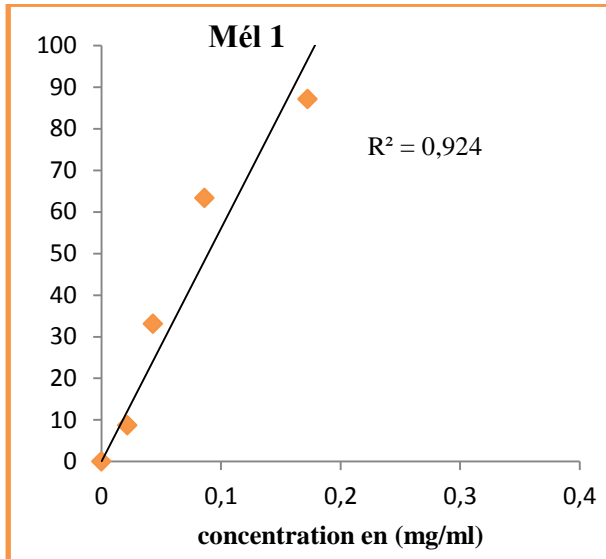
## Annexe 5

Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition (%) des radicaux libres DPPH' en fonction de la concentration (mg/ml) des extraits huileux pour chaque échantillon.



## Annexe 6

Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition(%) des radicaux libres DPPH en fonction de la concentration (mg/ml) des extraits phénoliques bruts d'huile pour chaque échantillon.



## Annexe 7

Test de signification (loi de student)

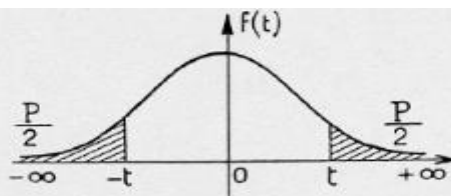
$$\frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{\frac{S_x^2}{n_x} + \frac{S_y^2}{n_y}}}$$

$\bar{X}$   $\bar{Y}$  : sont les moyennes des échantillons

Cas du petit échantillon :  $n_x, n_y < 30$   $n_x, n_y$  nombre des effectives

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

- ✓ Si la valeur calculée  $< t$  (la valeur lue sur le tableau du student), la différence entre les deux échantillons n'est pas significative.
- ✓ Si la valeur calculée  $> t$  (la valeur lue sur le tableau du student), la différence entre les deux échantillons est pas significative.



$\frac{P}{v}$	0,90	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	0,325	0,510	0,727	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,269	0,445	0,617	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,277	0,424	0,584	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,929
4	0,134	0,271	0,414	0,569	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,267	0,408	0,559	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,265	0,404	0,553	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,263	0,402	0,549	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,262	0,399	0,546	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,261	0,398	0,543	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,260	0,397	0,542	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,260	0,396	0,540	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,259	0,395	0,539	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,259	0,394	0,538	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,258	0,393	0,537	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,258	0,393	0,536	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,258	0,392	0,535	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,257	0,392	0,534	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,257	0,392	0,534	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,257	0,391	0,533	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,257	0,391	0,533	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,257	0,391	0,532	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,256	0,390	0,532	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,256	0,390	0,532	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,256	0,390	0,531	0,685	0,857	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,478	2,779	3,707
27	0,127	0,256	0,389	0,531	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,126	0,255	0,388	0,529	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
60	0,126	0,254	0,387	0,527	0,679	0,848	1,046	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,126	0,254	0,386	0,526	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
∞	0,126	0,253	0,385	0,524	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

## Résumé

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) de la famille des Anacardiacees est l'espèce végétale la plus caractéristique de l'Atlas de l'Algérie. A travers ce modeste travail, l'extraction des composés phénoliques à partir des tourteaux et des huiles de fruits de cet arbre, à différents degrés de maturité, est accomplie, les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes ont été déterminées dans chaque fraction et l'activité antioxydante par le test DPPH a été évaluée. Il a également été question de quantifier les tocophérols et d'estimer le pouvoir anti radicalaire des huiles avant et après extraction phénolique.

Les résultats obtenus ont indiqué une différence notable concernant les teneurs en phénols totaux et le pouvoir antiradicalire selon le degré de maturation des drupes aussi bien dans les tourteaux que dans l'huile. Les extraits des fruits immatures se révèlent les plus riches en composés phénoliques et les plus actifs. L'activité antioxydante des huiles serait due en grande partie aux tocophérols et aux composés phénoliques. La variation de la composition phénolique en fonction de la maturation des fruits au niveau des tourteaux et au niveau de l'huile ne semblerait pas la même. Des études plus approfondies sont donc nécessaires pour étayer ou rejeter cette constatation.

**Les mots clés :** *Pistacia atlantica*; Fruits; Tourteaux; Huile; Polyphénols; Flavonoïdes; Antioxydant; Degré de maturation.

## Summary

The Atlas pistachio (*Pistacia atlantica*) of the Anacardiaceae family is the most characteristic plant species of the Atlas of Algeria. Through this modest work, the extraction of phenolic compounds from the oils-cake and fruits of this tree, with different degrees of maturity, is completed, the contents of polyphenols and flavonoïds were determined in each fraction and antioxidant activity by the DPPH test was evaluated. It was also discussed to quantify tocopherols and estimate the anti-radical power of the oil before and after phenolic extraction.

The results indicated a significant difference in the levels of total phenols and antiradicalire power according to the degree of maturation of drupes in oils-cakes than oil. The extracts of immature fruits are most rich in active phenolic compounds. The antioxidant activity of oil is due largely to the tocopherols and phenolic compounds. The vary in the phenolic composition according to the fruit ripening-level oil-cake and the oil level does not appear the same. So further studies are required to support or reject this finding.

**Key words:** *Pistacia atlantica*; Fruits; oil-cake; oil ; Polyphenols; Flavonoïds; Antioxidant; Degree of maturation .

## المخلص

الفستق أطلسي (*Pistacia atlantica*) من عائلة بظمية هو أكثر أنواع النبات المميزة للأطلس الجزائري. من خلال هذا العمل المتواضع، استخراج المركبات الفينولية من الكسب و زيوت فاكهة هذه الشجرة. مع درجات مختلفة من النضج، محتويات البوليفينول و الفلافونويد تم تحديدها في كل جزء وتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق إختبار (DPPH) كما تمت مناقشتها لتحديد التوكوفيرول و تقدير قوة المضادة للأكسدة في الزيت قبل و بعد استخراج الفينول.

هناك اختلاف في ما يخص المستوى الإجمالي للفينولات و القدرة المضادة للأكسدة مع إختلاف في درجة النضج بالنسبة للكسب و الزيوت. الفواكه الغير ناضجة هي الأكثر غنى بالمركبات الفينولية و الأكثر نشاط. النشاط المضاد للأكسدة على مستوى الزيت، يرجع بأكثر نسبة للتوكوفيرول ثم للمركبات الفينولية.

التغير في المركبات الفينولية على حسب درجة نضج الفاكهة لا يسجل نفس النتيجة بالنسبة للكسب و الزيوت. الحاجة لدراسات أكثر عمقا لدعم أو رفض هذه النتيجة.

**الكلمات المفتاحية :** *Pistacia atlantica* فواكه , كسب , زيت , بوليفينول , فلافونويد , المضاد للأكسدة , درجة الن